

**Untersuchungen zur mikrobiologischen  
Beschaffenheit und sensorischen Produktqualität  
von Geflügelhackfleisch nach Biokonservierung mit  
Milchsäurebakterien**

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover  
zur Erlangung des Grades  
Doktor der Naturwissenschaften  
Dr. rer. nat.  
genehmigte Dissertation  
von

Dipl.-Berufspäd. Peter Kosko  
geboren am 15.04 1972 in Cottbus

**Referentin:** Frau Prof. Dr.-Ing. Brita M. Watkinson  
**Korreferent:** Herr Prof. Dr. vet. med. Bernhard Nowak  
**Tag der Promotion:** 13.05.2009

*für Sarah*

---

## Kurzzusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, über einen Zeitraum von 10 Tagen den Einfluss unterschiedlicher Schutzkulturen auf die mikrobiologische und sensorische Produktqualität von frischem, MAP-verpacktem und bei +2 °C gelagertem Geflügelhackfleisch zu untersuchen. Für die Herstellung und Vermarktung des Produktes im SB-Segment deutscher Handelsketten sollte das erforderliche „shelf-life“ von 8 bis 10 Tagen sichergestellt werden.

Zu diesem Zweck wurde frisches Putenhackfleisch hergestellt, welches während der Herstellung unter kontrollierten Bedingungen mit den beiden Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ der Fa. Chr. Hansen, (Hørsholm, Dk) beimpft und im Anschluss unter einer modifizierten Atmosphäre, bestehend aus 70 Vol-% O<sub>2</sub> und 30 Vol-% CO<sub>2</sub>, verpackt und gelagert wurde und an den Lagerungstagen 0, 3, 5, 7 und 10 mikrobiologisch, physikalisch und sensorisch untersucht wurde.

Über den Lagerungsverlauf wurden die Entwicklungen der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl, der aeroben Milchsäurebakterien sowie die Entwicklung der Keimzahlen von *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ssp., *Brochotrix thermosphacta*, *Listeria* ssp., *Campylobacter* ssp., *Salmonella enterica* und *Staphylococcus aureus* untersucht. Die Untersuchung der physikalischen Parameter Temperatur, a<sub>w</sub>-Wert, pH-Wert und Farbe erfolgte an den jeweiligen Untersuchungstagen instrumentell. Um die sensorische Produktqualität zu gewährleisten, wurden zudem sensorische Prüfungen durchgeführt, in denen verschiedene Testverfahren angewendet wurden, bei denen sowohl geschulte Prüfer, als auch ungeschulte Testpersonen die Qualität des Hackfleisches beurteilten.

Bei einer Eintragsmenge von 0,25 g der jeweiligen Schutzkultur/kg Hackfleisch ergaben die mikrobiologischen Untersuchungsergebnisse, dass die beiden Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ das Potenzial besitzen, die untersuchten Mikroorganismen der produktspezifischen Begleitflora des Geflügelhackfleisches während der Lagerung signifikant zu inhibieren.

Die physikalischen Untersuchungen ergaben, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ im Vergleich zu den Kontrollproben eine moderate Reduzierung des pH-Wertes bewirkt. Die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ bewirkte dagegen, verglichen mit den Kontrollproben, eine signifikante Reduzierung des pH-Wertes. Bezüglich der a<sub>w</sub>-Werte und der Farbe des Hackfleisches konnten keine signifikanten Beeinflussungen der Qualität durch die eingesetzten Schutzkulturen festgestellt werden.

Durch sensorische Prüfungen konnte nachgewiesen werden, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ im Hackfleisch nur geringfügige und statistisch meist nicht signifikante Beeinflussungen der sensorischen Produktqualität bewirkt. In allen durchgeführten analytischen und hedonischen Prüfungen, erkannten die Testpersonen vor allem bei den Attributen „Geruch“ und „Geschmack“ geringfügige Abweichungen von den vorgegebenen Produktstandards. Die statistischen Auswertungen der sensorischen Prüfungen ergaben dennoch nur leichte und größtenteils nicht signifikante Unterschiede zu den Kontrollproben.

Das Hackfleisch mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurde in den analytischen und hedonischen Prüfungen vor allem wegen des untypischen „Geruchs“ und „Geschmacks“ von den Testpersonen kritisiert, so dass zusammenfassend festgestellt werden kann, dass die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ trotz der positiven protektiven Eigenschaften bezüglich der mikrobiologischen Sicherheit, aufgrund der sensorischen Qualitätsbeeinflussung zur Biokonservierung von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch nicht geeignet ist.

Aufgrund der erzielten Ergebnisse kann geschlossen werden, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ das Potenzial besitzt, die Qualität von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch über einen Zeitraum von 8 - 10 Tagen zu stabilisieren. Bei Verwendung qualitativ hochwertiger Rohstoffe, in Kombination mit ununterbrochener, kontinuierlicher Kühlung bei ≤ +2 °C und Verpackung unter modifizierter Atmosphäre rechtfertigt der Einsatz der Schutzkultur eine 8 - 10-tägige Verbrauchsfrist des Geflügelhackfleisches bei mikrobiologisch unbedenklicher und sensorisch einwandfreier Qualität. Durch den Einsatz der Schutzkultur kann somit den Forderungen nach einem präventiven gesundheitlichen Verbraucherschutz gemäß den europäischen Gesetzgebungen Rechnung getragen werden.

**Schlüsselbegriffe:** Geflügelhackfleisch, Schutzkultur, Mikrobiologie, Sensorik

---

## Abstract

The aim of this study was to investigate over a 10 day period the effect of different protective cultures on the microbiological and sensory product quality of fresh, MAP-packed minced poultry meat stored at +2°C with the objective of guaranteeing the required shelf-life of 8 to 10 days for the manufacture and marketing of the product in the self-service segment of German chain stores.

To that end fresh minced turkey meat was manufactured which was inoculated during manufacture under controlled conditions with the two protective cultures, B-LC 20 Safe Pro™ and B-SF 43 Bactoform™ manufactured by Chr. Hansen, (Hørsholm, Denmark) and subsequently packed and stored in a modified atmosphere, consisting of 70% O<sub>2</sub> and 30% CO<sub>2</sub> by volume and subjected to microbiological, physical and sensory analysis on storage days, 0, 3, 5, 7 and 10 days.

Over the course of storage, examinations were made of the development of the total viable count of the aerobic mesophilic bacteria, and of the development of the aerobic lactic acid bacteria, as well as the development of the microbial counts of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonae* ssp., *Brochotrix thermosphacta*, *Listeria* ssp., *Campylobacter* ssp., *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus*. Examination was carried out with instruments of the physical parameters of temperature, a<sub>w</sub> value, pH value and colour on the respective days of the tests. In order to guarantee the sensory quality of the product, sensory tests were also carried out using different test procedures in which both trained and untrained testers assessed the quality of the minced meat.

The microbiological test results following an inoculation of 0.25 g of the respective protective culture/kg of minced meat showed that both protective cultures, B-LC 20 Safe Pro™ and B-SF 43 Bactoform™, had the potential to significantly inhibit the tested microorganisms of the product-specific accompanying flora of the minced poultry meat during storage.

The physical tests showed that the protective culture, B-LC 20 Safe Pro™, brought about a moderate reduction in the pH value compared with the control samples. The protective culture, B-SF 43 Bactoform™, on the other hand, brought about a significant reduction in the pH value compared with the control samples. The protective cultures were found to have no significant effects on quality in terms of the a<sub>w</sub> values and colour of the minced meat.

The sensory tests proved that the protective culture, B-LC 20 Safe Pro™, inoculated in the minced meat had only negligible and statistically mainly insignificant effects on the sensory quality of the product. In all the analytical and hedonic tests carried out, the testers detected negligible deviations from the prescribed product standards, especially with regard to the attributes "smell" and "taste". However, the statistical analyses of the sensory tests established only slight and largely insignificant differences from the control samples.

The minced meat inoculated with the protective culture B-SF 43 Bactoform™ was criticised by the testers in the analytical and hedonic tests mainly because of the uncharacteristic "smell" and "taste". To summarise therefore, it was established that the protective culture, B-SF 43 Bactoform™, despite its positive protective properties in terms of microbiological safety, is not suitable for the biopreservation of fresh, MAP-packed minced poultry meat because of its effect on sensory quality.

In the light of the results obtained it may be concluded that the protective culture, B-LC 20 Safe Pro™, has the potential to stabilise the microbiological quality of fresh, MAP-packed minced poultry meat over a period of 10 days.

Combined with continuous chilled storage at ≤ +2°C and packaging in a modified atmosphere (70% O<sub>2</sub>/30% CO<sub>2</sub> by volume), the use of the protective culture justifies a 10 day use-by date for the minced poultry meat, and at the same time ensures that the meat is microbiologically safe and its sensory quality is unimpaired.

The use of the protective culture could thus take into account the requirements of a preventive consumer health protection in accordance with the new European legislation.

**Keywords:** Minced poultry meat, protective culture, microbiology, sensory properties

## Abkürzungen

A.	<i>Aeromonas</i>
ADP	Adenosin-di-Phosphat
Ar	Argon
Asp	Asparaginsäure
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosin-tri-Phosphat
AU	atomic unit
$a_w$	Activity of Water
$a^*$ -Wert	Rot-/Grün-Wert
$\alpha$	alpha
$\alpha$ -Wert	Signifikanzniveau
B.	<i>Bacillus, Brochotrix</i>
Bac <sup>+</sup>	bacteriocinogenic
Bac <sup>-</sup>	non bacteriocinogenic
BE	Bindegewebeseiweiß
BEFFE	Bindegewebeseiweißfreies Fleischeiweiß
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BHI	Brain-Heart-Infusion
bp	Basenpaare
Bsp.	Beispiel
$b^*$ -Wert	Blau-/Gelb-Wert
bzw.	beziehungsweise
$\beta$	beta
$\beta$ -Fehler	Wahrscheinlichkeit der Nichtablehnung einer falschen Nullhypothese
c	Anzahl der Probeneinheiten, deren Werte über m oder zwischen m und M liegen dürfen
C.	<i>Campylobacter</i>
°C	Grad Celsius
ca.	circa
CCDA	Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar
CECT	Coleccion Espaniola de Cultivos Tipo
CFU	Colony Forming Units
CH <sub>3</sub> -CO-CO-CH <sub>3</sub>	Butan-2,3-dion
CIELAB	Commission Internationale de l'Éclairage
Cl	Chlor
<i>Cl.</i>	<i>Clostridium</i>
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
cm <sup>3</sup>	Kubikcentimeter
CO	Kohlenmonoxid
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CoA	Coenzym A

## Abkürzungsverzeichnis

---

d	Tag
Da	Dalton
DCB	Dark Cutting Beef
dest.	destilliert
DFD	Dark Firm Dry
d.h.	das heißt
Dk	Dänemark
D-LDH	D-Laktat-Dehydrogenase
DSM	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
DNA	Desoxiribonucleic acid
DNS	Desoxiribonukleinsäure
$\Delta$	Delta (Differenz)
<i>E.</i>	<i>Enterococcus, Escherichia</i>
EG	Europäische Gemeinschaft
Eh-Wert	Redoxpotenzial [mV]
EN	Europäische Normung
et al.	et alli (und andere)
EU	Europäische Union
EU-RL	Europäische Richtlinie
EVOH	Ethyl-Vinyl-Alkohol
EVPP	Ethyl-Vinyl Polypropylen
evtl.	eventuell
Fa.	Firma
FDA	U. S. Food and Drug Administration
FE	Fleischeiweiß
F6PPK	Fructose-6-Phosphat-Phosphoketolase
FrE	Fremdeiweiß
g	Gramm
GC-Gehalt	prozentualer Anteil von Guanin und Cytosin
GE	Gesamteiweiß
ggf.	gegebenenfalls
GKZ	Gesamtkeimzahl
GRAS	Generally Recognized As Safe
GSP	Glutamate Starch Phenol Red
h	Stunde
HCl	Salzsäure
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Dihydrogencarbonat (Kohlensäure)
He	Helium
HfIVO	Hackfleischverordnung
H <sub>2</sub> O	Wasser
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HP	Hydroxiprolin
HVS	Hauptversuch

## Abkürzungsverzeichnis

---

ICMSF	International Commission on Microbiological Specification for Foods of the International Union of Microbiological Societies
ISO	International Organization for Standardization
<i>k</i>	Anzahl der Prüfproben bei sensorischen Prüfungen
Kap.	Kapitel
kb	Kilobasen
KbE	Koloniebildende Einheit
kbp	Kilobasenpaare
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
konz.	konzentriert
<i>L.</i>	<i>Listeria, Lactobacillus, Leuconostoc</i>
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
LFGB	Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch
lg	Logarithmus zur Base 10
<i>Ln.</i>	<i>Leuconostoc</i>
log / log <sub>10</sub>	dekadischer Logarithmus
LUH	Leibniz Universität Hannover
L*-Wert	Helligkeitswert
Lys	Lysin
m	Meter, Richtwert
M	Molarität, Grenzwert
m <sup>3</sup>	Kubikmeter
MAP	modified atmosphere packaging
max.	maximal
mbar	Millibar
mer	Oligonukleotidkettenlänge
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol
Mol	Stoffmenge
MPN	Most Probable Number
MRS	deMan, Rogosa und Sharpe
MSB	Milchsäurebakterien
MW	Mittelwert
μl	Mikroliter
μg	Mikrogramm
μmol	Mikromol

## Abkürzungsverzeichnis

---

n	Stichprobenumfang
N <sub>2</sub>	Stickstoff
NaCl	Natriumchlorid
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NAD <sup>+</sup>	oxidiertes Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADH	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
Nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NPN	nicht Protein-Stickstoff-Verbindungen
Nr.	Nummer
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>3</sub>	Ozon
OCLA	Oxoid Chromogenic Listeria Agar
OD	Optische Dichte
ONF	Organisches Nichtfett
p	Wasserdampfpartialdruck
<i>p</i>	Irrtumswahrscheinlichkeit
<i>P.</i>	<i>Pediococcus</i>
PC	Plate Count
PCR	Polymerase Chain Reaction
PET	Polyethylenterphthalat
pH	potentia Hydrogenii
PMF	Proton Motive Force (protonenmotorische Kraft)
pmol	Pikomol
PP-copo	Polypropylen-Co-Polymer
<i>Ps.</i>	<i>Pseudomonas</i>
PSE	Pale Soft Exudative
PVC	Polyvinylchloride
PVDC	Polyvinylidenchlorid
rDNA	ribosomale Desoxiribonukleinsäure
RNA	Ribonucleic Acid
RNS	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
<i>S.</i>	<i>Salmonella</i>
SB-Sektor	Selbstbedienungs-Sektor
SD	Standarddifferenz
sek	Sekunde
SIN	Streptomycin-Inosit-Neutralrot
SO <sub>2</sub>	Schwefeldioxid
ssp.	Spezies
<i>Staph.</i>	<i>Staphylococcus</i>
Subsp.	Subspezies
Σ	Summe

## Abkürzungsverzeichnis

---

Tab.	Tabelle
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBARS	Thiobarbitursäurereaktiv
TBG	Tetrathionat-Brilliantgrün-Galle
TiHo	Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
TS	Trockensubstanz
u.	und
UPM	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
V	Versuch
V.	<i>Vibrio</i>
v.a.	vor allem
vgl.	vergleiche
VO	Verordnung
Vol.-%	Volumenprozent
VRBD	Violet Red Bile Dextrose
VTEC	Vero-Toxin-bildende <i>E. coli</i>
VVS	Vorversuch
XLD	Xylose-Lysin-Deoxycholate
Y.	<i>Yersinia</i>
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
Ø	Durchmesser
%	Prozent

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>SCHRIFTTUM</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Schlachtgeflügel</b>	<b>3</b>
2.1.1	Definition	3
2.1.2	Aufbau und Zusammensetzung von Geflügelfleisch	3
2.1.3	Geflügel als Träger und Überträger von Mikroorganismen	4
2.1.4	Qualität von Geflügelfleisch	5
2.1.5	Qualitätsbeeinflussende Faktoren	6
2.1.5.1	Intrinsische Faktoren	6
2.1.5.2	Implizite Faktoren	6
2.1.5.3	Extrinsische Faktoren	6
2.1.5.4	Prozessfaktoren	7
2.1.6	Farbe als Qualitätskriterium von Geflügelfleisch	7
2.1.6.1	Farbgebende Substanzen im Geflügelfleisch	7
2.1.6.2	Instrumentelle Farbmessung mit dem L*a*b*-Farbsystem	8
2.1.7	Mikrobiologie von Geflügelfleisch	9
2.1.8	Einflussfaktoren auf die mikrobiologische Fleischqualität	10
2.1.8.1	Temperatureinflüsse	10
2.1.8.2	Die Wasseraktivität	11
2.1.8.3	Einfluss des $a_w$ -Wertes auf das Wachstum von Mikroorganismen	12
2.1.8.4	Wasseraktivität in Geflügelfleisch	12
2.1.8.5	Einfluss des pH-Wertes auf das Wachstum von Mikroorganismen	13
2.1.8.6	Die Entwicklung des pH-Wertes bei der Fleischreifung	13
2.1.8.7	Beeinflussung des pH-Wertes	14
2.1.8.8	Einfluss der Verpackung	14
<b>2.2</b>	<b>MAP-Verpackung von frischem Geflügelfleisch</b>	<b>15</b>
2.2.1.1	Vor- und Nachteile der MAP-Technologie	16
2.2.1.2	Gasatmosphären in der Verpackung	16
2.2.1.3	Sauerstoff	17
2.2.1.4	Stickstoff	17
2.2.1.5	Kohlendioxid	17
2.2.1.6	Kohlenmonoxid	18
2.2.1.7	Gasgemische	19
<b>2.3</b>	<b>Geflügelhackfleisch</b>	<b>20</b>
2.3.1	Rechtliche Grundlagen	20
2.3.2	Mikroflora von Geflügelhackfleisch	22
2.3.2.1	Einfluss der Lagerungstemperatur auf die mikrobielle Qualität	22
2.3.2.2	Auswirkung von MAP auf die mikrobielle Qualität von Hackfleisch	24
2.3.2.3	Einfluss der Gasatmosphäre auf Farbe und Lipidoxidation von Hackfleisch	26
<b>2.4</b>	<b>Schutzkulturen</b>	<b>27</b>
2.4.1	Definition und Wirkungsweise	29
2.4.1.1	Lebensmittelrechtliche Situation	30
2.4.2	Stoffwechselprodukte und Eigenschaften von Schutzkulturen zur Hemmung von unerwünschten Keimen.	31
2.4.2.1	Bildung organischer Säuren	31
2.4.2.2	Bildung von Wasserstoffperoxid	31

2.4.2.3	Bildung von Kohlendioxid	32
2.4.2.4	Bildung von Diacetyl	32
2.4.2.5	Bildung von Reuterin	33
2.4.2.6	Bildung von Bacteriozinen	33
2.4.2.7	Wirkungsmechanismus von Bacteriozinen	34
2.4.2.8	Konkurrenz der Mikroorganismen um das Nährstoffangebot	35
<b>2.5</b>	<b>Milchsäurebakterien</b>	<b>36</b>
2.5.1	Klassifizierung der Milchsäurebakterien	37
2.5.2	Gärungsformen bei Milchsäurebakterien	37
2.5.2.1	Homofermentative Milchsäuregärung	37
2.5.2.2	Heterofermentative Milchsäuregärung	38
2.5.3	Gattungen der Milchsäurebakterien	38
2.5.3.1	Gattungen <i>Enterococcus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i>	38
2.5.3.2	Gattung <i>Leuconostoc</i>	39
2.5.3.3	Die Gattung <i>Lactobacillus</i>	39
2.5.3.4	Gattung <i>Bifidobacterium</i>	40
2.5.3.5	Gattung <i>Pediococcus</i>	41
2.5.4	<i>Pediococcus acidilactici</i>	42
2.5.4.1	Bakteriozin Ach/PA-1 (Pediocin PA-1)	43
2.5.5	Milchsäurebakterien als Schutzkulturen in Fleischerzeugnissen	43
2.5.5.1	<i>E. faecium</i>	44
2.5.5.2	<i>Lb. alimentarius</i>	44
2.5.5.3	<i>Lb. curvatus</i>	45
2.5.5.4	<i>Lb. plantarum</i>	46
2.5.5.5	<i>Lb. reuteri</i>	47
2.5.5.6	<i>Lc. lactis</i>	48
2.5.5.7	<i>L. casei</i>	48
2.5.5.8	<i>L. sakei</i>	49
2.5.5.9	<i>Leuconostoc carnosum</i>	52
2.5.5.10	<i>Pediococcus</i> ssp.	53
<b>2.6</b>	<b>Sensorische Fleischqualität</b>	<b>56</b>
2.6.1	Sensorische Prüfmethode	57
2.6.1.1	Rangordnungsprüfungen	57
2.6.1.2	Hedonische Prüfungen	58
2.6.1.3	Sensorische Akzeptanztests	58
2.6.1.4	Sensorische Präferenztests	59
2.6.1.5	Innerhalb-/Außerhalb-Prüfung	59
2.6.2	Planung von sensorischen Prüfungen	60
2.6.3	Statistische Auswertung von sensorischen Prüfungen	61
2.6.3.1	Auswertung von Rangordnungsprüfungen	63
2.6.3.2	Auswertung von Präferenztests	63
2.6.3.3	Auswertung von Akzeptanztests	64
2.6.3.4	Auswertung von Innerhalb-/Außerhalb-Prüfungen	64
<b>3.</b>	<b>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</b>	<b>65</b>
<b>3.1</b>	<b>Material</b>	<b>65</b>
3.1.1	Probenmaterial	65
3.1.2	Verwendete Schutzkulturen	65
<b>3.2</b>	<b>Methoden</b>	<b>66</b>

## Inhaltsverzeichnis

---

3.2.1	Applikation der Schutzkulturen	66
3.2.1.1	Applikation von lyophilisierten Kulturen	66
3.2.1.2	Applikation von Schutzkultursuspensionen	66
3.2.1.3	Sprühverneblung der Schutzkultursuspensionen	66
3.2.2	Mischen und Wolfen des Hackfleischs	67
3.2.3	Verpackung des Hackfleischs	67
3.2.4	Transport der Probenpackungen	67
3.2.5	Lagerung der Proben	67
3.2.6	Dotierung der Proben mit Indikatormikroorganismen	68
3.2.7	Herstellung von keimarmem, artifizell beimpftem Hackfleisch	68
3.2.8	Mikrobiologische Methoden	69
3.2.8.1	Aerobe mesophile GKZ (nach Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	69
3.2.8.2	Aerobe psychrotrophe GKZ (nach Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	69
3.2.8.3	<i>Enterobacteriaceae</i> (nach Methode L 06.00-24 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	70
3.2.8.4	<i>Pseudomonas</i> spp. (nach Methode L 06.00-43 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB nach DIN ISO 13720)	70
3.2.8.5	<i>Brochotrix thermosphacta</i> (in Anlehnung an HECHELMANN (1981))	70
3.2.8.6	Aerob wachsende MSB spp. (nach Methode L 06.00-35 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	70
3.2.8.7	Anaerob wachsende Laktobazillen spp. (in Anlehnung an Methode L 06.00-31 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	70
3.2.8.8	<i>Salmonella</i> spp. (in Anlehnung an die Methode L 00.00-20 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	71
3.2.8.9	<i>Campylobacter</i> spp. (nach Methode ISO 10272)	71
3.2.8.10	<i>Listeria monocytogenes</i> (nach Methode L 00.00-22, L 00.00-32 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	72
3.2.8.11	<i>Staphylococcus aureus</i> (in Anlehnung an Methode DIN 10 163)	72
3.2.8.12	Quantitative Bestimmung der Keimgehalte	72
3.2.9	Physikalische Methoden	73
3.2.9.1	Temperatur-Messung (in Anlehnung an die Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	73
3.2.9.2	$a_w$ -Wert-Messung (in Anlehnung an die Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	73
3.2.9.3	pH-Wert- Messung (in Anlehnung an die Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)	73
3.2.9.4	Instrumentelle $L^*a^*b^*$ - Farbmessung	73
3.2.10	Chemische Untersuchungen	74
3.2.10.1	Aschebestimmung	74
3.2.10.2	Trockensubstanzbestimmung	74
3.2.10.3	Gesamtfettbestimmung	74
3.2.10.4	Eiweißbestimmung (Rohprotein)	75
3.2.10.5	Bindegewebseiweißbestimmung	75
3.2.10.6	Berechnung der Grunddaten	75
3.2.11	Biochemische Methoden	76
3.2.11.1	Qualitativer Nachweis der Schutzkultur mit dem API-50-CHL-System	76
3.2.12	Molekularbiologische Nachweismethoden	76
3.2.12.1	DNS-Isolation	77
3.2.12.2	Probenaufbereitung	78
3.2.12.3	Temperatursteuerung des Thermocyclers	78
3.2.12.4	Agarosegelelektrophorese	78
3.2.13	Sensorische Prüfverfahren	79

3.2.13.1	Zusammensetzung der Prüfpanel	79
3.2.13.2	Schulung der Prüfer	79
3.2.13.3	Vorbereitung der Prüfbögen	79
3.2.13.4	Vorbereitung des Prüfungsraums	80
3.2.13.5	Probenvorbereitung des rohen Hackfleisches	80
3.2.13.6	Probenvorbereitung des gekochten Hackfleisches	80
3.2.13.7	Sensorische Prüfung	80
3.2.13.8	Formulierung der Nullhypothese	81
<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>82</b>
<b>4.1</b>	<b>VVS 1: Einfluss der Lagerungstemperatur</b>	<b>82</b>
4.1.1	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse	82
4.1.1.1	Wachstum der Schutzkulturen bei verschiedenen Kühltemperaturen	82
4.1.1.2	Spezifischer Nachweis von <i>P. acidilactici</i> mit dem API-50-CHL-Test	84
4.1.1.3	Ergebnisse des molekularbiologischen Nachweises von <i>P. acidilactici</i>	84
4.1.1.4	Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i>	85
4.1.2	Physikalische Untersuchungsergebnisse	87
4.1.2.1	Ergebnisse der pH-Wertmessungen	87
<b>4.2</b>	<b>VVS 2: Ermittlung der Applikationsmethode</b>	<b>89</b>
4.2.1	Mikrobiologische Ergebnisse	89
4.2.1.1	Nachweis von Milchsäurebakterien	89
4.2.2	Spezifischer Nachweis von <i>P. acidilactici</i> mit dem API Test	91
4.2.3	Molekularbiologischer Nachweises von <i>P. acidilactici</i>	91
<b>4.3</b>	<b>VVS 3 Ermittlung der Schutzkulturkonzentration</b>	<b>92</b>
4.3.1	Mikrobiologische Ergebnisse	92
4.3.1.1	Nachweis von Milchsäurebakterien	92
4.3.1.2	Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl	94
4.3.1.3	Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i>	95
4.3.1.4	Nachweis von <i>Pseudomonas ssp.</i>	96
4.3.1.5	Nachweis von <i>Brochotrix thermosphacta</i>	97
4.3.2	Spezifischer Nachweis von <i>P. acidilactici</i> mit dem API Test	98
4.3.3	Molekularbiologischer Nachweises von <i>P. acidilactici</i>	99
4.3.4	Physikalische Untersuchungsergebnisse VVS 3	100
4.3.4.1	pH-Werte der Hackfleischproben bei verschiedenen Konzentrationen der Schutzkulturen	100
4.3.5	Sensorische Untersuchungsergebnisse des VVS 3	101
4.3.5.1	Ergebnisse der deskriptiven In/Out-Tests	101
<b>4.4</b>	<b>Hauptversuche mit Hackfleisch aus Putenflügelfleisch</b>	<b>107</b>
4.4.1	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse	107
4.4.1.1	Nachweis von Milchsäurebakterien	107
4.4.1.2	Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (GKZ)	108
4.4.1.3	Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i>	108
4.4.1.4	Nachweis von <i>Pseudomonas ssp.</i>	109
4.4.1.5	Nachweis von <i>Brochotrix thermosphacta</i>	110
4.4.2	Physikalische Untersuchungsergebnisse	111
4.4.2.1	Ergebnisse der $a_w$ -Wertmessungen	111
4.4.2.2	Ergebnisse der pH-Wertmessungen	112
4.4.3	Sensorische Untersuchungsergebnisse	113
4.4.3.1	Ergebnisse des In/Out-Tests	113

<b>4.5</b>	<b>Hauptversuche mit Hackfleisch aus Putenkeulenfleisch</b>	<b>120</b>
4.5.1	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse	120
4.5.1.1	Nachweis von Milchsäurebakterien	120
4.5.1.2	Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (GKZ)	121
4.5.1.3	Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i>	121
4.5.1.4	Nachweis von <i>Pseudomonas</i> ssp.	122
4.5.1.5	Nachweis von <i>Brochothrix thermosphacta</i>	123
4.5.1.6	Qualitativer Nachweis von <i>Listeria</i> ssp.	124
4.5.1.7	Qualitativer Nachweis von <i>Campylobacter</i> ssp.	125
4.5.1.8	Quantitativer Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i> nach Inokulation	126
4.5.1.9	Quantitativer Nachweis von <i>Salmonella enterica</i> nach Inokulation	128
4.5.1.10	Quantitativer Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i> nach Inokulation	130
4.5.1.11	Quantitativer Nachweis von <i>Campylobacter jejuni</i> nach Inokulation	133
4.5.2	Physikalische Untersuchungsergebnisse	133
4.5.2.1	Ergebnisse der $a_w$ -Wertmessungen	133
4.5.2.2	Ergebnisse der pH-Wertmessungen	133
4.5.2.3	Ergebnisse der instrumentellen Farbmessung	134
4.5.3	Sensorische Untersuchungsergebnisse	137
4.5.3.1	Ergebnisse der Rangordnungsprüfungen	137
4.5.3.2	Ergebnisse des hedonischen Akzeptanz-Tests	142
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>148</b>
<b>5.1</b>	<b>Material</b>	<b>148</b>
5.1.1	Rohstoff	148
5.1.2	Eingesetzte Schutzkulturen	148
5.1.3	Eingesetzte Marker-Mikroorganismen	148
<b>5.2</b>	<b>Methoden</b>	<b>149</b>
5.2.1	Transport von Rohstoff und Hackfleisch	149
5.2.2	Herstellung des Hackfleisches	149
5.2.3	Applikation der Schutzkulturen	149
5.2.4	Verpackung	150
5.2.5	Eingesetztes Schutzgas-Gemisch	150
5.2.6	Dotierung und Verteilung von pathogenen Mikroorganismen	150
5.2.7	Lagerung der Hackfleischproben	151
5.2.8	Kulturelle Nachweismethoden	151
5.2.8.1	Nachweis der aeroben Gesamtkeimzahl	152
5.2.8.2	Nachweis von anaerob wachsenden Laktobazillen	152
5.2.9	Physikalische Nachweismethoden	152
5.2.9.1	Messung der Temperatur	152
5.2.9.2	Messung des pH-Wertes	152
5.2.9.3	Messung des $a_w$ -Wertes	153
5.2.10	Chemische Untersuchungen	153
5.2.11	Biochemische Nachweismethoden	153
5.2.12	Molekularbiologische Nachweismethoden	154
5.2.13	Instrumentelle Farbmessung	154
5.2.14	Sensorische Untersuchungen	155
5.2.14.1	Rangordnungsprüfung in Anlehnung an ISO 8587	155
5.2.14.2	In / Out-Test nach DIN 10973	156
5.2.14.3	Deskriptiver In / Out-Test nach DIN 10973	156
5.2.14.4	Hedonischer Akzeptanztest in Anlehnung an E DIN 10974	156

<b>5.3</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>157</b>
5.3.1	Kulturelle Nachweise	157
5.3.1.1	Milchsäurebakterien	157
5.3.1.2	Mesophile aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ)	158
5.3.1.3	<i>Enterobacteriaceae</i>	159
5.3.1.4	<i>Pseudomonas ssp.</i>	160
5.3.1.5	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	160
5.3.1.6	<i>Listeria ssp.</i>	161
5.3.1.7	<i>Campylobacter ssp.</i>	163
5.3.1.8	<i>Salmonella ssp.</i>	164
5.3.1.9	<i>Staphylococcus ssp.</i>	165
5.3.2	Physikalische Untersuchungen	165
5.3.2.1	pH-Wert	165
5.3.2.2	$a_w$ -Wert	166
5.3.3	Chemische Analyse	167
5.3.3.1	Aschegehalt	167
5.3.3.2	Trockensubstanz	167
5.3.3.3	Gesamtfett	167
5.3.3.4	Rohprotein	168
5.3.3.5	Hydroxiprolin	168
5.3.4	Biochemische Nachweise	168
5.3.5	Molekularbiologische Nachweise	168
5.3.6	Instrumentelle Farbmessung	169
5.3.6.1	L*-Wert	169
5.3.6.2	a*-Wert	170
5.3.6.3	b*-Werte	170
5.3.7	Sensorische Untersuchungen	170
5.3.7.1	Deskriptiver In / Out-Test	171
5.3.7.2	In / Out-Test	172
5.3.7.3	Hedonischer Akzeptanztest	173
5.3.7.4	Rangordnungsprüfung	175
<b>6.</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>178</b>
<b>7.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>181</b>
<b>8.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>187</b>
<b>9.</b>	<b>QUELLENVERZEICHNIS</b>	<b>193</b>
9.1	Literaturverzeichnis	193
9.2	Gesetze und Normen	210
<b>10.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>211</b>
10.1	Tabellenanhang	211
10.2	Verbrauchsmaterialien und Geräte	252
10.2.1	Verwendete Mikroorganismen	252

## Inhaltsverzeichnis

---

10.2.1.1	Schutzkulturen	252
10.2.1.2	Marker-Mikroorganismen	252
10.2.2	Verbrauchsmaterialien	252
10.2.3	Geräte	254
10.2.4	Produktspezifikationen	255
10.2.4.1	Verpackungsmachine Multivac T350	255
10.2.4.2	MAP-Schalen	255
10.2.4.3	Verbundfolie Top Tray LAF 50	256
10.2.4.4	Primerspezififikation	256
10.2.4.5	Rezepturen der verwendeten Selektivnährmedien	257
10.2.4.6	Produktspezifikationen der eingesetzten Schutzkulturen	258
<b>10.3</b>	<b>Prüfbögen der sensorischen Prüfungen</b>	<b>262</b>
<b>10.4</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>269</b>
<b>10.5</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>271</b>
<b>10.6</b>	<b>Danksagung</b>	<b>274</b>
<b>10.7</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>277</b>
<b>10.8</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>278</b>
<b>10.9</b>	<b>Veröffentlichungen</b>	<b>279</b>

## 1. Einleitung

Trotz modernster und auf präventiven Verbraucherschutz ausgerichteter Be- und Verarbeitungstechnologien von Lebensmitteln werden in Deutschland jährlich ca. 200.000 „food borne diseases“ gemeldet, wobei die tatsächliche Anzahl der Erkrankungen aufgrund der Dunkelziffer deutlich höher liegen dürfte.

Geflügelfleisch wird neben zerkleinertem Fleisch von Rind und Schwein als Risikolebensmittel eingeschätzt, da es in hohem Maße mit Salmonellen, *Campylobacter* und Listerien belastet sein kann. Unter modifizierten Atmosphären verpackte Frischfleischprodukte wie z.B. Hackfleisch wurden auf dem 5. Weltkongress der WHO in Berlin ebenfalls erneut als Risikolebensmittel eingestuft. Da bei Frischfleisch in SB-Verpackungen in Deutschland ein wachsender Marktanteil zu verzeichnen ist, der nach Prognosen von am Markt befindlichen Firmen bis zum Jahr 2010 auf ca. 50 % des gesamten Frischfleischangebotes ansteigen wird, ist diese Einschätzung der mikrobiologischen Risiken seitens der Industrie und der Verbraucher von großer Relevanz. Frisches MAP-verpacktes Hackfleisch ist mittlerweile zu einer festen Größe im SB-Sortiment des Einzelhandels geworden.

Von Seiten der Geflügelfleischverarbeiter und des Handels besteht großes Interesse, das Produktsortiment für den SB-Bereich auf Geflügelfleisch auszuweiten, da aufgrund der ernährungsphysiologischen Qualität von Geflügelfleischprodukten ein zunehmendes Interesse seitens der Verbraucher registriert wird. Aufgrund des verhältnismäßig geringen Fettanteils liegt der Verzehr von Geflügelfleisch weiterhin im Trend von Lifestyle und bewusster Ernährung. In Deutschland lag der Pro-Kopf-Verzehr von Geflügelfleischprodukten im Jahr 2007 nach Angaben der ZMP bei durchschnittlich 10,1 kg. Im Vergleich dazu lag der durchschnittliche Pro-Kopf-Verzehr in Europa bei ca. 13,8 kg.

Aufgrund der stetig wachsenden Nachfrage nach Produkten aus Geflügelfleisch wird angestrebt, die Produktpalette des Einzelhandels im SB-Bereich der Frischfleischtheken um Geflügelhackfleisch zu erweitern. Da es sich bei Geflügelhackfleisch jedoch um ein sehr sensibles Lebensmittel handelt, welches aufgrund möglicher Kontaminationen mit verderbniserregenden und pathogenen Mikroorganismen für einen vorzeitigen Verderb prädestiniert ist und davon auszugehen ist, dass die Kühltette durch den Verbraucher für die Dauer des Einkaufs und Transports nach Hause unterbrochen wird, sind neben einer strikten Kühllagerung und der Verpackung unter modifizierter Atmosphäre weitere Sicherungssysteme erforderlich, um eine gesundheitliche Gefährdung des Verbrauchers auszuschließen. Zudem herrschen in den meisten Kühlschränken der Verbraucher in der Regel nicht die vom Hersteller in Verbindung mit dem Verbrauchsdatum geforderten Temperaturen von  $\leq +2$  °C.

Im Sinne der Europäischen Verordnungen VO (EG) 178/2002; VO (EG) 852/2004 und VO (EG) 853/2004 ist der präventive Verbraucherschutz das maßgebliche Ziel bei der Herstellung von, und dem Verkehr mit Lebensmitteln. Nach dem Produkthaftungsgesetz 2002 und der europäischen Richtlinie 2001/95/EG liegt die Sicherung des Verbraucherschutzes in hohem Maße in der Hauptverantwortung des Lebensmittelunternehmens und sollte sich damit vorrangig im Fokus dessen wirtschaftlicher Interessen befinden. Dabei werden Beschränkungen für den Verkehr und Vertrieb bestimmter Lebensmittel aufgehoben und dieser Verantwortung des Unternehmens untergeordnet. Nach europäischer Gesetzgebung in der VO (EG) 852/2005 darf ein Lebensmittelunternehmen keine Zutaten oder Rohstoffe einsetzen, die aller Voraussicht nach mit pathogenen Mikroorganismen belastet sind. Von der nicht selten vorkommenden

Kontamination von Geflügelschlachtkörpern mit pathogenen Keimen kann hieraus jedoch kein generelles Verbot mehr abgeleitet werden, da die Vermarktung von frischem Geflügelhackfleisch durch die europäische Verordnung VO EG 853/2004 explizit zugelassen ist. Das Lebensmittelunternehmen steht in der Verantwortung, die Unbedenklichkeit des Produktes bezüglich der mikrobiologischen und sensorischen Genussfähigkeit bis zum Verzehr durch den Verbraucher sicherzustellen.

Zur Gewährleistung der mikrobiologischen und sensorischen Produktqualität von Lebensmitteln bieten sich eine Vielzahl von Technologien und Haltbarmachungsmethoden an, die auf der Grundlage von chemischen und/oder physikalischen Gesetzmäßigkeiten eine Stabilisierung der Genusstauglichkeit des Lebensmittels bewirken. Eine Alternative zu herkömmlichen Konservierungsmethoden stellt die Biokonservierung von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch dar. Bei dieser Konservierungsmethode wird auf die Verwendung konventioneller Konservierungsstoffe wie z.B. Nitritpökelsalz verzichtet, indem die protektiven Eigenschaften ausgewählter Mikroorganismen genutzt werden.

Der Einsatz von selektiven Schutzkulturen bei der Herstellung von Geflügelhackfleisch stellt eine solche zusätzliche Hürde dar, durch die eine effektive Kontrolle der produktassoziierten Keimflora im Geflügelhackfleisch möglich ist, da die Schutzkulturen für die produktspezifischen Mikroorganismen eine Konkurrenzflora darstellen.

Viele veröffentlichte Studienergebnisse beschreiben die Inhibierung von produktassoziierten Mikroorganismen durch Milchsäurebakterien, die als Schutzkulturen in Frischfleischprodukten eine Konkurrenzflora darstellen und zur Biokonservierung eingesetzt werden. Darüber hinaus bilden viele Milchsäurebakterien verschiedene niedermolekulare Verbindungen wie bspw. Wasserstoffperoxid, Kohlendioxid oder Diacetyl. Zudem sind einige Milchsäurebakterienstämme in der Lage, Bakteriozine zu bilden und im Lebensmittel freizusetzen. Alle diese Verbindungen können dem Wachstum von unerwünschten pathogenen und verderbniserregenden Mikroorganismen entgegenwirken und somit eine Verbesserung bzw. Stabilisierung der Produktqualität und –sicherheit bewirken.

Der Einfluss von Schutzkulturen auf die Haltbarkeit und Qualität von Geflügelhackfleisch ist bisher nicht wissenschaftlich bearbeitet worden.

Ziel dieser Arbeit war es, neben der MAP-Verpackung und der kontinuierlichen Kühlung bei Temperaturen von  $\leq +2$  °C eine zusätzliche mikrobiologische Hürde in das Produkt zu integrieren, um das erforderliche „shelf-life“ von 8 bis 10 Tagen bei der Herstellung und Vermarktung von frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch im SB-Segment deutscher Handelsketten sicherzustellen.

Zu diesem Zweck wurde in den Versuchen der Einfluss verschiedener Schutzkulturen auf die produktspezifische Keimflora sowie auf die sensorische Produktqualität von frischem, MAP-verpacktem und -gelagertem Geflügelhackfleisch über den Zeitraum von 10 Tagen untersucht.

## 2. Schrifttum

### 2.1 *Schlachtgeflügel*

#### 2.1.1 Definition

Laut VO (EG) Nr. 853/2004 fällt unter den Begriff „Geflügel“ Farmgeflügel, einschließlich der Tiere, die zwar nicht als Haustiere gelten, jedoch wie Haustiere aufgezogen werden, mit der Ausnahme von Laufvögeln (AMTSBLATT der EUROPÄISCHEN UNION 2004).

#### 2.1.2 Aufbau und Zusammensetzung von Geflügelfleisch

Das während des Schlachtprozesses gewonnene Geflügelfleisch kann in Abhängigkeit von Sehnen- und Fettgewebsanteilen in verschiedene Klassen eingeteilt werden. Grundsätzlich ist es im Vergleich zu „Rotfleisch“, in Abhängigkeit von Rasse, Alter und Geschlecht der Tiere, meist fett- und bindegewebsärmer und weist ein weniger stark ausgeprägtes Fleischaroma auf. Unterschieden werden sehnen- und fettgewebearmes Geflügelfleisch, bestehend aus Skelettmuskulatur, die von Natur aus wenig Bindegewebe oder Fettgewebe enthält oder deren Gehalt an diesen Geweben entsprechend verringert worden ist, grob entsehntes Geflügelfleisch, das bei der Verarbeitung von ganzem Geflügel ohne Brust nach Entfernung von groben Sehnen und der Flügel anfällt, sehnenreiches Geflügelfleisch mit anhaftender Haut, dessen Bindegewebsanteile höher liegen, als bei „grob entsehntem Fleisch“. Zudem fällt bei der Zerlegung von Geflügel Separatorenfleisch an, das manuell oder maschinell von grob ausgelösten Knochen abgetrennt wird. Dieses Fleisch wird als sehnenreich gewertet und darf nur für Brüh- oder Kochwurst verwendet werden, eine entsprechende Kennzeichnung ist erforderlich (LEITSÄTZE FÜR FLEISCH UND FLEISCHERZEUGNISSE 2008).

Der Proteinanteil in fettarmem Geflügelfleisch (Hähnchenbrust) liegt nach SOUCI (2000) im Mittel bei 22,8 %, der Fettanteil kann je nach Rasse, Geschlecht und Alter zwischen 1 und 15 % betragen. 76 % des fettarmen Geflügelfleisches bestehen aus Wasser und ca. 1 % der Anteile fällt auf Mineralstoffe zurück. Der Glykogenanteil variiert je nach Fleischpartie und Rasse zwischen 0,5 und 1 % (RÖMPP 1995; SOUCI 2000).

Die Proteine können aufgrund ihrer unterschiedlichen Eigenschaften in wasserunlösliche Skleroproteine, wasserlösliche Sphäroproteine und Proteinkomplexe unterteilt werden. Skleroproteine dienen als Stütz- und Gerüstsubstanzen. Zu den wichtigsten Vertretern dieser Proteine sind Kollagen, Kreatin und Myosin zu zählen. Der Gruppe der Sphäroproteine gehören Albumin und Globulin an. Proteinkomplexe setzen sich aus einem Protein und anderen Strukturbausteinen wie z.B. Kohlenhydraten zusammen. Die bekanntesten unter ihnen sind die Lipo- und Glycoproteine (KARLSON 1988).

Allgemein besteht Geflügelfleisch aus Muskeln mit einer sehr hohen Faserdichte und sehr feiner Faserung. Die Dicke der Muskelfasern ist rassenspezifisch und von Alter und Geschlecht des Tieres abhängig. Durch einen sehr geringen Anteil an intramuskulärem Bindegewebe und Fett in Abhängigkeit von Rasse und Fleischpartie ist das Fleisch von Geflügel allgemein sehr zart und gut verdaulich (PINGEL et al. 2007).

Die Brustmuskulatur setzt sich im Gegensatz zu Rotfleisch aus weißen  $\alpha$ -W-Fasern zusammen. Der Myoglobinanteil ist in diesen Muskelpartien im Vergleich zur roten Muskulatur reduziert, der Gehalt an Glykogen ist dagegen höher. Bei der dunkleren Schenkelmuskulatur ist ein deutlich höherer Anteil an roten  $\beta$ -R-Fasern zu verzeichnen, die durch einen höheren Myoglobingehalt charakterisiert sind (PINGEL et al. 2007).

### 2.1.3 Geflügel als Träger und Überträger von Mikroorganismen

Zur Beurteilung der mikrobiologischen Prozesse, die in und auf Produkten aus Geflügelfleisch ablaufen, müssen die Haltungsbedingungen der lebenden Tiere bei der Betrachtung mit einbezogen werden.

Zunächst kann eine mikrobielle Besiedlung der Wirtstiere *intra vitam* erfolgen. Spätestens mit dem Schlüpfen aus dem Ei treffen die Tiere jedoch auf Mikroorganismen der Umgebung. Stellen die Tiere ein günstiges Habitat für die Mikroorganismen der Umgebung dar, z.B. durch Verletzungen oder Krankheiten, in deren Folge das Immunsystem der Tiere geschwächt wurde, so kommt es vorübergehend oder dauerhaft zu einer Besiedlung derselben. Eine ungebremste Vermehrung der Mikroorganismen im Wirtstier wird allerdings meistens durch die Ausbildung eines Gleichgewichtes zwischen Mikroorganismus und Wirt verhindert (FEHLHABER 2001; WEISE 2003).

Vor allem im Verdauungstrakt der Tiere kommt dieses Prinzip zum Tragen, da hier die Darmflora zu einem Bestandteil eines stabilen und hochkomplexen Ökosystems wird. Besitzen die Tiere ein intaktes Immunsystem, so können sich in begrenzten Bereichen Mikroorganismen ansiedeln, die unter ungünstigen Bedingungen Krankheiten hervorrufen, ohne beim Tier Krankheitssymptome auszulösen. Sobald sich Mikroorganismen als Erreger von Krankheiten im Darm der Tiere angesiedelt haben, können die Tiere zu Dauerausscheidern der Mikroorganismen werden. Die paarig angelegten Blinddärme (Caeca) in Geflügeltieren sind für pathogene Mikroorganismen, die anaerobe bzw. mikroaerophile Wachstums- und Vermehrungsbedingungen benötigen, bevorzugte Habitate (WEISE 2003).

Die einzelnen Darmabschnitte weisen oft unterschiedlich besiedelte Bereiche auf. Während der Dünndarm verhältnismäßig schwach mit Mikroorganismen besiedelt ist, lassen sich in den Caeca der Tiere Keimzahlen von bis zu  $10^{11}$  koloniebildenden Einheiten pro Gramm Darminhalt nachweisen. Hier sind neben anaeroben Mikroorganismen wie z.B. *Bacteroides* ssp., *Bifidobacterium* ssp., *Coprococcus* ssp., *Eubacterium* ssp., *Fusobacterium* ssp., *Streptococcus* ssp. und verschiedener Arten von Clostridien auch fakultativ anaerob wachsende coliforme Mikroorganismen wie *Escherichia coli* sowie Laktobazillen und Enterokokken vertreten (KRÖCKEL u. HECHELMANN 1998; BARNES 1966).

Im Verdauungstrakt dominieren somit gramnegative Mikroorganismen mit geringen Sauerstoffansprüchen die Mikroflora. In Abhängigkeit von Art und Umfang des verabreichten Futters, dem Einsatz beigefügter Zusatzstoffe und/oder dem Alter der Tiere können die Keimspektren jedoch variieren (FEHLHABER 2001; WEISE 2003).

Im Gegensatz zum inneren Milieu von Schlachtgeflügel ist die äußere Oberfläche, bestehend aus Haut und Gefieder, überwiegend mit grampositiven Mikroorganismen, wie z.B. Mikrokokken und aeroben Sporenbildnern behaftet (FEHLHABER 2001; WEISE 2003).

Bei Durchfeuchtung des Gefieders steigt jedoch auch der Anteil der sauerstofftoleranten Mikroorganismen aus der Darmflora an. Das Federkleid von Schlachtgeflügel ist häufig mit einer hohen Anzahl von Fäkalkeimen belastet. Ursachen dafür sind vor allem hygienisch bedenkliche Bedingungen vor dem Schlachtprozess wie z.B. Transportkäfige mit perforierten Böden und Deckeln, Stapelung der belegten Käfige in mehreren Lagen übereinander sowie mangelnde Nüchternungszeiten der Tiere vor der Schlachtung (BOLDER 1998; WEISE 2003). Für den späteren mikrobiellen Verderb von Geflügelfleischprodukten bei Kühlbedingungen von ca. 4 °C spielen die meisten der oben genannten Mikroorganismen jedoch nur eine untergeordnete Rolle. Zu den hauptsächlichen Verursachern des frühzeitigen mikrobiellen Verderbs unter Kühlbedingungen zählen vor allem *Pseudomonas* ssp. und *Brochotrix thermosphacta* (KRÖCKEL u. HECHELMANN 1998; BARNES 1966).

Diese kommen jedoch im lebenden Tier zunächst nur in geringen Mengen vor. Es gibt jedoch auch Mikroorganismen, die im oder auf dem lebenden Geflügel vorkommen und direkt und/oder indirekt auf den Menschen übertragen werden und zu Krankheiten führen können. Zu diesen zählen unter anderem Salmonellen und *Campylobacter* ssp., sowie *Listeria monocytogenes* (AKPOLAT et al. 2004; MAYRHOFER et al. 2004; GHAFIR et al. 2005; van de GIESSEN et al. 2006; WEISE in WEBER 2003).

Der Zoonosenbericht des Bundesinstitutes für Risikobewertung und Verbraucherschutz (BfR) gibt einen Überblick über die Häufigkeit des Vorkommens von mikrobiellen Krankheitserregern in Lebensmitteln, welche anhand von Planproben in Deutschland nachgewiesen wurden.

**Tabelle 1: Häufigkeit des Nachweises pathogener Mikroorganismen in Lebensmitteln (Zoonosenbericht 2006, BfR, Planproben)**

Mikroorganismus	Lebensmittel	Häufigkeit des Nachweises
<b><i>Salmonella</i></b>	Geflügelfleisch	11,54 %
	Wildfleisch	3,74 %
	Schweinefleisch	2,95 %
	Rindfleisch	0,31 %
	Hackfleisch (HfIVO)	2,81 %
	Hühnereier	0,59 %
	Schale	0,39 %
	Dotter	0,06 %
<b><i>Campylobacter</i></b>	Geflügelfleisch	31,89 %
	Rohfleisch, zerkleinert	2,13 %
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	Geflügelfleisch	7,47 %
	Geflügelfleischzubereitung, roh	16,13 %
	Wildfleisch	9,76 %
	Schweinefleisch	6,64 %
	Rindfleisch	8,26 %
	Hackfleisch	15,96 %
	Fleischerzeugnisse unerhitzt	18,36 %
Fischerzeugnisse	9,25 %	
<b><i>E. coli</i> (VTEC)</b>	Geflügelfleisch	0,00 %
	Schaffleisch	11,11 %
	Wildfleisch	9,92 %
	Schweinefleisch	0,68 %
	Rindfleisch	4,52 %
	Hackfleisch	5,89 %
	Roh- Milch (Sammelmilch)	1,02 %
	Vorzugsmilch	1,35 %
Roh- Milch- Weichkäse	0,00 %	

### 2.1.4 Qualität von Geflügelfleisch

Der allgemeine Begriff der Fleischqualität umfasst mehrere Parameter, welche durch Produzenten, Verarbeiter und Verbraucher direkt beeinflussbar sind. Unter Fleischqualität werden vor allem die Kategorien: Genussqualität, hygienische Qualität, Nährstoff- und Verarbeitungsqualität zusammengefasst.

Die sensorischen Produkteigenschaften, wie z.B. Konsistenz, Geschmack, Geruch, Aussehen und Farbe werden als Genussqualität zusammengefasst. Die Nährstoffqualität eines Produktes definiert sich über die chemische Zusammensetzung, den Anteil an Kohlenhydraten, Lipiden und Proteinen, sowie Mineralstoffen und Vitaminen. Bei den Proteinen werden wiederum die unterschiedlichen Anteile von Muskel-, Bindegewebs- und Fremdproteinen zur Qualitätsbestimmung herangezogen (HOFFMANN et al. 1986).

In Schlachtgeflügel liegt der Anteil an Bindegewebsproteinen bei durchschnittlich 2,5 % (bezogen auf den Gesamtproteingehalt) und ist in den verschiedenen Fleischpartien unterschiedlich stark ausgeprägt. So sind im Brustfleisch von Mastputen deutlich weniger Bindegewebsproteine (1,32 %) zu verzeichnen, als beispielsweise im Fleisch von Putenschenkeln, in denen ca. 3,64 % des Gesamtproteingehaltes aus Bindegewebsproteinen bestehen (PINGEL et al. 2007).

Unter dem Begriff Verarbeitungsqualität werden Parameter wie das Saffthaltevermögen, die Farbe, der pH-Wert, der Gehalt an freiem Wasser ( $a_w$ -Wert), sowie die Beschaffenheit des Geflügelfleisches hinsichtlich Fettgehalt und Verpackung zusammengefasst.

Einen sehr großen Einfluss auf die Qualität von Geflügelfleisch hat der hygienische Zustand der Produkte. Dieser wird maßgeblich durch die Einhaltung von Personal- und Prozesshygiene über den gesamten Verlauf der Produktionskette, von der Erzeugung bis zum Verbraucher beeinflusst, aber auch durch mikrobiologische Parameter, wie z.B. den Ausgangskeimgehalt der zu verarbeitenden Rohstoffe, sowie durch eventuell vorhandene Rückstände von Medikamenten, Hormonen und Herbiziden, die sich im Produkt nachweisen lassen (HOFFMANN et al. 1986; PINGEL et al. 2007).

### **2.1.5 Qualitätsbeeinflussende Faktoren**

Die Qualität der Produkte, die aus Schlachtgeflügel hergestellt werden, wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Diese können in intrinsische, extrinsische, implizite und prozessbedingte Faktoren unterteilt werden (MOSEL 1979; GIBBS et al. 1982; NYCHAS und DROSINOS 2000).

#### **2.1.5.1 Intrinsische Faktoren**

Als intrinsische Faktoren werden Eigenschaften eines Lebensmittels bezeichnet, die diesem innewohnen, wie z.B. die Nährstoffzusammensetzung von Geflügelfleisch, der Zerkleinerungsgrad, der  $a_w$ -, pH- und Eh-Wert, sowie das Vorhandensein antimikrobieller Bestandteile oder struktureller Hindernisse.

#### **2.1.5.2 Implizite Faktoren**

Implizite Faktoren beeinflussen die Qualität des zu vermarktenden Produktes über Interaktionen von Mikroorganismen, wie z.B. Synergismen und Antagonismen der natürlichen Mikroflora von Geflügelfleisch bei der Konkurrenz um Nährstoffe sowie spezifische Wachstumseigenschaften (Grenzen der Wachstumsraten).

#### **2.1.5.3 Extrinsische Faktoren**

Als extrinsische Faktoren werden äußere Einflüsse bezeichnet, die direkten Einfluss auf die Qualität des zu vermarktenden Produktes ausüben, wie z.B. die Herstellungs- und Lagerungstemperatur des Geflügelfleisches, die relative Luftfeuchtigkeit und die Zusammensetzung der Gasatmosphäre in der Verpackung.

#### **2.1.5.4 Prozessfaktoren**

Als Prozessfaktoren werden Einflüsse auf das Geflügelfleisch bezeichnet, die durch den Herstellungsprozess und die Prozessführung bewirkt werden, wie z.B. der Zusatz von Konservierungsstoffen, die Einhaltung von Personal- und Prozesshygiene sowie Zeit- und Temperaturführung während Produktion, Lagerung und Vertrieb.

#### **2.1.6 Farbe als Qualitätskriterium von Geflügelfleisch**

Die Farbe von rohem Fleisch ist ein ganz entscheidendes Qualitätskriterium und beeinflusst die Kaufentscheidung des Verbrauchers. Der Verbraucher assoziiert eine kräftige Rotfärbung mit einer guten Fleischqualität. Zu blasses oder zu dunkles Fleisch wird vom Verbraucher in der Regel gemieden (AASLYNG 2002).

Eine ansprechende Farbe suggeriert dem Verbraucher ein frisches, qualitativ hochwertiges Produkt mit charakteristischen Eigenschaften, wie z.B. Zartheit oder Schmackhaftigkeit zu erwerben (HONIKEL 2007).

##### **2.1.6.1 Farbgebende Substanzen im Geflügelfleisch**

Für den Farbeindruck des Geflügelfleisches sind, aufgrund der Fähigkeit zur reversiblen Bildung des Sauerstoffes, vorwiegend Myoglobin sowie Hämoglobin verantwortlich. Darüberhinaus gibt es noch einige Pigmente ähnlicher Struktur wie z.B. Cytochrome, die aber quantitativ keine Rolle spielen (CHATELAIN et al 2007).

Das Myoglobin weist in einem Porphyrinring ein zentrales Eisenion auf, das als Cofaktor in die Proteinstruktur des Myoglobins eingebettet ist. Das Häm, das dem Myoglobin strukturell sehr ähnlich ist, besitzt ebenfalls ein Eisenion zur Bindung von Sauerstoff im Muskel. Je höher der Anteil des Myoglobins im Muskel, desto höher ist die Sauerstoffbindungskapazität (KONIKEL 2007).

Myoglobin existiert in drei verschiedenen Formen, als reduziertes Myoglobin, als Oximyoglobin und als Metmyoglobin, die in einem ausgeglichenen Verhältnis zueinander vorkommen. Die Kombination dieser drei Verbindungen ist für die Farbentwicklung im Fleisch verantwortlich (FEINER 2006).

Der Anteil an Hämoglobin ist abhängig von der Menge des nach dem Schlachten und Ausbluten im Muskel verbleibenden Blutes. Bei einem ordnungsgemäß ablaufenden Schlachtprozess beträgt der Anteil jedoch nur wenige Prozent des Gesamtpigmentgehaltes (CHATELAIN et al 2007).

In Folge des Schlachtens oder des Verpackens sinkt der Sauerstoffgehalt in der Muskulatur ab. Bedingt durch den niedrigen Sauerstoffpartialdruck wird das Myoglobin zu Metmyoglobin umgewandelt. Parallel erfolgt die Oxidation des Eisen-II zu Eisen-III. Dies äußert sich in einer leichten Grünfärbung der Fleischoberfläche (FEINER 2006).

Die Bindung von schwefelhaltigen Verbindungen führt zu einem grün gefärbten Myoglobin, das einen beginnenden Verderb signalisiert (HONIKEL 2007).

Das Verhältnis von Oximyoglobin zu Metmyoglobin beeinflusst besonders die Farbe der dem Luftsauerstoff ausgesetzten Oberfläche des Fleisches. Bei 30 % Metmyoglobin in Bezug auf den Gesamtpigmentgehalt ist die Fleischfarbe noch intensiv hellrot. Ab 50 – 60 % Metmyoglobin ist ein bräunliches Rot erkennbar. Ab 60 – 70 % Metmyoglobin wirkt die Fleischfarbe rötlich-braun. Die Akzeptanz beim Konsumenten sinkt bereits ab 20 – 40 % Metmyoglobin beim Einzelverkauf (CHATELAIN et al 2007).

Die Fleischfarbe wird maßgeblich bestimmt von der Farbstoffkonzentration, vom Verhältnis der unterschiedlichen Myoglobinformen untereinander, von der Reflexion an der Oberfläche und vom pH-Wert des Fleisches (CHATELAIN et al 2007).

Zwischen den einzelnen Teilstücken innerhalb eines Schlachtkörpers existieren grundsätzlich Helligkeitsunterschiede, die auf die Bewegung bzw. Nutzung der Muskulatur zurückzuführen sind. Bis zum Erreichen der Geschlechtsreife verdunkelt sich die Muskulatur mit steigendem Alter der Tiere. Die Fleischfarbe ist jedoch auch vom Ernährungszustand der Tiere abhängig und kann zudem durch die Vorgänge während und nach der Schlachtung beeinflusst werden. Durch eine mangelhafte Prozessführung können neben einer Veränderung der Fleischfarbe auch Veränderungen der pH-Werte im Fleisch auftreten, die in Form von PSE- und DFD-Fleisch zu Minderqualitäten des Schlachtfleisches führen (HONIKEL 2007).

Die Lagerung von vakuumverpacktem Fleisch führt dazu, dass Myoglobin zu Metmyoglobin oxidiert. Die Oxidation hat zur Folge, dass die Rotfärbung des Fleisches abnimmt bzw. etwas verblasst (HONIKEL 2007).

### 2.1.6.2 Instrumentelle Farbmessung mit dem L\*a\*b\*-Farbsystem

„Jede Farbe setzt sich aus den drei Attributen Farbton, Helligkeit und Sättigung zusammen. In der Vergangenheit wurden verschiedene Methoden vorgeschlagen, um Farben möglichst objektiv messen zu können und damit die Verständigung darüber leichter und genauer zu gestalten“ (CHATELAIN et al. 2007).

Das menschliche Auge ist ein hochentwickeltes Sinnesorgan, das die Fähigkeit besitzt, zwischen  $7 \cdot 10^6$  unterschiedlichen Farbtönen zu differenzieren. Für 3000 verschiedene Farben bzw. Farbtöne existieren spezielle Bezeichnungen, von denen täglich lediglich zwölf Farben verwendet werden (FEINER 2006).

Das L\* a\* b\*-Farbraumsystem (CIELAB-System) ist heute das gebräuchlichste System für die Farbmessung und hat in fast allen Anwendungsbereichen eine große Verbreitung gefunden. Es wurde 1976 als einer der gleichabständigen Farbräume von der CIE (Commission Internationale de l'Éclairage) definiert. Der Farbraum des L\* a\* b\*-Farbsystems ist durch die Helligkeit L\* und die Farbkoordinaten a\* und b\* gekennzeichnet (BLÜCHEL und HONIKEL 2006).

Die Farbtöne liegen auf dem Außenmantel, die Helligkeit verändert sich auf der senkrechten Achse, und die Sättigung ist außen am höchsten und verringert sich zur Mittelachse hin. Versieht man diese Darstellung mit sämtlichen existierenden Farben, entsteht ein Farbkörper. Weil der horizontal verlaufende Sättigungsgrad mit den jeweiligen Farbtönen und Helligkeiten variiert, ergibt sich ein recht unregelmäßiges Gebilde. Dennoch werden im Farbkörper die Beziehungen zwischen Farbton, Helligkeit und Sättigung sehr gut veranschaulicht (BLÜCHEL und HONIKEL 2006).

Die Helligkeit L\* kann Werte zwischen 0 und 100 haben, wobei L\*= 0 schwarz und L\*= 100 reinweiß ist. Die Farbunterschiede auf der Rot-Grün-Achse werden mittels der a\*-Werte dargestellt, die Werte liegen zwischen -80 und +80. Die negativen a\*-Werte stehen für eine Grün-, die positiven a\*-Werte für eine Rotfärbung. Die Farbunterschiede der Gelb-Blau-Achse werden durch die b\*-Werte dargestellt und die Messwerte liegen ebenfalls in einem Bereich zwischen -80 und +80. Die negativen b\*-Werte stehen für eine Blau- und die positiven b\*-Werte für eine Gelbfärbung (BERGER-SCHUN 1994).

Im Koordinatenursprung (Achsen Schnittpunkt) befindet sich ein neutrales Grau ohne jede Buntheit. Mit steigenden a\* und b\*-Werten - je weiter also der Farbort von der Mitte entfernt liegt - steigt auch die Buntheit des Farbtones (BLÜCHEL und HONIKEL 2006).

Der wichtigste Wert bei der Farbmessung ist der L\*-Wert. Zur Messung von Fleischproben ist dieser Wert jedoch nur bedingt geeignet, da Fleisch häufig eine intensive Rotfärbung aufweist. Die Helligkeitsmessung von Schweinefleisch erfolgt jedoch mittels des L\*-Wertes, damit gesicherte Aussagen über die zu erwartende Qualität des Fleisches getroffen werden können. L\*-Werte von 50 bilden die Grenzen zwischen PSE- und Normalfleisch. DFD-Fleisch besitzt meist einen L\*-Wert von ca. 35. Bei der Farbmessung von Rindfleisch ist zusätzlich zum L\*-Wert der a\*-Wert von großem Interesse, da Rindfleisch üblicherweise eine intensivere Rotfärbung besitzt als Schweinefleisch, d.h., je höher der a\*-Wert, desto intensiver ist die Rotfärbung des Fleisches (HONIKEL 2007).

Die Entwicklung bzw. Intensität der Rotfärbung wird zum einen von der Dauer des Ausblutens nach dem Schlachten und zum anderen von den pH-Wert-abhängigen Oxidations- und Reduktionsvorgängen des Myoglobins bestimmt (AASLYNG 2002).

Die Helligkeitswerte von Rindfleisch liegen für Normalfleisch im Bereich von L\* = 35-40 und für DCB, das dem DFD-Fleisch entsprechende Rindfleisch, liegen die Werte unter L\* = 28 (HONIKEL 2007).

### 2.1.7 Mikrobiologie von Geflügelfleisch

Die mikrobiologische Qualität von Geflügelfleisch sowie von Produkten, die aus Geflügelfleisch hergestellt werden, ist in hohem Maße von den Rohstoffen, die zur Herstellung eingesetzt werden, sowie von deren Qualität abhängig (KLEIN u. LOUWERS 1994; EISEL et al. 1997; REUTER 1999; HILDEBRAND et al. 2001).

Die Keimbelastung hängt insbesondere vom Alter und von der Vorbehandlung der Ausgangsmaterialien ab. Aus diesen Gründen sollte generell nur Schlachtgeflügel mit geringer mikrobieller Kontamination verwendet werden. Hierbei werden primäre und sekundäre Kontaminationen unterschieden. Die primäre Kontamination stammt vom Schlachtgeflügel selbst und schließt schwer vermeidbare Verunreinigungen während der Schlachtung, sowie Kreuzkontaminationen zwischen dem Schlachtgeflügel mit ein. Sekundäre Kontaminationen können Folgeerscheinungen mangelnder Personal- und Betriebshygiene während der Kühlung und des Verarbeitungsprozesses sein (BREMNER 1996; BÜLTE 1996; FEHLHABER 2001).

Für die Vermehrung von Mikroorganismen stellt Geflügelfleisch nach der Schlachtung ein ideales Substrat dar (FEHLHABER 2001; REUTER 1999; WEISE 2003) und muss demzufolge als leicht verderbliches Lebensmittel eingestuft werden (BÜLTE 1996).

Vorhandene Mikroorganismen des Darms und der Haut bzw. der Schlachtieroberfläche finden durch die lockere, nach dem Rupfen der Tiere zerklüftete und durch feingewebliche Zusammenhangstrennungen gekennzeichnete Haut gute Besiedlungsmöglichkeiten auf bzw. unter der Fleischoberfläche vor, welche sich mit dem Fortschreiten der Schlacht- und Bearbeitungsprozesse kontinuierlich erhöhen. Durch den Prozessschritt des Brühens wird zwar ein großer Teil des Keimspektrums auf Gefieder und Haut eliminiert, durch den anschließenden Prozessschritt des Rupfens werden jedoch neue Kontaminationsmöglichkeiten für Mikroorganismen geschaffen. Da Geflügel eine relativ große Körperoberfläche im Verhältnis zur Fleischmasse aufweist, vervielfachen sich zudem die Kreuzkontaminationsmöglichkeiten mit pathogenen und verderbniserregenden Mikroorganismen. Die Sauerstoffspannung im Gewebe und der umgebenen Atmosphäre sowie der Temperaturverlauf postmortal sind variable Einflussfaktoren. Wegen des geringen Körpergewichtes von z.B. Enten und Hühnern ist die Sauerstoffspannung im Gewebe bei geschlachtetem, ausgenommenem und nicht unter Schutzgas verpacktem Geflügel sehr hoch.

Aus diesem Grund können aerob wachsende Mikroorganismen das Keimspektrum dominieren. Anaerobe Verhältnisse sind lediglich bei sehr schweren Tieren in der Tiefe der fleischreichen Partien vorzufinden. Zudem besitzt Geflügelfleisch einen hohen Proteingehalt sowie einen, von Rasse und Körperpartie abhängigen, niedrigen Fettgehalt. Zusammen mit der nur schwach verlaufenden postmortalen Glykolyse stellen diese Faktoren weitere günstige Voraussetzungen für eine Besiedlung und Vermehrung von proteolytisch und lipolytisch aktiven Mikroorganismen dar (MEAD 2004).

In der Brustmuskulatur von Hähnchen, Puten, Enten und Gänsen erreichen die pH-Werte 45 Minuten nach der Schlachtung Durchschnittswerte von ca. 6,0. Diese sinken im weiteren Verlauf der Verarbeitung und Lagerung nicht mehr wesentlich ab. In der Schenkel- und Flügelmuskulatur tritt hingegen nur eine schwache postmortale Säuerung mit pH-Werten von 6,3 bis 6,5 ein (BÜLTE 1996).

Durch beim Transport zum Schlachthof verursachten Stress bei den Schlachttieren kann darüber hinaus ein vorzeitiger Glycogenabbau im Muskel der Tiere dazu führen, dass der pH-Wert post-mortem weniger stark absinkt (LÜCKE und TRÖGER 2007).

Zudem kann beim Transport der Tiere das Immunsystem stressbedingt so stark geschwächt werden, dass *Enterobacteriaceae* ins Blut und die inneren Gewebe gelangen. Aufgrund des erhöhten pH-Wertes besteht zudem ein größeres mikrobielles Risiko, da sich eingedrungene Mikroorganismen im Geflügel besser vermehren können (FRIES 2001).

Aufgrund der besonderen anatomischen Merkmale der Organe von Schlachtgeflügel, wie z.B. den Verästelungen in den Zwischenrippenspalten, können beim Ausnehmen der Tiere Lungen- und Nierenreste zurückbleiben, welche große Teile des beim Schlachtvorgang zugesetzten Wassers absorbieren können. Dadurch bleibt die Wasseraktivität an der Oberfläche des Tierkörpers, über den Schlachtprozess hinaus, bis zum Zeitpunkt der Verarbeitung bzw. der Zubereitung sehr hoch, so dass  $a_w$ -Werte von  $\geq 0,99$  erreicht werden (FEHLHABER 2001; WEISE 2003).

Außerdem sorgt die gängige Schlachttechnik in der Geflügelfleischindustrie dafür, dass vorhandene Mikroorganismen über die gesamte Oberfläche der Tiere verteilt werden. Vor allem durch den Prozessschritt des Rupfens können die Mikroorganismen in tiefere Regionen einmassiert werden. Diesbezüglich sind besonders die Gummifinger der Rupfmaschinen, die Luft- Sprüh- Kühlräume und sonstige Dauer- Feuchtbereiche als kritische Punkte im Schlachtprozess anzusehen (WEISE 2003).

Muskelfasern und Bindegewebe werden bei den folgenden Zerkleinerungsprozessen zerstört, so dass sich die Produktoberfläche zusätzlich vergrößert und Fleischsaft aus den Zellen austreten kann. Zudem sind natürliche strukturelle Barrieren wie Faszien, die eine bakterielle Besiedlung in der Tiefe der Muskulatur behindern, teilweise zerstört oder nicht mehr vorhanden. Dies begünstigt eine weitere Besiedlung und Vermehrung von pathogenen und verderbniserregenden Mikroorganismen (SCHALCH et al. 1996).

## **2.1.8 Einflussfaktoren auf die mikrobiologische Fleischqualität**

### **2.1.8.1 Temperatureinflüsse**

Als wichtigster Einzelfaktor für das Wachstum von Mikroorganismen bei der Lagerung von Frischfleischprodukten wie z.B. MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch ist die Temperatur definiert (JACKSON et al. 1997).

SINELL (1989) und BEM und HECHELMANN (1994) beschreiben die Kühlagerung als ein produktschonendes und hygienisch sicheres Verfahren zur Haltbarmachung von Lebensmitteln bei gleichzeitiger Erhaltung wichtiger lebensmittelspezifischer und

sensorischer Produktparameter, wie z.B. Farbe, Konsistenz, Geschmack und Geruch (ERSCHIG 1984).

Die Herabsetzung der Lagerungstemperatur unter das Temperaturoptimum der mikrobiologischen Keimflora bewirkt eine Verzögerung der Generationszeit der Mikroorganismen und die Verlängerung der lag-Phase. Allerdings wirkt sich dieser Effekt bei den für Geflügelhackfleisch vorgeschriebenen Lagerungstemperaturen vor allem auf mesophile Mikroorganismen im Produkt aus. Die psychrotrophen Vertreter der produkteigenen Mikroorganismen dominieren durch eine Kühlung des Geflügelhackfleisches die Mikroflora des Produktes (JACKSON et al. 1997; REUTER 1999). Die Temperaturansprüche der psychrotrophen Mikroorganismen liegen zwischen -5 °C und +35 °C. Das Optimum befindet sich zwischen +25 °C und +30 °C (FEHLHABER 2004; KRÄMER 2002).

Zu den häufigsten verderbniserregenden Mikroorganismen in diesem Temperaturbereich gehören einige *Lactobacillus* ssp., *Pseudomonas* ssp., *Enterobacteriaceae* und *Brochotrix thermosphacta*. Aber auch humanpathogene Mikroorganismen, wie z.B. *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejunii*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* oder *Clostridium perfringens* können ihren Metabolismus an Kühltemperaturen von +2 °C anpassen (FEHLHABER 2004; KRÄMER 2002).

HARRISON et al. (2000) konnten nachweisen, dass sich die Wachstumsrate von *Listeria monocytogenes* bei +8 °C Kühlung im Gegensatz zur Lagerung bei +4 °C auf 0,06 h<sup>-1</sup> verdoppelte.

FISCHER und HAMMES (1983) konnten mit ihren Versuchen belegen, dass Hackfleischproben aus Rind- und Schweinefleisch durch eine Kühlung bei +2 °C und Verpackung unter modifizierter Atmosphäre (20 - 30 % CO<sub>2</sub> und 70 - 80 % O<sub>2</sub>) am Ende der 12-tägigen Lagerungsdauer eine deutlich geringere Gesamtkeimzahl enthielten als Hackfleischproben, die bei +4 °C unter modifizierter Atmosphäre gelagert wurden. Der Grenzwert von 5\*10<sup>6</sup> KbE/g wurde bei der +2 °C-Lagerung auch nach 12 Lagerungstagen nicht erreicht, wohingegen die Hackfleischproben, die bei +4 °C gelagert wurden, diese Grenze schon am Lagerungstag 8 - 10 überschritten.

### 2.1.8.2 Die Wasseraktivität

Wasser ist die Grundlage aller von Mikroorganismen ausgehenden Stoffwechselaktivitäten und hat einen großen Einfluss auf die Geschwindigkeit des ablaufenden Stoffwechsels. Eine Reduzierung des frei verfügbaren Wassers im Produkt verursacht eine Reduzierung der Stoffwechselaktivität bzw. des Wachstums der Mikroorganismen. In Extremsituationen, d.h., wenn den Mikroorganismen kein freies Wasser zur Verfügung steht, ruht der Stoffwechsel, was dazu führen kann, dass empfindliche Mikroorganismen unter diesen Bedingungen absterben. Innerhalb eines Lebensmittels wird das Wasser von zahlreichen Inhaltsstoffen, wie z.B. Salz, Zucker und Proteinen gebunden. Das gebundene Wasser steht den Mikroorganismen somit für deren Stoffwechselaktivitäten nicht zur Verfügung. Der Anstieg der Konzentration an wasserbindenden Substanzen verläuft proportional zur Absenkung des Wasserdampfpartialdrucks über dem Lebensmittel. Somit steht der Wasserdampfpartialdruck in Korrelation zur Wassermenge, die den Mikroorganismen zur Verfügung steht (KRÄMER 2002).

Das Ausmaß des Wasserdampfpartialdrucks ist somit von der Feuchtigkeit, der Temperatur und der Konzentration an wasserbindenden Stoffen im Medium abhängig (FELLOWS 2000). Die Wasseraktivität (a<sub>w</sub>-Wert) ist ein Maß für das den Mikroorganismen zur Verfügung stehende freie Wasser und kann indirekt als „Gleichgewichtsfeuchte“ gemessen oder aus

dem Gefrierpunkt oder dem osmotischen Druck ermittelt werden (LÜCKE und TRÖGER 2007).

Die Definition für die Wasseraktivität ergibt sich aus dem Verhältnis des Wasserdampfdrucks über dem Lebensmittel ( $p$ ) zum Wasserdampfdruck des reinen Wassers ( $p_0$ ) bei gleicher Temperatur. Die Definition des  $a_w$ -Wertes basiert auf einem Gleichgewicht zwischen dem Wasserdampfpartialdruck über dem Lebensmittel und dem Wasserdampfpartialdruck des reinen Wassers (ROOS 2007).

### 2.1.8.3 Einfluss des $a_w$ -Wertes auf das Wachstum von Mikroorganismen

Die Wachstumsansprüche von Mikroorganismen bezüglich des frei verfügbaren Wassers sind sehr unterschiedlich. Die überwiegende Zahl der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze beansprucht einen  $a_w$ -Wert-Bereich von 0,91 bis 0,99 zur optimalen Vermehrung. Bei der Vermehrung der gramnegativen Bakterien beschränkt sich der Bereich auf einen  $a_w$ -Wert von oberhalb 0,95. Bei grampositiven Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen sind die unteren Wachstumsgrenzen im allgemeinen mit 0,90, 0,85 bzw. 0,80 deutlich geringer als die der gramnegativen Bakterien (HEESCHEN 2005 III).

Noch geringere  $a_w$ -Werte von  $\leq 0,60$  werden von adaptierten Mikroorganismen toleriert, wie z.B. den xerotoleranten, osmotoleranten oder halotoleranten Mikroorganismen. Die Adaptierung an niedrige  $a_w$ -Werte bestimmter Halobakterien und zahlreicher Hefen ist an ein obligates Bedürfnis für hohe Salz- und Zuckerkonzentrationen gebunden. Die Wachstums- und Überlebensfähigkeit dieser Mikroorganismen beruht auf der intrazellulären Akkumulierung von osmotisch aktiven Substanzen, die Wasser in der Zelle binden und dadurch die Enzymaktivität aufrecht erhalten (KRÄMER 2002).

Eine Reduzierung des  $a_w$ -Werts kann die Vermehrung einiger Mikroorganismen zwar unterdrücken, es besteht jedoch die Möglichkeit dass gerade bei niedrigen  $a_w$ -Werten bestimmte Keime lebens- und vermehrungsfähig bleiben. Sporenbildende Bakterien werden durch die Reduzierung der Wasseraktivität zur Sporulation angeregt. Die Hitzeresistenz der Mikroorganismen wird durch die temperaturabhängige Wasseraktivität des Substrates ebenfalls beeinflusst. Die minimale Wasseraktivität, welche die Mikroorganismen zum Wachstum oder zur Toxinbildung benötigen, wird im Wesentlichen von Milieufaktoren, wie dem pH-Wert, beeinflusst. Der minimale  $a_w$ -Wert für *Clostridium botulinum* Typ E liegt z.B. im Neutralbereich bei 0,95. Bei einem pH-Wert von 5,5 steigt dieser auf 0,98 und bei einem pH-Wert von 5,0 sogar auf 0,997 an (KRÄMER 2002).

### 2.1.8.4 Wasseraktivität in Geflügelfleisch

Schlachtfrisches Geflügelfleisch besitzt einen  $a_w$ -Wert von  $\geq 0,99$  und stellt somit für die Vermehrung von Mikroorganismen ein ideales Substrat dar. Bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen aus Geflügelfleisch erfolgt die Absenkung der Wasseraktivität meist durch die Zugabe von Salz. Bei Roh- und Brüh-Dauerwürsten erfolgt zusätzlich eine Trocknung. Die Entwicklung einer gramnegativen streng aeroben Verderbsflora kann relativ leicht durch die Absenkung des  $a_w$ -Werts auf  $\leq 0,96$  verhindert werden. Zur Hemmung der meisten pathogenen Mikroorganismen ist jedoch eine Absenkung auf  $\leq 0,95$  erforderlich. Dieser Wert wird jedoch bei der Herstellung von Geflügelfleischerzeugnissen selten unterschritten (LÜCKE und TROEGER 2007).

Daher erfolgt eine Einteilung in leicht verderbliche, mittelgradig verderbliche und kaum verderbliche Lebensmittel. Als leicht verderblich gelten Lebensmittel mit einem  $a_w$ -Wert  $\geq 0,95$ , dazu gehören u.a. frisches Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch einschließlich der

daraus hergestellten Hackfleischsortimente, sowie Fisch, Eier und gegarte Pökelwaren. Mittelgradig verderbliche Lebensmittel besitzen einen  $a_w$ -Wert zwischen 0,95 und 0,91, wie z.B. Rohwürste oder gepökelte Rohware. Kaum verderblich sind Lebensmittel mit einem  $a_w$ -Wert von  $\leq 0,90$ . Dazu zählen getrocknete Rohwürste (Salami), gereifter Hartkäse und getrocknete Produkte (KRÄMER 2002).

Bei der Kühlung von unverpacktem Geflügelfleisch während des Verarbeitungsprozesses wird meistens ein Kompromiss zwischen der mikrobiologisch begründeten Forderung nach trockenen Oberflächen und dem Bestreben, Austrocknung und Gewichtsverluste zu minimieren, eingegangen. In jedem Fall muss jedoch das Kondensieren von Wasserdampf auf der Fleischoberfläche vermieden werden. Bei der Zerlegung, Verarbeitung sowie bei Transport und Lagerung von gekühltem Schlachtgeflügel in Umgebungen mit höheren Temperaturen und hoher Luftfeuchtigkeit kann sich jedoch schnell Kondenswasser auf der Fleischoberfläche bilden, welches ein zusätzliches Wasserreservoir für anhaftende Mikroorganismen darstellt (LÜCKE und TROEGER 2007).

### 2.1.8.5 Einfluss des pH-Wertes auf das Wachstum von Mikroorganismen

Eine Vielzahl von Mikroorganismen ist in der Lage, sich innerhalb weiter pH-Bereiche zu vermehren. Die überwiegende Zahl der Verderbnis auslösenden Mikroorganismen besitzt ihr pH-Wert-Optimum im Bereich des Neutralpunktes (HEESCHEN 2005, III).

Hefen und Schimmelpilze bilden diesbezüglich eine Ausnahme, da ihr Wachstumsoptimum im Bereich von ca. 5,0 und somit deutlich im sauren Bereich liegt. Das pH-Wert-Minimum liegt bei den meisten verderbniserregenden Bakterien, wie z.B. vielen *Enterobacteriaceae* und *Bacillus*-ssp., bei 4,4 bis 4,5. Zu den säureempfindlichen pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln sind *Clostridium botulinum* und *Listeria monocytogenes* zu zählen, die ein pH-Wert-Minimum von 4,5 beanspruchen. Deutlich säuretolanter sind dagegen Stämme von *Salmonella thyphi* und *Staphylococcus aureus*, deren untere Wachstumsgrenze bei pH-Werten von ca. 3,0 liegt. Hefen und Schimmelpilze sind im allgemeinen deutlich säuretolanter als Bakterien, sie sind auch in stark sauren Lebensmitteln wachstums- und vermehrungsfähig. Die untere Toleranzgrenze von *Saccharomyces cerevisiae* liegt bspw. bei einem pH-Wert von 2,3. Noch säuretolanter sind einige Schimmelpilzarten, wie z.B. *Aspergillus oryzae* mit einem pH-Wert-Minimum von 1,6 (KRÄMER 2002).

Die keimhemmende Wirkung des pH-Wertes bezieht sich jedoch nicht nur auf den sauren Bereich, sondern lässt sich auch in alkalischen Bereichen beobachten. Bei pH-Werten von oberhalb 8,0, wie sie z.B. im Eiklar vorliegen, sind die Vermehrungsmöglichkeiten von zahlreichen Mikroorganismen deutlich eingeschränkt (KRÄMER 2002).

Die durch Säuren oder Fermentationsprozesse bedingten pH-Wert-Reduzierungen in Lebensmitteln sind von der Pufferkapazität des jeweiligen Lebensmittels abhängig. In proteinreichen Lebensmitteln wie z.B. Fleisch oder Fisch ist das Ausmaß der Reduzierung aufgrund der hohen Pufferkapazität vergleichsweise gering. In proteinarmen Lebensmitteln wie z.B. Obst- und Gemüseerzeugnissen kommt es dagegen, aufgrund der geringeren Pufferkapazität, zu einer stärkeren Reduzierung des pH-Wertes (HEESCHEN 2005, III).

### 2.1.8.6 Die Entwicklung des pH-Wertes bei der Fleischreifung

Der pH-Wert von Geflügelfleisch beträgt im lebenden Tier ca. 7,2. Die postmortale Unterbrechung der Sauerstoffzufuhr bewirkt eine anaerob verlaufende Glykolyse im Muskel. Die metabolisierten Laktate bewirken, in Abhängigkeit von der Tierart und der Fleischbeschaffenheit, eine Senkung des pH-Wertes im Muskel. In Geflügelfleisch reduziert

sich der pH-Wert bei Einhaltung der vorgeschriebenen Lager- und Kühlbedingungen aufgrund des geringen Myoglobingehaltes ca. 2 – 4 Stunden post-mortem nur auf Werte von maximal 6,0. Im Vergleich dazu sinken die pH-Werte von Rindfleisch innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Schlachten auf Werte von ca. 5,8 bis 5,3 ab. Mit abnehmendem pH-Wert verringert sich das Wasserbindungsvermögen des Fleisches. Die Muskulatur verliert durch die Verknüpfung der Actin- und Myosinfilamente ihre Dehnbarkeit und geht in den Zustand des „Rigor mortis“ über (KRÄMER 2002).

Der pH-Wert des Geflügelfleisches beeinflusst nicht nur die spätere Farbe und das Wasserbindungsvermögen, sondern auch den Geschmack, die Zartheit und die Haltbarkeit. Ein niedriger pH-Wert hat zwei wesentliche Effekte auf die Fleischqualität. Zum einen verhindern bzw. hemmen geringere pH-Werte kurzfristig das Wachstum von Mikroorganismen, zum anderen wirkt sich ein niedriger pH-Wert während der Fleischreifung positiv auf die Zartheit aus (HONIKEL 2004).

#### **2.1.8.7 Beeinflussung des pH-Wertes**

Mit Hilfe verschiedenster Haltbarmachungsverfahren kann in der Lebensmitteltechnologie der pH-Wert eines Lebensmittels beeinflusst werden. Die Anwendung von mikrobiologischen Verfahren erfolgt in zahlreichen technologischen Disziplinen wie z.B. bei der Fermentation von Käseprodukten und Rohwurst. Chemische Verfahren wie z.B. die Zugabe von Konservierungsstoffen in Form von Säuren führen ebenfalls zu einer pH-Wert-Reduzierung im Lebensmittel und damit zu einer Haltbarkeitsverlängerung (KRÄMER 2002).

Bei der Fleischverarbeitung kann der pH-Wert der Produkte durch den Zusatz von Genusssäuren und/oder durch mikrobielle Säuerung gesenkt werden. Davon wird bei der Herstellung von Rohwurst und Sülzen Gebrauch gemacht. Bei anderen Fleischerzeugnissen sind einer Konservierung durch Säuerung durch den daraus resultierenden sauren Geschmack sowie durch den Gelee- bzw. Fettabsatz im Produkt enge Grenzen gesetzt (LÜCKE und TROEGER 2007).

#### **2.1.8.8 Einfluss der Verpackung**

Für die längere Haltbarkeit von gekühlt gelagertem Frischfleisch im SB-Sektor bei Temperaturen von 0 °C - +4 °C, wie z.B. MAP-verpacktem Geflügelfleisch, sind Verbundpackungen mit niedriger Gasdurchlässigkeit erforderlich. Sowohl bei Vakuum- als auch Schutzgasverpackungen kann dadurch die Erhaltung eines niedrigen Redoxpotenzials während der gesamten Lagerzeit gewährleistet werden. Dabei müssen aber teilweise nachteilige Wirkungen auf die Fleischfarbe und Gewichtsverluste durch Abscheidungen von Muskelflüssigkeit in Kauf genommen werden. Die meisten der Lebensmittel verderbenden Bakterien gelten als aerobe Oberflächenverderber (WEISE 1996).

Für vakuumverpacktes Rindfleisch von guter hygienischer Qualität und einem pH-Wert von 5,7 lässt sich durch eine Kühlung bei 0 °C - +1 °C eine mehrwöchige Haltbarkeit erwarten, wobei zum Ende der Haltbarkeit säuerliche und (bedingt durch kurzkettige Fettsäuren) ranzig-käseartige Geruchsabweichungen bei Gesamtkeimzahlen um  $10^7$  bis  $10^8/\text{cm}^2$  wahrnehmbar werden (KOUTSOUMANIS et al. 1998; WEISE 1996).

Es existieren aber auch zahlreiche Bakterien ssp., bei deren Wachstum nicht zwangsläufig ein bestimmter Sauerstoffpartialdruck erforderlich ist. Bei geringen Sauerstoffpartialdrücken, d.h. unter mikroaerophilen Bedingungen, vermehren sich z.B. Laktobazillen, die in der Lage sind, Milchsäure zu bilden. Die dadurch resultierende pH-Wert-Absenkung kann das Wachstum unerwünschter pathogener Mikroorganismen hemmen. Die positive

Schutzfunktion ist jedoch nur von Nutzen, wenn sich die Milchsäurebildung in einem geschmacklich tolerierbaren Rahmen bewegt und das Lebensmittel nicht negativ beeinflusst. Bei absolutem Sauerstoffentzug wachsen anaerobe Bakterien, zu denen auch humanpathogene Toxinbildner, wie z.B. *Clostridium botulinum* gehören (BUCHNER 1999). Zur Vermeidung von Farbabweichungen und zur Minimierung von Saftaustritten und Risiken für den Verbraucher wird portioniertes Geflügelfleisch jedoch öfter unter modifizierten Atmosphären als in Vakuumpackungen angeboten.

## 2.2 MAP-Verpackung von frischem Geflügelfleisch

Mit der Anwendung von modifizierten Atmosphären im Rahmen der Verpackung und Lagerung verändert sich die Mikroflora von Geflügelfleisch und daraus hergestellten Frischfleischerzeugnissen (NYCHAS et al. 2005).

Das modified atmosphere packaging (MAP) - auch als Verpacken unter Schutzgasatmosphäre bezeichnet - wird zur Verpackung von leicht verderblichen Lebensmitteln angewendet die, wie z.B. bei Produkten aus Schlachtgeflügel, durch mikrobielle Kontamination besonders anfällig für frühzeitigen Verderb sind. Die modifizierte Atmosphärenverpackung wird definiert als die Umhüllung von Lebensmitteln mit gasbegrenzenden Verpackungen, in denen die natürliche Gasumgebung verändert wurde (YOUNG et al. 1988).

Die veränderte bzw. modifizierte Atmosphäre in der Verpackung trägt auch zur Hemmung pathogener Mikroorganismen bei (TOTOSAUS et al. 2007).

Bei der aeroben Lagerung von Geflügelfleisch, aber auch bei den für Hackfleisch handelsüblichen Kohlendioxid-Sauerstoff-Gemischen, sind vor allem psychrotrophe *Pseudomonas* ssp. die dominierende Keimspezies. Sie sind auch, neben anderen Lipolyten wie *Aeromonas* ssp. und *Enterobacteriaceae*, für den lipolytischen Abbau der Fette im Geflügelfleisch verantwortlich (ABD EL-RHMAN et al 1998; HEESCHEN 1999).

Bei einer anaeroben Lagerung von Geflügelfleisch unter Vakuum oder unter Kohlendioxid-Stickstoff-Gemischen dominieren hingegen Milchsäurebakterien die Produktflora, insbesondere *Lactobacillus curvatus* und *Lactobacillus sakei*, zudem werden häufig *Brochotrix thermosphacta*, Pediokokken ssp. und Enterokokken ssp. in den Produkten nachgewiesen (REUTER 1999; NYCHAS u. DROSINOS 2000).

KAKOURI und NYCHAS (1994) lagerten Hühnerkeulen und Hähnchenbrustfilets über 13 Tage bei +3 °C und +10 °C in Vakuumpackungen und Verpackungen in unterschiedlichen modifizierten Atmosphären, um Unterschiede im Wachstum der Mikroflora festzustellen. Bei Vakuumpackungen und Verpackung mit 100 %iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre dominierten Laktobazillen die produkteigene Flora. Bei den Vakuumpackungen war am Ende der Lagerungszeit ein 100-facher Anstieg der *Pseudomonas* ssp. zu verzeichnen, wobei das Wachstum der *Pseudomonas* ssp. bei den bei +10 °C gelagerten Proben am größten war.

*Pseudomonas* ssp. reagieren bei niedrigen Temperaturen empfindlich gegenüber CO<sub>2</sub>. *B. thermosphacta* erreicht allerdings ebenfalls bei normalen pH-Werten, aufgrund seiner Resistenz gegenüber CO<sub>2</sub>, hohe Keimdichten und trägt maßgeblich zum Verderb dieser Produkte bei (LÜCKE und TRÖGER 2007).

Die säuerlichen und ranzigen Geruchs- und Geschmacksabweichungen der Produkte am Ende der Lagerung entstehen durch Stoffwechselprodukte wie z.B. Diacetyl, Aceton oder Alkohol, die von Milchsäurebakterien oder von *B. thermosphacta* gebildet werden (NYCHAS et al. 1998).

Die Wachstumshemmung von *Listeria* ssp. kann jedoch nicht ausschließlich auf die Modifikation der Atmosphäre zurückgeführt werden. Die Hemmung wird zusätzlich durch

weitere Faktoren, wie die Temperatur, den pH-Wert und eine produktinterne Konkurrenzflora beeinträchtigt.

Nach NYCHAS et al. (1998) können bei der Lagerung von Frischfleischprodukten bezüglich der Hemmung von *L. monocytogenes* durch aerobe bzw. anaerobe Lagerungsatmosphären keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (NYCHAS et al. 1998).

### 2.2.1.1 Vor- und Nachteile der MAP-Technologie

Der Einsatz von MAP-Technologie dient zwar in erster Linie zur Haltbarkeitsverlängerung von Lebensmitteln, es entstehen jedoch viele weitere Vorteile bezüglich der Herstellung und Vermarktung von Frischfleischprodukten, wie z.B. von frischem Geflügelfleisch. Die verlängerte Haltbarkeit ermöglicht eine längere Verkaufsphase bevor erste Qualitätsabweichungen auftreten. Darüber hinaus werden neue Angebots- und Vermarktungsformen geschaffen, wie z.B. der SB-Sektor in den Frischfleisch-Theken der Supermarktfilialen. Dies schafft wirtschaftliche und logistische Vorteile für Produzenten, Distributoren und Verbraucher (FELLOWS 2000).

Die Haltbarkeit von Frischfleischprodukten, die unter Schutzatmosphäre verpackt worden sind, ist von zahlreichen Faktoren abhängig. Zum einen beeinflussen die Zusammensetzung des verwendeten Schutzgases, die Lagerungstemperatur und die mikrobiologische Belastung des Ausgangsmaterials, d.h. des Schlachtkörpers, die Haltbarkeit des fertigen Produktes. Zum anderen beeinflussen das Volumen des Gasraumes über dem Produkt und das Verpackungsmaterial die Haltbarkeit (TOTOSAUS et al. 2007).

**Tabelle 2: Vor- und Nachteile der MAP-Verpackungstechnologie (nach DAVIS et al. 1995; FELLOWS 2000)**

	Vorteile	Nachteile
<b>Verpackungsaspekte</b>	Zentralisiertes Verpackungssystem  Gute Sichtbarkeit des Produktes in der Verpackung	Erhöhtes Verpackungsvolumen Erhöhte Transportkosten Vorteile gehen bei Beschädigung der Verpackung jedoch verloren
<b>Produktqualität und -sicherheit</b>	Hohe Produktqualität Haltbarkeitsverlängerung um 50-400 % Herstellung variabler Darreichungs- und Präsentationsformen	Einige Aspekte der Produktsicherheit sind nicht abschließend geklärt
<b>Wirtschaftliche Aspekte</b>	Geringere wirtschaftliche Verluste sowie vergrößerte Distributionsradien	Zusätzliche Kosten Einsatz spezieller Maschinen sowie geschulten Personals erforderlich
<b>Spezielle Aspekte</b>	Einsatz chemischer Konservierungsstoffe kann reduziert werden	Notwendigkeit von Temperaturkontrollen Unterschiedliche Gasgemische für die einzelnen Erzeugnisse

### 2.2.1.2 Gasatmosphären in der Verpackung

Die Gasatmosphäre in der Verpackung ist nicht bei allen Produkten konstant, sondern unterliegt mit fortschreitender Lagerung bestimmten Veränderungen. Die Ausprägung der Veränderungen, die wiederum die Länge der Haltbarkeit beeinflussen, ist von der Gasdurchlässigkeit des Verpackungsmaterials, von der mikrobiologischen Aktivität des Produktes und von der Zellatmung im Produkt abhängig. Der Einsatz modifizierter Atmosphären bei Fleisch- und Fleischerzeugnissen setzt eine geringe mikrobiologische Belastung des Ausgangsmaterials sowie eine strikte Temperaturkontrolle im gesamten

---

Verpackungsprozess voraus. Die überwiegend beim Einsatz von modifizierten Atmosphären eingesetzten Gase sind Sauerstoff (O<sub>2</sub>), Stickstoff (N<sub>2</sub>) und Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>). Das Verpacken unter Vakuum wird ebenfalls zu den MAP-Verfahren gezählt (WALSH 2002).

### **2.2.1.3 Sauerstoff**

Der Einsatz von Sauerstoff dient unter anderem der Erhaltung der roten Fleischfarbe durch das entstehende Oximyoglobin im Rohprodukt (HOOD u. RIORDAN 1973; SØRHEIM et al. 1999).

Der Oxidationszustand des Myoglobins im Fleisch ist vom Sauerstoffpartialdruck (bar) abhängig, der an der Oberfläche des Fleisches vorherrscht.

Nach SØRHEIM et al. (1996) wird eine verbesserte Farbstabilität von Frischfleisch durch die Anwendung von modifizierten Atmosphären mit einem Sauerstoffgehalt von mindestens 60 Vol.-% gewährleistet. Die Autoren berichten, dass in Westeuropa bis zu 40 % des Rotfleischangebotes in solch angereicherten Sauerstoffatmosphären angeboten werden. Der Einfluss des Sauerstoffs auf verschiedene Produkteigenschaften sowie das mikrobielle Wachstum hängt vor allem von seiner Konzentration ab. Die Beeinflussung des Wachstums von Mikroorganismen unterliegt starken Schwankungen. Die Effekte sind vor allem von den Stoffwechseleigenschaften der produkteigenen Mikroflora abhängig. So können z.B. strikt anaerobe Bakterien durch die Anwesenheit von Sauerstoff gehemmt werden. Bei mikroaerophilen und aeroben Mikroorganismen verändern sich die Wachstumseigenschaften in Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration im Kopfraum der Verpackung (FARBER 1990).

### **2.2.1.4 Stickstoff**

Stickstoff ist chemisch inert sowie geschmacks- und geruchsneutral, mit einer sehr geringen Löslichkeit in beiden Phasen, d.h. in Fett und Wasser. Dadurch kann durch hohe Stickstoffanteile in der Atmosphäre der Verpackung ein Kollabieren der Packungen entgegengewirkt werden. Stickstoff wird in modifizierten Atmosphären als Füll- und Stützgas verwendet, um oxidative Prozesse im Produkt zu hemmen (INNS 1987).

Stickstoff hat keinen direkten Einfluss auf das mikrobielle Wachstum in Lebensmitteln (CHURCH u. PARSONS 1995).

Der indirekte Effekt des Pseudovakuums wird im Austausch von Sauerstoff zugunsten des Stickstoffs in der Verpackung gesehen. Durch das Fehlen von Sauerstoff wird das Wachstum von aeroben Mikroorganismen gehemmt und die Haltbarkeit eines Lebensmittels verlängert.

Dennoch liegen widersprüchliche Literaturdaten zu einem möglichen haltbarkeitsverlängernden Einfluss von Stickstoff vor. Ein Grund für diese Unterschiede könnte laut THIPPAREDDI und PHEBUS (2003) in unterschiedlichen Restsauerstoffgehalten der untersuchten Verpackungen liegen. Bezüglich der tolerierbaren Restsauerstoffkonzentrationen in den Atmosphären auf Stickstoff-Basis liegen keine einheitlichen Untersuchungsergebnisse vor (CHURCH u. PARSONS 1995).

### **2.2.1.5 Kohlendioxid**

Die Verwendung von Kohlendioxid zur Lagerung von Frischfleisch wird schon seit über 100 Jahren praktiziert, da sich Kohlendioxid zur Erzielung bakterizider Effekte sehr gut bewährt hat. In Westeuropa findet dieses Verfahren seit den 70-er Jahren für Handelsfleisch Anwendung (WALSH 2002).

Kohlendioxid ist in beiden Phasen eines Lebensmittels löslich, die Löslichkeit ist jedoch in kaltem Wasser im Vergleich zu warmem Wasser deutlich erhöht (FELLOWS 2000).

Deshalb sollte der Einsatz in MAP-Verpackungen mit einer Kaltlagerung der Produkte gekoppelt sein, da mit der Löslichkeit der bakterizide Effekt zunimmt. Die Löslichkeit des Gases ist des Weiteren abhängig vom pH-Wert, dem  $a_w$ -Wert, dem Fettgehalt und der Fettzusammensetzung des Lebensmittels, sowie von der  $\text{CO}_2$ -Konzentration in der Verpackung und dem Verhältnis von Gas- und Produktvolumen (GILL 1988).

Die bakteriziden Effekte von Kohlendioxid sind demnach bei kühl gelagerten Produkten mit sehr feuchten Oberflächen, wie z.B. SB-verpacktem Frischfleisch stärker ausgeprägt, als beispielsweise bei MAP-verpackter Rohwurst. Der Einfluss und Wirkungsmechanismus von Kohlendioxid auf den Metabolismus von Mikroorganismen ist im Detail noch unklar (DANIELS et al. 1985; DAY 2000; DIXON u. KELL 1989).

Einige grundsätzliche Wirkungen können dennoch beschrieben werden. Der Verderb, der in einem inversen Zusammenhang mit dem Wachstum der Mikroflora steht, verzögert sich aufgrund der mit  $\text{CO}_2$  angereicherten Atmosphäre im Vergleich zu aeroben Bedingungen (STANBRIDGE und DAVIS 1998). Zum einen kommt es durch die Löslichkeit des Gases im Lebensmittel zu einer pH-Wert-Absenkung im Lebensmittel, zum anderen erfolgt eine Penetration des  $\text{CO}_2$  durch die bakteriellen Zellwände, die ebenfalls zu einer pH-Wert-Senkung intrazellulär führt und die Enzymaktivität einschränken kann (EKLUND u. JARMUND 1983; FARBER 1990; DEVLIEGHERE et al. 2000).

Ein weiterer inhibitorischer Effekt des Kohlendioxids wird in einer Beeinflussung der Membraneigenschaften des Bakteriums gesehen (DANIELS et al. 1985; DIXON u. KELL 1989). Die Autoren vermuten hierbei eine Interaktion des Kohlendioxids mit Zellmembranlipiden, wodurch die Möglichkeit der Aufnahme von Ionen in die Zelle behindert wird. Die Verpackung eines Lebensmittels unter Verwendung von Kohlendioxid reduziert jedoch nach Ansicht von DEVLIEGHERE et al. (2000) den pH-Wert des Lebensmittels um maximal 0,3 Einheiten.

Die Empfindlichkeit gegenüber Kohlendioxid ist bei den verschiedenen Mikroorganismen sehr unterschiedlich ausgeprägt. Hefen und Schimmelpilze sind gegenüber Kohlendioxid recht widerstandsfähig, so dass zu deren Hemmung erhebliche Konzentrationen von  $\geq 20\%$  erforderlich sind. Laktobazillen sind ebenfalls recht unempfindlich gegenüber Kohlendioxid. Sie sind in der Lage, unter kohlendioxidreicher Atmosphäre Milchsäure zu bilden. Sehr empfindlich gegenüber Kohlendioxid sind hingegen die gramnegativen psychrophilen Bakterienarten (BUCHNER 1999).

Im Rotfleischbereich sind bei der Verpackung von frischen Produkten Konzentrationen bis zu 40 Vol.-% Kohlendioxid üblich. Werden höhere Konzentrationen eingesetzt, kann dies zu einer zu starken Ansäuerung des Fleisches und zur Vergrauung der Fleischfarbe führen (CHURCH 1995).

DEVLIEGHERE et al. (2003) berichten weiterhin, dass es bei sehr hohen Konzentrationen an Kohlendioxid in der Schutzatmosphäre zu einem erhöhten Tropfsaftverlust des Lebensmittels kommen kann. Sie begründen dieses Phänomen mit einer durch die pH-Wert-Senkung einhergehenden verringerten Wasserbindungskapazität der Proteine.

#### **2.2.1.6 Kohlenmonoxid**

Die Verwendung von Kohlenmonoxid als Schutzgas ist in der EU und den USA nicht zulässig, da dieses Gas vor allem durch seine toxischen Eigenschaften charakterisiert ist. Im europäischen Raum wird dieses Gas lediglich in Norwegen mit Konzentrationen von 0,3 bis 0,4 % bei der industriellen Verpackung von Fleisch eingesetzt (WALSH et al. 2002).

---

### 2.2.1.7 Gasgemische

Die Verwendung von Gasgemischen erfordert eine exakte Dosierung, da einerseits ein erhöhter Stickstoffanteil bei unzureichender Kohlendioxidzufuhr die Haltbarkeit verringern würde. Andererseits führt ein zu hoher Kohlendioxidanteil zu einer Säurebildung auf dem Produkt, da das Kohlendioxid auf der Fleischoberfläche unter Bildung von Carbonsäuren ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ ) mit Wasser reagiert (FEINER 2006).

Der Einsatz weiterer Gase, wie z.B. Kohlenmonoxid (CO), Stickstoffmonoxid (NO), Argon (Ar), Helium (He), Chlor (Cl) ist in zahlreichen Versuchen erforscht worden. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die Produktsicherheit nicht gewährleistet ist und die negativen Einflüsse auf die Produktqualität, wie z.B. die Farbe nicht tolerierbar sind (FELLOWS 2000).

Die effektivste mikrobiologische Haltbarkeitsverlängerung wäre mit einer Schutzbegasung aus reinem Kohlendioxid zu erzielen. Da jedoch niedrige Sauerstoffpartialdrücke eine ungewünschte Verfärbung infolge Metmyoglobinbildung hervorrufen und eine absolut sauerstofffreie Schutzgaspackung in der Praxis nicht möglich ist, werden Schutzgasverpackungen im Rot- und Weißfleischbereich heute im allgemeinen mit einem Anteil von ca. 60-80 % Sauerstoff und 20-40 % Kohlendioxid zur Vermeidung von Farbveränderungen eingesetzt (WEBER 1996).

Allerdings sind nach JAY (1992) und FABER (1990) verschiedene Aspekte zur Produktsicherheit noch nicht abschließend geklärt. So könne z.B. die Erhöhung der Lagerungszeit infolge der verbesserten mikrobiologischen Stabilität der Produkte bewirken, dass sich für potenziell pathogene Mikroorganismen im Produkt ein Selektionsvorteil ergeben kann (FEINER 2006).

In Tabelle 3 sind nochmals alle beschriebenen Gaskomponenten mit den dazugehörigen Eigenschaften tabellarisch beschrieben.

**Tabelle 3: Konzentrationen, technologische Bedeutung und Nachteile einzelner Gaskomponenten beim MAP-Verfahren (Nach WALSH et al. 2002; STANBRIDGE et al. 1998)**

Gaskomponente	Konzentration	Technologische Bedeutung	Nachteile
O <sub>2</sub>	60 bis 80 %	Stabilisierung der roten Fleischfarbe (Bildung von Oximyoglobin)  Vermeidung des Wachstums anaerober Keime	Beschleunigung von enzymatischer Lipidoxidation  In mittleren Konzentrationen verstärktes Wachstum von aeroben Keimen
CO <sub>2</sub>	20 bis 30 %	Hemmung des Wachstums von aeroben, insbes. gramneg., Keimen	Senkung des Wasserbindungsvermögens des Fleisches  Zusammenbruch der Verpackung  Farb- und Aromaveränderungen
N <sub>2</sub>	Bis zu 20 %	Füllgas anstelle von O <sub>2</sub>  Verlangsamung von oxidativen Prozessen und aerobem Verderb	Keine Angabe
CO	0,3 bis 0,4 % (Norwegen)	Stabilisierung einer kirschroten Fleischfarbe	Toxizität aufgrund der Bildung von Carboxihämoglobin  Bei gegartem Fleisch partiell verbleibende rosa Fleischfarbe
SO <sub>2</sub>	Keine Angabe	Hemmung des Wachstums von Keimen im sauren Milieu, bes. bei verarbeiteten Fleischprodukten	Mögliche Überempfindlichkeitsreaktionen bei Kontakt mit Schwefelverbindungen
O <sub>3</sub>	Keine Angabe	Hemmung des Wachstums, meist grampos. Bakterien  Verlangsamung der mikrobiellen Schleimbildung auf der Fleischoberfläche	Relativ uneffektiv bei Bakterien in komplexen Medien  Farbveränderungen  Beschleunigte Ranzigkeit
Ar	Keine Angabe	Vermutlich antimikrobielle Wirkung	Keine Angabe

## 2.3 Geflügelhackfleisch

### 2.3.1 Rechtliche Grundlagen

Im Bereich des Lebensmittelhygienerechts hat die Europäische Union (EU) durch die Verabschiedung von EU-Verordnungen damit begonnen, EU Richtlinien (EU-RL) aufzuheben und durch direkt-geltendes Recht zu ersetzen. Dadurch werden auch nationale Hygienevorschriften und Gesetzgebungen außer Kraft gesetzt. Für den Bereich der Lebensmittelhygiene wurde ein Hygienepaket von vier Verordnungen verabschiedet. Es handelt sich dabei nach REICHE (2003) um die VO (EG) Nr. 852/2004 („Verordnung über Lebensmittelhygiene“), die VO (EG) Nr. 853/2004 („Verordnung mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs“), die VO (EG) Nr. 854/2004 („Verordnung mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs“), sowie die VO (EG) Nr. 882/2004 („Verordnung über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts“).

Laut gültiger Verordnung (EG) Nr. 853/2004 vom 28.04.2004 (gültig seit 01. Januar 2006) mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs wird der Begriff Hackfleisch definiert als: entbeintes und entsehntes frisches Fleisch der Skelettmuskulatur

---

mit anhaftendem Fettgewebe, das durch Hacken bzw. Fäschieren zerkleinert wurde und weniger als 1 % Salz enthält. Zur Herstellung von Hackfleisch dürfen darüberhinaus keine der folgend aufgeführten Rohstoffe verwendet werden: Fleischabschnitte, Separatorenfleisch, Fleisch mit Knochensplittern oder Hautresten, Kopffleisch, Fleisch mit sehnigem Anteil der Linea alba, Hand- u. Fußwurzelbereich, Knochenputz sowie Zwerchfell-Muskulatur mit serösen Häuten. Zur Herstellung von Hackfleisch darf grundsätzlich nur frisches Fleisch im Sinne der Verordnung verwendet werden. Im Falle von Geflügelfleisch darf dieses bis max. 3 Tage nach der Schlachtung zu Hackfleisch verarbeitet werden. Hierbei sind die vorgeschriebenen Prozessbedingungen einzuhalten. Unmittelbar nach der Herstellung ist das Hackfleisch zu verpacken und auf eine Kerntemperatur von max. +2 °C zu kühlen. Bei Fleischzubereitungen im Sinne der Verordnung sind max. +4 °C Kerntemperatur zulässig. Alternativ dürfen sowohl Hackfleisch als auch Fleischzubereitungen nach der Herstellung auf -18 °C Kerntemperatur tiefgefroren werden (EUROPÄISCHES PARLAMENT 2004).

Im Rahmen des neuen EU-Lebensmittelrechts entfallen mit dem Inkrafttreten der VO (EG) 853/2004 die bisherige Fleischhygieneverordnung und die Hackfleischverordnung. Der Anhang der VO (EG) Nr. 853/2004 enthält detaillierte Hygienevorschriften der Herstellungsbedingungen für die fleischverarbeitenden Betriebe, die dem bisher geltenden Spezialrecht für die einzelnen Bereiche entsprechen.

Mikrobiologische Kriterien für das Produkt Hackfleisch sind in der VO (EG) Nr. 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel festgelegt. Für jedes mikrobiologische Kriterium nach dieser Verordnung müssen beim Nachweis eines bestimmten Erregers in einem Lebensmittel über den Zahlenwert hinaus noch weitere Informationen verfügbar sein. Unter anderem sind dies Angaben über die einzusetzenden Analyseverfahren einschließlich deren Messungengenauigkeit, die Stufe in der Lebensmittelkette, auf die sich das Kriterium bezieht, sowie Maßnahmen, die zu treffen sind, wenn das Kriterium nicht erfüllt wird (HEESCHEN 2006).

Im Sinne dieser Verordnung ist der Begriff Prozesshygienekriterium ein Kriterium, das die akzeptable Funktionsweise des Herstellungsprozesses angibt. Für im Handel befindliche Erzeugnisse gilt dieses Kriterium nicht. Vielmehr sollen hierüber Richtwerte für die Kontamination festgelegt werden, bei deren Überschreitung Korrekturmaßnahmen notwendig sind. Ein Lebensmittelsicherheitskriterium ist im Gegensatz dazu ein Kriterium, mit dem die Akzeptabilität eines Erzeugnisses oder einer Partie des Lebensmittels festgelegt wird. Dieses gilt für im Handel befindliche Erzeugnisse. Tabelle 4 zeigt die mikrobiologischen Kriterien nach der VO (EG) Nr. 2073/2005 für das Produkt Hackfleisch.

Tabelle 4: Mikrobiologische Kriterien für Hackfleisch gemäß der VO (EG) Nr. 2073/2005

Kriterium	Lebensmittel-kategorie	Mikroorganismen	Probennahmeplan		Grenzwert		Referenz-methode
			n	c	m	M	
Prozess-hygiene	Hackfleisch/ Faschiertes	Aerobe mesophile Keimzahl	5	2	5*10 <sup>5</sup> KbE/g	5*10 <sup>6</sup> KbE/g	ISO 4833
		<i>E. coli</i>	5	2	50 KbE/g	500 KbE/g	ISO 16649
Lebens-mittel-sicherheit	Hackfleisch Bestimmung: Rohverzehr	<i>Salmonella</i>	5	0	Nicht nachweisbar in 25 g		EN ISO 6579
	Hackfleisch Bestimmung: Verzehr nach dem Garen	<i>Salmonella</i>	5	0	Nicht nachweisbar in 10 g		EN ISO 6579

**n = Anzahl der Probeneinheiten der Stichprobe**

**c = Anzahl der Probeneinheiten, deren Werte über m oder zwischen m und M liegen dürfen**

**m = Richtwert**

**M = Grenzwert**

Geflügelhackfleisch durfte in der bis Ende 2005 gültigen Hackfleischverordnung zum Schutz des Verbrauchers aus mikrobiologischen Gründen im Rohzustand nicht an Endverbraucher abgegeben und sollte auch nicht roh verzehrt werden. Die Abgabe von Geflügelhackfleisch wurde jedoch durch die VO (EG) 853/ 2004 neu geregelt.

Demnach dürfen auch Geflügel- und Wildfleischteile zur Herstellung von Hackfleisch verwendet werden, da beide Kategorien als Fleisch bezeichnet werden (EUROPÄISCHES PARLAMENT 2004).

Zur Herstellung von Geflügelhackfleisch darf ausschließlich Skelettmuskulatur mit anhaftendem Fettgewebe verwendet werden

Hackfleisch, Faschiertes und Fleischzubereitungen dürfen im Sinne der Verordnung nach dem Auftauen nicht wieder eingefroren werden. Verpackungen zur Abgabe an den Verbraucher, welche Hackfleisch / Fleischzubereitungen von Geflügel enthalten, müssen den Hinweis tragen: „muss vor dem Verzehr gegart werden“ (EUROPÄISCHES PARLAMENT 2004).

### 2.3.2 Mikroflora von Geflügelhackfleisch

Geflügelhackfleisch zeigt aufgrund des Produktionsprozesses und der Nährstoffzusammensetzung eine mitunter sehr hohe Keimbelastung. Die Gesamtkeimzahl bei belastetem Hackfleisch schwankt meist zwischen 10<sup>5</sup> und 10<sup>7</sup> KbE/g. Bei stark kontaminiertem Hackfleisch kann die Belastung bei bis zu 10<sup>11</sup> KbE/g liegen (BÜLTE 1996). Ein großer Teil der in Geflügelhackfleisch vorkommenden Verderbniserreger aber auch vieler pathogener Mikroorganismen gehört zu der Gruppe der psychrotrophen mesophilen Mikroorganismen (GILL u. NEWTON 1978; REUTER 1990).

#### 2.3.2.1 Einfluss der Lagerungstemperatur auf die mikrobielle Qualität

Mesophile Bakterien sind dadurch charakterisiert, dass sie zwar ein Temperaturoptimum von +20 – +30 °C aufweisen, sich aber auch noch bei Temperaturen bis zu -5 °C vermehren können (ICMSF 1980; FEHLHABER u. JANETSCHKE 1992; KRÄMER 1997).

Die aerobe, mesophile Gesamtkeimzahl von frischem Geflügelhackfleisch setzt sich bei einer Lagerungstemperatur von +4 °C vor allem aus *Pseudomonas* ssp., *Alteromonas* ssp., *Brochotrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* und Milchsäurebakterien zusammen. Bei

einer Temperatur von 0 °C finden sich häufig auch *Acinetobacter* ssp. und Stämme von *Moraxella* auf der Fleischoberfläche (LOUWERS et al. 1997; HILDEBRAND et al. 2001).

Bei reduzierter O<sub>2</sub>-Spannung, verursacht durch gasdichte Polyethylenfolien-Umhüllung, und bei einer Lagertemperatur von +4 °C lassen sich auch *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp. und *Lactobacillus* spp. nachweisen (Weise 1996).

Neben der Familie der *Enterobacteriaceae* lassen sich bei der Verarbeitung von frischem Geflügelhackfleisch weitere gramnegative Mikroorganismen der Gattungen *Flavobacterium* und *Alcaligenes* nachweisen. Vergleichsweise seltener sind geringe Anteile an aeroben Sporenbildnern der Stämme *B. subtilis*, *B. pumilus* und *B. licheniformis* nachweisbar. Der Gehalt an anaeroben Sporenbildnern wie *Cl. putrificum*, *Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes* und *Cl. bifermentans* ist ebenfalls sehr gering und besitzt keine wesentliche Bedeutung bei dem Verderb von Hackfleisch (BÜLTE 1996).

Durch die Aktivität von *Pseudomonas* spp. und in geringem Maße auch durch verschiedene *Enterobacteriaceae* erfolgt der proteolytische Verderb. Bei den *Pseudomonas* ssp. sind vorrangig Stämme von *Ps. fragi* und *Ps. Fluorescens* für den Verderb verantwortlich. Bei diesen Mikroorganismen äußern sich Verderbniserscheinungen in Form eines dumpfen, muffigen oder fauligen Geruchs des Hackfleisches. Selten wird bei Hackfleisch ein Verderb durch *Lactobacillus* spp., der sich in Form von Säuerung bemerkbar macht, festgestellt. Sensorisch wahrnehmbare Verderbniserscheinungen sind erst bei Keimzahlen von 10<sup>7</sup> bis 10<sup>8</sup> KbE/g zu beobachten (BÜLTE 1996).

Neben diesen für den Verderb verantwortlichen Mikroorganismen können in Geflügelhackfleisch häufig *Salmonella* ssp. nachgewiesen werden (AKPOLAT et al. 2004; MAYRHOFER et al. 2004; GHAFIR et al. 2005; van de GIESSEN et al. 2006; WEISE in WEBER 2003).

Die Kontaminationsraten sind dabei häufig unterschiedlich. Überwiegend können Keime der Stämme *S. typhimurium*, *S. panama* oder *S. indiana* nachgewiesen werden. Der Erreger *S. enteritidis* ist laut BfR (2006) bei den in Deutschland auftretenden Salmonellosen der häufigste Verursacher.

Zudem konnten einige *Listeria* ssp. in Geflügelhackfleischproben ermittelt werden. Hierbei waren die Stämme *L. welshimeri*, *L. innocua*, *L. seeligeri* und *L. monocytogenes* vertreten. Die Belastung mit *L. monocytogenes* war jedoch meist mit ≤ 10 KbE/g so niedrig, dass ein Infektionsrisiko mit *Listeria* ssp. über Hackfleisch als gering einzustufen ist. Wie auch bei der Salmonellose besteht bei Risikogruppen ein erhöhtes Infektionsrisiko (BÜLTE 1996).

Stämme wie *Staph. aureus* oder *Cl. perfringens* sind ebenfalls häufiger in Hackfleisch nachweisbar. Sie wachsen jedoch bei niedrigen Temperaturen und aufgrund der psychrotrophen Konkurrenzflora nur in geringem Maße. Auch die Eigenschaft von *Staph. aureus*, Enterotoxine zu bilden, ist stark gehemmt. Neben diesen genannten Keimen konnten außerdem gelegentlich Stämme von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* aus Hackfleisch isoliert werden (AKPOLAT et al. 2004; MAYRHOFER et al. 2004; GHAFIR et al. 2005; van de GIESSEN et al. 2006; WEISE in WEBER 2003).

Aufgrund ihrer mikroaerophilen Wachstumsansprüche besteht auch bei diesen Keimen neben der Konkurrenzflora nur eine beschränkte Möglichkeit, sich in Hackfleisch zu vermehren. *C. jejuni* wächst in einem Temperaturbereich zwischen +30 °C und +45 °C und sind bei Kühltemperaturen von +4 °C über mehrere Wochen lang lebensfähig (BÜLTE 1996; KRÄMER 2002).

### 2.3.2.2 Auswirkung von MAP auf die mikrobielle Qualität von Hackfleisch

Bei Hackfleisch, das unter Schutzatmosphäre mit hohen Sauerstoffanteilen verpackt worden ist und bei maximal +2 °C kühlgelagert wird, kann nach WALSH et al. (2002) eine Haltbarkeit von fünf bis zehn Tagen erreicht werden. WALSH et al. (2002) vermuten jedoch, dass nicht nur die Zusammensetzung der Gasatmosphäre in der Verpackung die längere Haltbarkeit verursacht, sondern dass besonders die Lagerung bei max. +2 °C, ein hoher Hygienestandard bei der Rohstoffverarbeitung und insbesondere sehr niedrige Ausgangskeimgehalte bei den zu verarbeitenden Rohstoffen für den verlangsamten Verderb und die lange Farberhaltung verantwortlich sind. Hinsichtlich des mikrobiologischen Status erzielt eine Verpackung unter Schutzatmosphäre mit 100 % CO<sub>2</sub> die besten Resultate. Bei diesen hohen Konzentrationen von CO<sub>2</sub> treten jedoch unerwünschte chemische Veränderungen auf, welche die Fleischqualität und die Akzeptanz bei den Konsumenten negativ beeinflussen.

Durch den Einsatz der Schutzatmosphäre kommt es zu einem langsameren Wachstum von Milchsäurebakterien, so dass die Haltbarkeit begünstigt wird. Neben Milchsäurebakterien ssp. sind *Enterobacteriaceae* ssp., *Aeromonas* ssp. und *Pseudomonas* spp. am Verderb von unter Schutzgasatmosphäre verpacktem Geflügelhackfleisch beteiligt. Der pH-Wert des verpackten Hackfleisches ist neben der Gaszusammensetzung ein bedeutender Faktor für den Verderb. Bei Produkten mit hohen pH-Werten, wie z.B. bei Geflügelhackfleisch, wachsen verstärkt *Enterobacteriaceae* ssp., die einen eiähnlichen bzw. schwefelartigen Geruch erzeugen. Bei niedrigen pH-Werten und hohen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen hingegen ist ein intensives Wachstum von hetero- und homofermentativen Milchsäurebakterien zu verzeichnen. Die Säurebildung der Milchsäurebakterien trägt dazu bei, dass das Wachstum von *Enterobacteriaceae* ssp. und fakultativ anaeroben Bakterien gehemmt wird. Andererseits bilden einige Milchsäurebakterien auch Ethanol sowie Schwefelverbindungen, wie z.B. Schwefelwasserstoff. Diese Metaboliten sind aufgrund ihrer sensorischen Beeinflussung somit ursächlich für den Verderb der Lebensmittel verantwortlich (STANBRIDGE et al. 1998). Die Gefahr des Wachstums von *Clostridium botulinum* unter Schutzatmosphäre wird laut STANBRIDGE et al. (1998) als gering eingestuft. Das Risiko, sich aufgrund des Verzehrs von unter Schutzatmosphäre verpacktem Hackfleisch mit *Salmonella* ssp., *Staph. aureus*, *Campylobacter* ssp., *A. hydrophila*, *V. parahaemolyticus* oder anderen humanpathogenen Mikroorganismen zu infizieren, muss nach STANBRIDGE et al. (1998) als ebenso hoch eingestuft werden, wie durch den Konsum von aerob gelagertem Hackfleisch.

Hinsichtlich des Wachstums pathogener Keime unter Schutzatmosphäre sind in verschiedenen Studien teilweise sehr unterschiedliche Ergebnisse erzielt worden:

FISCHER und HAMMES et al. (1983) untersuchten verschiedene Gasatmosphärenzusammensetzungen von MAP-verpacktem Hackfleisch (Rind und Schwein gemischt) und ihre Wirkung hinsichtlich mikrobieller und sensorischer Effekte auf die Produkte. Die Autoren beschreiben, dass Gasgemische mit Sauerstoffkonzentrationen von 70 - 80 % und Kohlendioxidkonzentrationen von 20 - 30 % die größten Effekte hinsichtlich der Farberhaltung der Produkte über den Lagerungszeitraum bewirkten. Durch die Verwendung einer 30 % CO<sub>2</sub> / 70 % O<sub>2</sub>-Mischung konnten stärkere mikrobielle Hemmeffekte erzielt werden, so dass sich die Haltbarkeit der Hackfleischproben gegenüber den Kontrollproben bei +2 °C Lagerungstemperatur um 6 Tage verlängerte. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass Hackfleisch unter der Voraussetzung einer niedrigen Anfangskeimbelastung und einer lückenlosen Kühlkette ohne Beeinträchtigung der sensorischen und mikrobiologischen Qualität 6 Tage gelagert werden kann (FISCHER und HAMMES et al. 1983).

MANU-TAWIAH et al. (1993) untersuchten den Einfluss verschiedener Gasatmosphären auf das Wachstum von *L. monocytogenes* und *Y. enterocolitica* in zerkleinertem Schweinefleisch bei einer Lagerung von +4 °C über einen Zeitraum von 35 Tagen und stellten fest, dass durch die modifizierten Atmosphären zwar die psychrotrophe Flora, die als Indikator für den fortschreitenden Verderb der Produkte fungiert, gehemmt wurde, das Wachstum von *L. monocytogenes* jedoch nur verlangsamt und nicht gestoppt werden konnte. In Vakuumverpackungen konnten ebenfalls keine signifikanten Wachstumsinhibitionen festgestellt werden (MANU-TAWIAH et al. 1993).

Verschiedenen Lageratmosphären (80 % O<sub>2</sub> / 20 % CO<sub>2</sub>; 50 % CO<sub>2</sub> / 50 % N<sub>2</sub>; 100 % CO<sub>2</sub>; Vakuumverpackung und aerobe Lagerung) bewirkten bei DOHERTY et al. (1996), dass sich die inokulierte Keimzahl von *A. hydrophila* in Lammhackfleisch mit einem normalen pH-Wert von 5,5 - 5,8 bei den Lagerungstemperaturen von 0 °C und +5 °C verringerte. Nach 21 Tagen konnten in den Proben keine *A. hydrophila* mehr nachgewiesen werden. Bei höheren pH-Werten (≥ 6,0) konnten bei Lagertemperaturen von +5 °C in allen Proben, außer denen unter 100 % CO<sub>2</sub>, signifikante Keimzahlanstiege beobachtet werden. Unter 100 %iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre konnten nach der 42-tägigen Untersuchungszeit zwar noch *A. hydrophila* nachgewiesen werden, allerdings verringerte sich die Keimzahl über den Verlauf der Lagerung. Auch bei 0 °C konnte *A. hydrophila* in allen Proben mit hohen pH-Werten bei den verschiedenen Lagerungsatmosphären nachgewiesen werden. Ein signifikanter Anstieg der Keimzahlen war jedoch nur bei den vakuumverpackten und den aerob gelagerten Proben zu verzeichnen (DOHERTY et al. 1996).

ÖZBAS et al. (1996) kontaminierten frisches, zerkleinertes Geflügelfleisch mit pathogenen Stämmen von *Yersinia enterocolitica* und lagerten es unter zwei verschiedenen Schutzgasatmosphären (100 Vol-% CO<sub>2</sub> und 80 Vol-% CO<sub>2</sub>) sowie unter Vakuum und einer normalen Umgebungsatmosphäre. Während der 14-tägigen Lagerung konnte ein deutliches Wachstum von *Y. enterocolitica* in allen 4 Verpackungsvarianten sowohl bei +3 °C als auch bei +8 °C festgestellt werden (ÖZBAS et al. 1996).

In einer Studie von NISSEN et al. (2000) wurden zwei verschiedene modifizierte Atmosphären (60 % CO<sub>2</sub> / 40 % N<sub>2</sub> / 0,4 % CO und 30 % CO<sub>2</sub> / 70 % O<sub>2</sub>) bezüglich ihres Einflusses auf das Wachstum von *Y. enterocolitica* in künstlich kontaminiertem Rinderhackfleisch untersucht. Während einer 8-tägigen Lagerung des Hackfleisches bei einer Temperatur von +10 °C zeigte nur die 60 Vol-% CO<sub>2</sub> -Verpackungsvariante einen hemmenden Einfluss auf *Y. enterocolitica*. In der CO<sub>2</sub> / O<sub>2</sub> -Variante stieg die Keimzahl hingegen von anfänglich ca. 2,5 log KbE/g auf ca. 4,9 log KbE/g. Bei der Lagerung des Fleisches unter +4 °C konnten die Autoren den zusätzlichen hemmenden Einfluss der Temperaturerniedrigung auf das Wachstum von *Y. enterocolitica* belegen. Bei dieser Lagerungstemperatur war in beiden untersuchten modifizierten Atmosphären eine Inhibierung des Wachstums von *Y. enterocolitica* feststellbar (NISSEN et al. 2000).

HARRISON et al. (2000) untersuchten den Einfluss verschiedener Lageratmosphären (5 % O<sub>2</sub> / 10 % CO<sub>2</sub> / 85 % N<sub>2</sub> (Atmosphäre 1); 30 % CO<sub>2</sub> / 70 % N<sub>2</sub> (Atmosphäre 2) und aerobe Lagerung als Kontrollprobe) auf das Wachstum von *Listeria monocytogenes* in einem Modellmedium bei Lagertemperaturen von +4 °C und +8 °C. Bei +4 °C Lagertemperatur verringerte sich das Wachstum von *L. monocytogenes* durch die Lagerungsatmosphäre 1 um das 1 - 1,5-fache, die Lagerungsatmosphäre 2 bewirkte eine Verringerung des Wachstums um das 2 - 3-fache im Vergleich zur Kontrollprobe. Die Lagerung bei +8 °C bewirkte nur bei Lagerungsatmosphäre 2 eine Senkung der Wachstumsrate um das 1,5-fache im Vergleich zur Kontrollprobe. Die Autoren empfehlen aufgrund ihrer Ergebnisse, Lebensmittel, die unter modifizierter Atmosphäre gelagert werden, bei Temperaturen von

max. +4 °C zu lagern, um eine ausreichende mikrobiologische Produktsicherheit über den gesamten Lagerungszeitraum gewährleisten zu können (HARRISON et al. 2000).

BABJI et al. (2000) untersuchten die mikrobiologische und sensorische Qualität von vakuumverpacktem und aerob verpacktem Ziegenhackfleisch bei einer Lagertemperatur von +4 °C und beschrieben bei den vakuumverpackten Proben eine Haltbarkeit von 28 Tagen, wobei am Ende der Lagerungszeit ein schwefeliger Geruch wahrgenommen werden konnte. Im Gegensatz dazu wies das aerob verpackte Ziegenhackfleisch bereits nach 3 Tagen einen fauligen Geruch auf (BABJI et al. 2000).

### **2.3.2.3 Einfluss der Gasatmosphäre auf Farbe und Lipidoxidation von Hackfleisch**

Der Einfluss verschiedener Sauerstoffkonzentrationen in modifizierten Gasatmosphären auf den Erhalt der Farbe und die Lipidoxidation von frischem Hackfleisch ist von verschiedenen Autoren beschrieben worden.

FORMANEK et al. (1998) konnten in Lagerungsversuchen mit frischem Rinderhackfleisch einen Einfluss des Sauerstoffgehaltes in der Verpackung auf die Lipidoxidation des Fleisches feststellen. Sie untersuchten frisches Rinderhackfleisch, das unter modifizierten Atmosphären (aerobe Lagerung; Vakuumlagerung; 30 % O<sub>2</sub> / 70 % CO<sub>2</sub>; 70 % CO<sub>2</sub> / 30 % O<sub>2</sub> und 80 % O<sub>2</sub> / 20 % CO<sub>2</sub>) bei +4 °C über 8 Tage gelagert wurde. Die thiobarbitursäurereaktiven Werte (TBARS-Werte) waren in den Vakuumpackungen signifikant niedriger als in den Verpackungen mit Sauerstoffanteilen. Ab dem 2. Lagerungstag waren in den MAP-Verpackungen im allgemeinen höhere TBARS-Werte zu verzeichnen, als in den aerob gelagerten Proben. Bezüglich der Farbe konnten die Autoren feststellen, dass über einen Lagerungszeitraum von 8 Tagen und mehr der Einsatz von MAP-Systemen mit hohen Sauerstoffkonzentrationen keinen signifikanten Vorteil gegenüber einer aeroben Lagerung darstellt, da bereits nach 6 Tagen Lagerung die a\*-Werte der MAP-verpackten Hackfleischproben mit den Hackfleischproben, die aerob verpackt wurden, vergleichbar waren und keine Signifikanzen bezüglich der Farbunterschiede der Proben festgestellt werden konnten. Auch bezüglich der Lipidoxidation konnten über den Lagerungszeitraum von 8 Tagen keine signifikanten Vorteile der MAP-Verpackungen gegenüber der aeroben Verpackung nachgewiesen werden (FORMANEK et al. 1998).

Bezüglich der Lipidoxidation von gelagertem Schweinehackfleisch in aerober Verpackung und in MAP-Verpackungen (66 % O<sub>2</sub> / 27 % CO<sub>2</sub> / 7 % N<sub>2</sub>) bei einer Lagerungstemperatur von +7 °C und einer Lagerungsdauer von 10 Tagen konnten HOUBEN et al. (1998) ähnliche Ergebnisse erzielen. In den MAP-verpackten Proben konnte im Vergleich zu den aerob gelagerten Proben eine gesteigerte Lipidoxidation festgestellt werden. Allerdings stellten die Autoren fest, dass die MAP-Verpackung einen positiven Effekt auf die Farbstabilität der Produkte ausübte, der über den gesamten Lagerungszeitraum aufrecht erhalten werden konnte.

Ähnliche Ergebnisse konnten HOUBEN et al. (2000) in einer weiteren Studie mit Rinderhackfleisch erzielen. Zudem konnten sie nachweisen, dass es einen inversen Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Mikroflora im Produkt und der Farberhaltung gibt. Die Autoren beschrieben, dass es ab einer Gesamtkeimzahl von 10<sup>6</sup> KbE/g im Produkt zu Farbbeeinträchtigungen kommt. Beim Einsatz von MAP-Verpackungen wurden deutlich niedrigere Keimbelastungen der Produkte festgestellt, als bei der aeroben Lagerung. In diesem Zusammenhang konnten auch stabilere Farbwerte ermittelt werden (HOUBEN et al. 1998).

O'GRADY et al. (2000) untersuchten die Effekte verschiedener O<sub>2</sub>-Konzentrationen (20, 40, 60, 80 %) auf Rinderhackfleisch über einen Lagerungszeitraum von 10 Tagen und Dunkellagerung bei +4 °C. Innerhalb der ersten 4 Lagerungstage konnten durch die unterschiedlich hohen Sauerstoffkonzentrationen keine signifikanten Unterschiede im Oximyoglobingehalt der Produkte ermittelt werden. Nach dem 7. Lagerungstag sank der Oximyoglobingehalt in Korrelation zum sinkenden Sauerstoffgehalt in der Verpackung signifikant und nach 10 Lagerungstagen war der Gehalt an Oximyoglobin in allen Proben vergleichbar niedrig. Die Lipidoxidation stieg in den Proben mit 40, 60 und 80 % Sauerstoffanteil zwischen den Lagerungstagen 7 und 10 signifikant an (O'GRADY et al. 2000).

In Übereinstimmung mit FORMANEK et al. (1998) konnten O'GRADY et al. (2000) feststellen, dass die Vorteile der MAP-Technologie mit hohen Sauerstoffkonzentrationen bezüglich der Farberhaltung im Produkt im Vergleich zur aeroben Lagerung nur innerhalb der ersten Lagerungstage zum Tragen kommen. Ab dem 4. Lagerungstag konnten auch diese Autoren nur noch geringe Unterschiede zwischen den verschiedenen Hackfleischproben feststellen.

Durch KERRY et al. (2000) wurden ebenfalls positive Effekte von MAP-Verpackungen mit hohen Sauerstoffanteilen bei der Lagerung von Lammhackfleisch beschrieben. Mit steigenden O<sub>2</sub>-Konzentrationen konnten sie eine höhere Farbstabilität des Hackfleisches nachweisen, verwiesen jedoch auch auf die, durch die hohen Sauerstoffkonzentrationen bedingte, verstärkt nachgewiesene Lipidoxidation in den Hackfleischproben (KERRY et al. 2000).

## 2.4 *Schutzkulturen*

Die Lagerfähigkeit tierischer Rohstoffe nach der Gewinnung ist u.a. durch mikrobiellen Befall begrenzt. Eine kontinuierliche Versorgung der Bevölkerung mit hochwertigen Lebensmitteln ist nur durch die Entwicklung lebensmittelkonservierender Methoden möglich. Dazu zählen heute u.a. auch Trocknung, Salzen und Räuchern. Die Entwicklung und Anwendung dieser Methoden schränkt das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen in den Produkten ein (KRÄMER 2002).

Bei der Entwicklung neuer Konservierungsmethoden wurden dabei, teilweise unbewusst, biokonservierende Methoden geschaffen, die das Wachstum bestimmter Mikroorganismen fördern, so z.B. bei der Herstellung von Brot und Bier. Es ist mittlerweile bekannt, dass Mikroorganismen durch den Entzug von Nährstoffen und die Abgabe von Stoffwechselprodukten ihre Umwelt direkt beeinflussen. Diese veränderten Bedingungen haben direkten Einfluss auf das Wachstum oder die Hemmung anderer Organismen (NEUMEYER 1997).

Im Gegensatz zu physikalischen bzw. chemischen Verfahren, welche die natürliche Mikroflora der Produkte durch Erhitzung oder durch Zusatz von Konservierungsstoffen reduzieren, werden bei der Biokonservierung von Lebensmitteln ganz gezielt Mikroorganismen, wie z.B. Milchsäurebakterien, und / oder deren Aktivitäten für die Erzeugung wohlschmeckender, vitamin- und nährstoffreicher sowie weitgehend sicherer Lebensmittel eingesetzt. Das Prinzip der mikrobiologischen Konservierung von Lebensmitteln beruht darauf, dass die Vermehrung toxinbildender und verderbnisauslösender Mikroorganismen durch Zugabe von nicht pathogenen Mikroorganismen gehemmt und damit die Haltbarkeit verlängert wird (GUDMUNDSDÖTTIR 1993, SCHILLINGER et al. 1996, RODGERS 2001).

Die Nutzung von erwünschten Mikroorganismen für die Produktion und Fermentation von Lebensmitteln gehört zu den ältesten Zubereitungsarten. Beispielhaft sind hier die Nutzung der alkoholischen Gärung bei der Wein- und Bierherstellung, die Konservierung von Weißkohl durch Milch- und Essigsäurebakterien zu Sauerkraut und die Fermentationsprozesse bei der Herstellung von Milch- und Käseprodukten zu nennen. Die während der Fermentation am Rohstoff ablaufenden Prozesse sind vielfältig und führen zu technologischen und sensorischen Veränderungen des Rohstoffs, die sowohl dessen Veredelung als auch seine Konservierung bewirken (RUTLOFF et al. 1997).

Das Wachstum der Mikroorganismen während der Fermentation von Lebensmitteln wurde in früheren Zeiten mehr oder weniger dem Zufall überlassen. Dadurch kam es zwangsläufig auch zu starken Qualitätsschwankungen und Produktfehlern, die die gesundheitliche Unbedenklichkeit der Erzeugnisse stark einschränkten. Das Wissen über die Wachstumsansprüche der zur Fermentierung von Lebensmitteln eingesetzten Mikroorganismen ist heute viel umfassender und detaillierter als früher. Es ist bekannt, welche Mikroorganismen-Kulturen sich am besten für die jeweiligen Prozesse eignen und wie das Wachstum der eingesetzten Kulturen am besten gefördert und gesteuert werden kann.

Starter- und Schutzkulturen werden heute von zahlreichen spezialisierten Unternehmen in hoher Qualität zur Verfügung gestellt. Starterkulturen werden eingesetzt, wenn eine substantielle Veränderung des Ausgangsmaterials beabsichtigt ist. Schutzkulturen dagegen werden eingesetzt, wenn die Hemmung unerwünschter Mikroorganismen im Vordergrund steht. Während des Herstellungsprozesses werden sie dem Rohmaterial in relativ hoher Keimdichte zugesetzt und bilden dadurch eine effiziente Konkurrenzflora gegenüber dem produktspezifischen Keimspektrum. Bei fermentierten Fleisch- bzw. Käseprodukten, wie z.B. kurzgereiften Rohwürsten bzw. Edelschimmelkäsen, werden aus sensorischen Gründen neben Milchsäurebakterien auch Bakterien der Gattung *Staphylococcus*, Schimmelpilze und Hefen als Starterkulturen eingesetzt (GEISEN et al. 1992, HANSEN 2002, KRÖCKEL 2003). Neuere Aspekte der Biokonservierung von Lebensmitteln durch Schutzkulturen berücksichtigen auch Produkte, die aufgrund ihrer Herstellungstechnologie mikrobiologisch gefährdet sind und durch den Einsatz der eingesetzten Schutzkulturen möglichst wenig in ihren Produkteigenschaften verändert werden sollen (SCHILLINGER et al. 1996, RODGERS 2001).

Zu diesen Lebensmitteln zählen u.a. vorverpackte Aufschnitte von Kochschinken und Brühwürsten, Wiener Würstchen und ähnliche erhitze Fleischerzeugnisse mit vergleichsweise hohen pH- und  $a_w$ -Werten. Diese Produkte werden in der Regel nach dem Erhitzen unkontrolliert mit Mikroorganismen aus dem Produktionsumfeld rekontaminiert und bieten trotz Kühlung relativ gute Wachstumsbedingungen für psychrotrophe Bakterien. In Abhängigkeit von der dominierenden Rekontaminationsflora und der Rezeptur können die Erzeugnisse unterschiedliche sensorische Abweichungen zeigen oder sensorisch unauffällig bleiben. Die Haltbarkeit derartiger Erzeugnisse ist daher auch unter Kühlung begrenzt. In Abwesenheit einer Konkurrenzflora können sich während der Lagerung zudem auch humanpathogene Mikroorganismen, wie z.B. *Listeria monocytogenes* vermehren und gefährlich hohe Keimzahlen erreichen. Diese Mikroorganismen können bei immunsupprimierten Risikogruppen, wie z.B. Kleinkindern, Senioren und Schwangeren folgenschwere Infektionen auslösen, die auch bis zum Tod führen können (ANDERSEN 1995, 1997).

Einer Rekontamination mit verderbniserregenden und / oder humanpathogenen Mikroorganismen kann durch den Einsatz von Schutzkulturen entgegengewirkt werden.

---

Durch die Etablierung einer ausreichenden Konkurrenzflora im Produkt kann somit die Produktsicherheit und möglicherweise auch die Produktqualität verbessert werden (KRÖCKEL 2003, SCHILLINGER et al. 1996, RODGERS 2001).

### 2.4.1 Definition und Wirkungsweise

Mikroorganismen, wie z.B. Bakterien, Hefen oder Schimmelpilze, durch deren Zusatz zu einem Lebensmittel das Wachstum und die Vermehrung von unerwünschten und /oder pathogenen und verderbniserregenden Mikroorganismen reduziert oder verhindert wird, werden allgemein als Schutzkulturen bezeichnet. In der Literatur werden die Begriffe Starter- und Schutzkultur häufig im selben Zusammenhang benutzt, da der Einsatz beider Kulturen in Fleisch- und Fleischerzeugnissen möglich ist.

Die folgende begriffliche Abgrenzung ist notwendig, um die bereits genannten Anforderungen an Schutzkulturen zu verdeutlichen. Die Abgrenzung zwischen einer Schutzkultur und einer Starterkultur ist durch die jeweiligen Veränderungen im Produkt gekennzeichnet. Während die Starterkultur zu erwünschten sensorischen Veränderungen im Produkt führen soll, wie z.B. Texturveränderungen, ist der Einsatz der Schutzkulturen durch die Unterdrückung der unerwünschten Bakterienflora gekennzeichnet (NEUMEYER 1997).

Es lassen sich zwei grundlegende Wirkungsweisen von Schutzkulturen unterscheiden. Zunächst die *competitive Exclusion*, bei der die Schutzkultur das Wachstum von unerwünschten Mikroorganismen unterdrückt. Die Schutzkultur wird dem Lebensmittel in hoher Zahl (circa  $10^6$  Schutzkulturzellen / Gramm Lebensmittel) zugegeben, ohne das die Schutzkultur das Lebensmittel sensorisch verändert. Hier sind vor allem Milchsäurebakterien zu nennen, die im oder auf dem Produkt wachsen können. Milchsäurebakterien besitzen einen GRAS- Status (Generally Recognised as Safe), sie gelten demzufolge als sicher und nicht pathogen (ELSSER 1997).

Ebenfalls präventiv wirkt die *Nährstoffkompetition*. Als sogenannte Konkurrenzflora können durchsetzungsfähige Lactobazillen den unerwünschten Bakterien Nährstoffe entziehen. Es kommt somit zu einer Konkurrenz um das Nährstoffangebot. Der Organismus, welcher am Besten an das Habitat angepasst ist, wird zur dominierenden Flora, da er ein schnelleres Wachstum aufweisen kann. Auf diesem Weg bewirkt das Bakterium eine Hemmwirkung auf unerwünschte Keime. Milchsäurebakterien sind außerdem in der Lage das Redoxpotenzial zu verringern. Die Bildung reduzierender Substanzen kann von einem sauerstoffreduzierten bis zu einem anaeroben Milieu führen (ELSSER 1997).

Laut NEUMEYER (1997) ergeben sich folgende Anforderungen an eine Schutzkultur:

- Anpassung der Schutzkultur an das Produkt, so dass sie ihre Vitalität unter den für das Lebensmittel und die Verpackung typischen Bedingungen aufrecht erhält.
- Durchsetzung der Schutzkultur gegenüber der produkteigenen Flora
- Hemmung von unerwünschten pathogenen und Verderbnis erregenden Mikroorganismen
- Wachstum der Schutzkultur ohne Veränderung der sensorischen Eigenschaften des Produktes
- Anzeigen einer unsachgemäßen Behandlung und eines Verderbs des Produktes (Indikatorfunktion)

---

### 2.4.1.1 Lebensmittelrechtliche Situation

Milchsäurebakterien, die als Schutzkulturen in Lebensmitteln zum Einsatz kommen, besitzen den GRAS-Status. Der GRAS Status ist ein Sicherheitsstandard, der von der "US Food and Drug Administration" (FDA) für Ingredienzien gefordert wird, bevor deren Verwendung in Speisen und Getränken frei gegeben ist.

"GRAS" steht als Akronym für "Generally Recognized As Safe" (wörtlich übersetzt: allgemein als sicher anerkannt). Mikroorganismen mit GRAS-Status dürfen demnach keine toxischen oder antibiotischen Stoffwechselprodukte bilden.

Laut § 6 Abs. 1 Nr. 1a (LFGB) ist es verboten, nicht zugelassene Lebensmittel-Zusatzstoffe unvermischt oder in Mischung mit anderen Stoffen zu verwenden.

Schutzkulturen sind definitionsgemäß Zusatzstoffe (§ 2 Abs. 3 LFGB). Es handelt sich um Stoffe „mit oder ohne Nährwert, die in der Regel weder selbst als Lebensmittel verzehrt noch als charakteristische Zutat eines Lebensmittels verwendet werden und die einem Lebensmittel aus technologischen Gründen beim Herstellen oder Behandeln zugesetzt werden, wodurch sie selbst oder ihre Abbau- oder Reaktionsprodukte mittelbar oder unmittelbar zu einem Bestandteil der Lebensmittel werden oder werden können“ (§ 2 Abs. 3 LFGB).

Mikroorganismen und Enzyme sind von dieser Regelung ausgenommen (§ 6 Abs. 2 LFGB).

Bezüglich der Deklaration von Schutzkulturen in Lebensmitteln existiert in der Europäischen Union derzeit keine einheitliche Gesetzgebung. In Deutschland müssen Schutzkulturen in Fleischprodukten derzeit nicht deklariert werden, da Schutzkulturen, die das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen verhindern sollen, im Sinne des Gesetzes Mikroorganismenkulturen darstellen.

Der Gesetzgeber differenziert in § 6 Abs. 2 LFGB nicht zwischen klassischen Mikroorganismenkulturen und Schutzkulturen. Da es auch keinerlei sonstige Definitionen von Mikroorganismenkulturen im Sinne des § 6 Abs. 2 LFGB bzw. § 5 Abs. 2 Ziffer 2 LMKV gibt, kann davon ausgegangen werden, dass sämtliche Mikroorganismenkulturen grundsätzlich von dem Zusatzstoffverbot des § 6 Abs. 2 LFGB ausgenommen sind und folglich auch nicht kennzeichnungspflichtig sind.

Eine Kommission des Europäischen Parlamentes ist momentan damit beschäftigt, eine einheitliche Verordnung zu erarbeiten. Derzeit wird ein Vorschlag für eine Verordnung des Europäischen Parlamentes und des Rates betreffend die Informationen der Verbraucher über Lebensmittel diskutiert. In dieser neuen VO sollen u.a. neue Regelungen für die Kennzeichnungspflicht von Enzymen und Mikroorganismen umgesetzt werden. Dadurch soll dem präventiven Verbraucherschutz im Sinne der neuen Europäischen Gesetzgebungen entsprochen werden.

In wieweit der Einsatz von Schutzkulturen in Fleisch und Fleischprodukten in Zukunft deklarationspflichtig sein wird, ist bis zum jetzigen Zeitpunkt jedoch nicht abschließend geklärt. Diesbezüglich gilt auch bis auf Weiteres die nationale Gesetzgebung zur Kennzeichnung von Lebensmitteln.

## **2.4.2 Stoffwechselprodukte und Eigenschaften von Schutzkulturen zur Hemmung von unerwünschten Keimen.**

Nach LÜCKE (1992) definiert sich die antagonistische Wirkung eines Mikroorganismus darüber, dass dieser die Vermehrung anderer unerwünschter oder gefährlicher Mikroorganismen wirksam unterdrückt, indem er ihnen essenzielle Nährstoffe entzieht oder Stoffwechselprodukte ausscheidet, die ihre Vermehrung hemmen. Hierbei beeinflussen verschiedene Faktoren die Wachstumsrate und somit die Durchsetzungsfähigkeit von Schutzkulturen in Lebensmitteln. Besonders wichtig sind die Wasseraktivität, der pH-Wert, die Anwesenheit von Sauerstoff und die Temperatur (LÜCKE 1992).

Die von den Schutzkulturen ausgelösten Hemmwirkungen gegenüber unerwünschten Fremdkulturen lassen sich im Wesentlichen auf vier Ursachen zurückführen (RUTTLOFF, PROLL, LEUCHTENBERGER 1997):

- Absenkung des pH- Wertes durch Bildung organischer Säuren
- Ausscheidung von Produkten, die den mikrobiellen Stoffwechsel hemmen
- Bildung antimikrobieller Wirkstoffe
- Konkurrenz um Nährstoffe

### **2.4.2.1 Bildung organischer Säuren**

Die Bildung organischer Säuren durch Schutzkulturen, v.a. Milch-, Essig- und Propionsäure hat eine Absenkung des pH-Werts im Produkt zur Folge. Die veränderten Substratbedingungen verschlechtern dadurch die Wachstumsmöglichkeiten der unerwünschten Keime, da sich die Bedingungen von deren pH-Optimum entfernen (RUTTLOFF et al. 1997).

Die Stärke der antimikrobiellen Wirksamkeit der organischen Säuren ist davon abhängig, wie hoch der undissoziierte Anteil der Säure im Lebensmittel ist. Je weniger die Säuren bei dem pH-Wert des Lebensmittels in dissoziierter Form vorliegen und je besser lipidlöslich die undissoziierte Säure ist, desto besser ist die antimikrobielle Wirkung (LÜCKE 1992).

Der undissoziierte Anteil der organischen Säuren ist aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften in der Lage, die Zellmembranen der Mikroorganismen zu durchdringen. Im Cytoplasma dissoziieren die organischen Säuren und senken dadurch das intrazelluläre pH-Niveau. Die Folge ist eine Unterschreitung des optimalen pH-Werts, den das intrazelluläre Enzymsystem für die Umsetzung der Substrate benötigt. Die Verdrängung des Enzymsystems aus ihrem pH-Wert-Optimum hat eine Verlangsamung des gesamten Stoffwechsels zur Folge. Organische Säuren entstehen bei der Fermentation von Lebensmitteln in Form von Stoffwechselprodukten. Bei der Biokonservierung von Lebensmitteln agieren organische Säuren als Hemmstoffe. Der hemmende Einfluss auf den Substrattransport äußert sich durch die Veränderung der Zellmembranpermeabilität, verursacht durch die Bindung essentieller Metallionen. Zudem begünstigt die Bindung von essentiellen Metallionen das Wachstum von Infektionskeimen (RUTTLOFF et al. 1997).

### **2.4.2.2 Bildung von Wasserstoffperoxid**

Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) ist ein Oxidationsmittel, das im Metabolismus von vielen aeroben und anaeroben Mikroorganismen gebildet werden kann. Bei aeroben und fakultativ aeroben Bakterien wird Wasserstoffperoxid intrazellulär sofort durch das Enzym Katalase zerstört. Es kann jedoch zu einer Ansammlung von Wasserstoffperoxid im Produkt kommen, sofern die Aktivität peroxidzerstörender Enzyme unzureichend ist. Es hemmt oder tötet Bakterien durch die Inaktivierung von Enzymen ab (WEBER 1992).

Wasserstoffperoxid ist der einzige Sauerstoffmetabolit, bei dem es unter aeroben Bedingungen zur Akkumulation signifikanter Mengen kommt (GUDMUNSDÖTTIR 1993).

Mit der Bildung von Wasserstoffperoxid durch z.B. Laktobazillen sind keimhemmende Wirkungen verbunden. Die Reaktion mit anderen Substanzen (z.B. Thiocyanat) kann zur Bildung neuer Hemmstoffe führen, die sich durch veränderte Wirkweisen gegenüber Mikroorganismen äußern. In Applikationsstudien wird unter der Bezeichnung „Lactoperoxidase-System“ eine Hemmwirkung erzeugt, durch welche die Haltbarkeit von Rohmilch verlängert werden kann (RUTLOFF et al. 1997).

Milchsäurebakterien verfügen über mehrere Möglichkeiten, unter Zutritt von Sauerstoff, Wasserstoffperoxid zu bilden. In Gegenwart von Luftsauerstoff können viele Milchsäurebakterien Laktat, Pyruvat,  $\alpha$ -Glycerophosphat und/oder NADH mittels Flavin-Enzymen unter Bildung von Wasserstoffperoxid oxidieren (LÜCKE 1992).

Milchsäurebakterien verfügen meist nicht über eine Katalase, was eine Akkumulation von Wasserstoffperoxid in der unmittelbaren Umgebung zur Folge hat. Aufgrund der Toleranz gegenüber Wasserstoffperoxid verschaffen sich die Milchsäurebakterien einen Selektionsvorteil (NEUMEYER 1997).

Bei Laktokokken konnten 1-7  $\mu\text{g/ml}$ , bei *Lactobacillus plantarum* 2-72  $\mu\text{g/ml}$ , bei *Lactobacillus acidophilus* 14-56  $\mu\text{g/ml}$  und bei *Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaris* 11  $\mu\text{g/ml}$  Wasserstoffperoxid nachgewiesen werden. Es stellt sich heraus, dass Lactobazillen mehr Wasserstoffperoxid produzieren als Laktokokken (WEBER 1996).

Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass die Produktion von Wasserstoffperoxid bei Lebensmittelfermentationen unerwünscht ist, da es vorhandene Lipide oxidiert und so zu einem ranzigen Geschmackseindruck bei fetthaltigen Lebensmitteln führt. In Fleischerzeugnissen kann Wasserstoffperoxid zu einer Entfärbung oder Grünfärbung führen (NEUMEYER 1997).

#### 2.4.2.3 Bildung von Kohlendioxid

Kohlendioxid ist ein farb- und geruchloses Gas. Beim Lösen in Wasser entsteht Kohlensäure, die instabil ist und wieder in Kohlendioxid und Wasser zerfällt. Die Akkumulation von Kohlendioxid in pflanzlichen Materialien kann über zwei Möglichkeiten erfolgen, zum einen über die endogene Atmung der Pflanzenzellen und zum anderen durch die Fermentation des pflanzlichen Materials. Geringe Konzentrationen an Kohlendioxid können sogar das Wachstum bestimmter Bakterien stimulieren, wohingegen hohe Konzentrationen das Wachstum bestimmter Bakterien hemmen. Untersuchungen ergaben, dass bei den Bakterien *Escherichia coli* und *Bacillus subtilis* keine nennenswerten Hemmeffekte, bei Konzentrationen bis zu 80 % Kohlendioxid, erzielt wurden. Der antimikrobielle Effekt des Kohlendioxids konnte durch die Wachstumshemmung der Bakterien *Bacillus cereus* und *Pseudomonas aeruginosa* bewiesen werden (GUDMUNSDÖTTIR 1993).

#### 2.4.2.4 Bildung von Diacetyl

Diacetyl ist ein Intermediärprodukt, das im Stoffwechsel aus Citrat über Pyruvat gebildet werden kann. Es wird von zahlreichen Milchsäurebakterien gebildet und trägt die chemische Formel  $\text{CH}_3\text{-CO-CO-CH}_3$  (Butan-2,3-dion). Diacetyl ist eine Schlüsselsubstanz des Butteraromas in einigen fermentierten Lebensmitteln. Weniger bekannt ist, dass diese Substanz auch eine wachstumshemmende Wirkung gegenüber einigen Mikroorganismen besitzt.

---

RUTLOFF et al. (1997) beschreiben, dass es Befunde gibt, wonach Hefen und gramnegative Bakterien bei 200 µg/ml, Milchsäurebakterien hingegen erst bei 350 µg/ml Diacetyl gehemmt werden. Aufgrund des intensiven Aromas ist jedoch die Anwendungsmöglichkeit in fermentierten Lebensmitteln begrenzt (WEBER 1992).

#### 2.4.2.5 Bildung von Reuterin

Reuterin ist eine niedermolekulare Verbindung und besitzt eine breite antimikrobielle Wirkung. Reuterin kann von der heterofermentativen Species *Lactobacillus reuteri* durch eine Coenzym B12-abhängige Umlagerung aus Glycerin gebildet werden. Durch Eintauchen von Fischfilets in eine glycerinhaltige Suspension von *Lactobacillus reuteri* sowie durch Zugabe von Reuterin zu Hackfleisch konnte die Haltbarkeit dieser Lebensmittel verlängert werden. Als Schutzkultur eignet sich *Lactobacillus reuteri* allerdings nicht, da er einen typischen Darmkeim mit geringer Konkurrenzfähigkeit auf Lebensmitteln darstellt. Sinnvoller erscheint die Möglichkeit des Einsatzes Reuterin bildender *Lactobacillus reuteri*- Stämme als „Probiotika“ in der Tiernahrung, um die Ansiedelung gramnegativer Pathogener, wie z.B. *Salmonella* ssp. im Darm, zu verhindern (WEBER 1996).

#### 2.4.2.6 Bildung von Bacteriozinen

Bacteriozine sind Proteine oder Proteinverbindungen, die von einigen Bakterien produziert werden. Bacteriozine besitzen ein antimikrobielles Wirkspektrum und sind in der Lage, die dem Produzentenstamm mehr oder weniger nahe verwandten Bakterien zu inaktivieren (GUDMUNSDÖTTIR 1993).

Das Wirkspektrum einiger Bacteriozine kann auch auf die unerwünschten pathogenen Mikroorganismen erweitert werden. Besteht die Möglichkeit eine bacteriozinbildende Kultur in einem Lebensmittel einzusetzen, wird von einer Schutzkultur gesprochen. Die gebildeten Bacteriozine bzw. antimikrobiell wirkenden Substanzen konservieren das Lebensmittel biologisch. Für den Menschen sind Bacteriozine nach bisherigem Kenntnisstand nicht schädlich. Ein bekanntes Bacteriozin, Nisin, ist als biologisches Konservierungsmittel in den USA und in Großbritannien zugelassen (KEPPLER 1996).

In Deutschland ist der Einsatz von Bacteriozinen als Konservierungsmittel nur sehr eingeschränkt zugelassen. In der Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen gilt Nisin als Konservierungsmittel mit der E-Nummer E234. Das Bacteriozin Nisin darf als Zusatzstoff in Grieß- und Tapikepuddings und ähnlichen Erzeugnissen (max. 3mg/kg) verwendet werden. Der Einsatz in gereiftem Käse und in Schmelzkäsezubereitungen (12,5 mg/kg) sowie in Clotted Cream und Mascapone (10 mg/kg) ist ebenfalls zugelassen (BUNDESGESETZBLATT 1998).

Das Wissen über Bacteriozine von Milchsäurebakterien ist bislang nicht abschließend geklärt. Von den ca. 100 bekannten Bacteriozinen sind nur wenige vollständig charakterisiert. Daraus resultieren unterschiedliche Versuche einer Klassifizierung der Bacteriozine in unterschiedliche Gruppen (KEPPLER 1996).

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Bacteriozine im Hinblick auf ihre Struktur, die Biosynthesegene, das Wirkspektrum und den Wirkmechanismus untersucht. Auf der Basis ihrer Struktur und Größe können die Bacteriozine in drei Klassen eingeteilt werden (GÄNZLE 2003).

Die Klassifizierung der Bacteriozine nach OUWEHAND (1998) wurde um eine Klasse erweitert. Nach OUWEHAND (1998) gehören der Klasse IV komplexe Bacteriozine an, in deren Proteinstrukturen Lipid- und/oder Kohlenhydratanteile vorhanden sind.

Milchsäurebakterien, die für den Einsatz in fermentierten Fleischprodukten in Betracht gezogen werden können, sind vor allem die Lantibiotika und die Bakteriozine der Klasse II (GÄNZLE 2003).

**Tabelle 5: Bakteriozine der Fleisch-Assoziierten Milchsäurebakterien (GÄNZLE 2003)**

Klasse		Merkmal	Bsp. von fleischassoziierten MSB
<b>Klasse I:</b> Lantibiotika (Enthält Lanthionin, u. Methyl-Lanthionin)	A	Flexible Molekülstruktur	Nisin A und Z ( <i>Lactococcus lactis</i> ) Lactocin S ( <i>Lactobacillus sakei</i> ) Lancticin 3147 ( <i>Lc. lactis</i> )
	B	Globuläre Molekülstruktur	
<b>Klasse II</b> Keine hitzestabilen Bakteriozine, ohne Lanthionin	IIa	Konsensus-Sequenzmotiv: YNGVXCXXXCXV, aktiv gegen Listerien	Sakacin A (=Curvacin A, <i>Lb. sakei</i> und <i>Lb. curvatus</i> ) Sakacin P (=Bavaricin A, <i>Lb. sakei</i> und <i>Lb. bavaricus</i> ) Pediocin PA-1 (=ACh/SJ-1, <i>Pediococcus parvulus</i> u. <i>P. acidilactici</i> , <i>L. plantarum</i> ) Enterocin A ( <i>Enterococcus faecalis</i> ) Leucocin A ( <i>Leuconostoc gelidum</i> u. <i>Leuconostoc carnosum</i> )
	IIb	Zwei Peptide für Aktivität erforderlich	Plantaricin A ( <i>Lb. plantarum</i> ) Plantaricin 1.23 ( <i>Lb. plantarum</i> ) Lactocin G ( <i>Lc. lactis</i> )
	IIc	Andere Klasse II Bakteriozine	Enterocin L50A und L50 B ( <i>E. faecium</i> )
<b>Klasse III</b>		Protein-Bakteriozine (>30 kDa)	

#### 2.4.2.7 Wirkungsmechanismus von Bakteriozinen

Bei der Wirkung der Bakteriozine werden ebenfalls verschiedene Ansätze erörtert (KEPPLER 1996).

Die Wirkung der Bakteriozine von Milchsäurebakterien unterliegt einem gemeinsamen Prinzip. Die Peptide bilden Poren in der Zellmembran der Zielorganismen. Dies führt zu einem Zusammenbruch der Konzentrationsgradienten an der Zellmembran („proton motive force“) sowie zum Verlust niedermolekularer Intermediate, wie bspw. ATP und Aminosäuren. Dadurch werden der Stoffwechsel, die Biosynthese von Zellbestandteilen und die Aufnahme von Substraten (z.B. Glucose und Aminosäuren) unterbrochen und letztlich der Zelltod bewirkt (GÄNZLE 2003).

Dieser Wirkmechanismus ist vom Energiezustand der Zelle abhängig, d.h. von der protonenmotorischen Kraft (PMF). Dem gegenüber steht die protonenmotorisch-unabhängige Kraft. Dabei lagern sich die Bakteriozine an den Rezeptoren der Zielzelle an

und bewirken eine Freisetzung von Kalium. Die Folgen sind eine interne ATP-Hydrolyse und eine Depolarisation der cytoplasmatischen Membran (KEPPLER 1996).

Aufgrund des sehr engen Wirkspektrums der Bakteriozine ist deren Hemmwirkung auf einzelne Bakterien begrenzt. Gramnegative Bakterien werden durch Bakteriozine der Milchsäurebakterien nicht gehemmt. Die Resistenz gramnegativer Bakterien, wie z.B. *E. coli* oder *Salmonella* beruht auf der äußeren Membran dieser Organismen, die verhindert, dass Bakteriozine an ihren Wirkort, die Zellmembran, gelangen (GÄNZLE 2003).

Die Verlässlichkeit ihrer Wirkung wird im Fleisch durch Bindung an Bestandteile der Biomembranen und durch Selektion resistenter Mutanten der zu inaktivierenden Bakterien eingeschränkt (LÜCKE und TROEGER 2007).

Die aufgeführten Aspekte zum Einsatz von Schutzkulturen bzw. bakteriozinbildenden Bakterien erleichtern, wie z.B. bei der Rohwurstherstellung, die Prozessführung. Ihr Einsatz ist aber kein Ersatz für eine ausreichende Betriebshygiene. Dies beinhaltet auch eine sorgfältige Auswahl des Rohmaterials, sowie deren Verarbeitung (WEBER 1996).

Die Bakteriozine verändern die sensorischen Eigenschaften des Erzeugnisses nicht und werden im Magen und Dünndarm rasch inaktiviert, so dass kein Effekt auf die Darmflora zu befürchten ist (LÜCKE und TROEGER 2007).

Die Inaktivierung der Bakteriozine im Magen ist auf den sauren pH-Wert zurückzuführen, da das pH-Optimum von Bakteriozinen bei einem pH = 6 liegt (OUWEHAND 1998).

#### **2.4.2.8 Konkurrenz der Mikroorganismen um das Nährstoffangebot**

Die in einem Medium enthaltenen Nährstoffe werden von den Bakterien aufgenommen und mit Hilfe von Enzymen verstoffwechselt. Die frei werdende Energie wird von den Zellen für Aufbauprozesse verwendet. Die Spaltung der Substanzen erfolgt anhand einer Effektivitätsrangfolge, d.h., es werden zuerst die Substanzen metabolisiert, die den höchsten Energiegewinn erzielen. Zu den Substanzen, die von den Bakterien zuerst metabolisiert werden gehören die Mono- und Disaccharide, wie Glucose, Fructose, Lactose und Saccharose. Besitzen nun zwei Bakterienspezies ein relativ identisches Enzymsystem, so konkurrieren diese um das Nährstoffangebot. Letztlich entscheidet die individuelle Anpassungsfähigkeit der Organismen, ob sie sich in dem jeweiligen Habitat durchsetzen und dieses dominieren. Die Anpassung erfolgt meist nach dem Verdrängungsprinzip, d.h. der Organismus, der die effizientere Nutzung der Mikronährstoffe besitzt, verdrängt den konkurrierenden Organismus, in dem diesem die zum Überleben notwendigen Nährstoffe entzogen werden. Die effektivere Nutzung der am stärksten limitierten Nährstoffe entscheidet darüber, welcher Organismus sich in dem Medium durchsetzen wird (NEUMEYER 1997).

Fraglich ist jedoch, ob sich das beschriebene Konkurrenzverhalten bzw. Verdrängungsprinzip von Mikroorganismen auf komplexe Nährsubstrate wie z.B. Lebensmittel übertragen lässt. Zum einen werden den Mikroorganismen in den verschiedenen Lebensmitteln durch vorhandene Aminosäuren und Vitamine ausreichend Nährstoffe geboten, zum anderen besitzen die Milchsäurebakterien im allgemeinen einen höheren Nährstoffanspruch als die Begleitflora (LÜCKE 1992).

Bei den von Milchsäurebakterien gebildeten antagonistischen Substanzen, bezüglich ihres Potenzials zur Verlängerung der Haltbarkeit in Lebensmitteln, haben die Säure- und Bakteriozinbildung die größte Bedeutung. Eine Kombination dieser beiden Prinzipien könnte zur Herstellung hygienisch sicherer, gesundheitlich unbedenklicher und sensorisch akzeptabler Produkte beitragen (NEUMEYER 1997).

Bis auf die Milchsäure können die genannten Substanzen auch zu negativen Veränderungen in den Produkten führen. Essigsäure äußert sich in einer Säurenote, die sensorisch als

„kratzig“ beschrieben wird. Diacetyl verursacht in wirksamen Konzentrationen eine schweißartige Geruchsnote, Kohlendioxid hingegen kann zu Lochbildungen führen. Die Produktion von großen Mengen Wasserstoffperoxid kann sich in der negativen Beeinflussung von Farbe und Farbstabilität sowie Fettstabilität (Ranzigkeit) äußern (WEBER 1996).

## 2.5 *Milchsäurebakterien*

Milchsäurebakterien werden als grampositive, nicht sporenbildende, katalasenegative Mikroorganismen beschrieben. Sie gehören zur Ordnung der Laktobazillen, die verschiedene Gattungen und Arten von Milchsäurebakterien beinhalten. Sie bevorzugen einen anaeroben Lebensraum, sind aber aerotolerant.

Der Begriff „Aerotoleranz“ bezeichnet den Sachverhalt, dass die betreffenden Organismen zwar Sauerstoff tolerieren, aber keine aerobe Atmung mit einer an den Elektronentransport gekoppelten ATP- Synthese aus ADP und anorganischem Phosphat betreiben können. Im Gegensatz zu den aerotoleranten Mikroorganismen können fakultativ anaerobe Bakterien, wie z.B. die *Enterobacteriaceae* das für das Wachstum erforderliche ATP mit Hilfe einer aeroben Atmungskette regenerieren. Die Milchsäurebakterien enthalten keine Cytochrome und keine Katalase. Bei letzterer handelt es sich um ein Hämenzym, welches Wasserstoffperoxid in  $O_2$  und  $H_2O$  spaltet. Wegen der fehlenden Katalase wirken hohe  $O_2$ -Konzentrationen zumeist hemmend auf das Wachstum der Milchsäurebakterien. Auf der Oberfläche aerob bebrüteter Agarplatten bilden diese Bakterien zumeist nur kleine, stecknadelkopfgroße Kolonien (BAST 2001).

Die säuretoleranten Milchsäurebakterien produzieren während der Fermentation von Zuckern Milchsäure als überwiegendes Stoffwechselprodukt. Milchsäurebakterien stellen generell einen sehr hohen Anspruch an ihren Lebensraum. Dieser muss sehr nährstoffreich sein, wie er z.B. in Milch, Fleisch, Getränken oder Gemüse zu finden ist (AXELSSON 1998). Natürliche Standorte der Milchsäurebakterien sind Darm und Schleimhäute von Mensch und Tier, sowie Pflanzen, die sich im Zerrottungszustand befinden. Hier stehen nicht nur Gärsubstrate wie Zucker, sondern auch Aminosäuren und Vitamine reichlich zur Verfügung. Die „paradiesische“ Versorgungslage in diesen Biotopen hat dazu geführt, dass diese Bakterien die Erbinformation für viele Enzyme verloren haben. Milchsäurebakterien sind im Gegensatz zu anderen Bakterien auf nährstoffreiche Lebensräume angewiesen, da sie nicht in der Lage sind, Aminosäuren und Vitamine selber herstellen zu können (KEWELOH 2006). Die während der Fermentation durch Milchsäurebakterien hervorgerufene konservierende Wirkung ist seit vielen Jahrhunderten bekannt, wie z.B. die Fermentation von Gemüse, bspw. zu Sauerkraut oder die Säuerung von Milchprodukten. Sie wurde 1857 von dem französischen Chemiker Louis Pasteur entdeckt. Die ersten Versuche zu den mikrobiellen Eigenschaften von Milchsäurebakterien wurden erstmals im Jahre 1873 von dem britischen Mediziner Joseph Lister durchgeführt, ehe sie 1919 von dem dänischen Mikrobiologen Orla-Jensen genauer beschrieben und klassifiziert wurden (De VUYST und VANDAMME 1994). Milchsäurebakterien besitzen eine hohe Bedeutung in der Lebensmittelindustrie, ihre Hauptaufgabe besteht in erster Linie in der Unterdrückung unerwünschter Mikroorganismen. Die Unterdrückung bzw. Hemmung unerwünschter Mikroorganismen wird nicht nur durch die Produktion von wachstumshemmenden Substanzen verursacht, sondern auch durch die Produktion von Milchsäure (De VUYST und VANDAMME 1994).

Die Fermentation von Lebensmitteln mit Hilfe von Milchsäurebakterien durch die Bildung von Milchsäure und anderer organischer Säuren ist durch die gleichzeitige Absenkung des pH-Werts gekennzeichnet. Das Ausmaß bzw. die Anhäufung der produzierten Mikroorganismen

ist vom mikrobiologischen Milieu, der Art des produzierten Organismus, deren chemischer Struktur sowie von den physikalischen Bedingungen während des Fermentationsprozesses abhängig. Während der Fermentation von Milchsäurebakterien entstehen neben organischen Säuren weitere Substanzen mit antimikrobiellen Eigenschaften, wie z.B. Kohlendioxid, Wasserstoffperoxid, Diacetyl und Bakteriozine (GUDMUNDSDÖTTIR 1993).

### 2.5.1 Klassifizierung der Milchsäurebakterien

Die Klassifizierung der Milchsäurebakterien und deren Einteilung in Gattungen haben sich mit der Intensivierung der Erforschung dieses Bakteriums verändert. Neben der klassischen Einteilung der Milchsäurebakterien in Kokken und Stäbchen sind durch die Entdeckung zahlreicher neuer Bakterien differenzierendere Verfahren notwendig geworden. Das wichtigste Einteilungskriterium ist weiterhin die Morphologie der Bakterien, die es zulässt diese in Kokken und Stäbchen einzuteilen (AXELSSON 1998).

Zu den Kokken gehören die Gattungen *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus* und *Enterococcus*. Zu den Stäbchen gehören die Gattungen *Lactobacillus*, *Carnobacterium* und *Bifidobacterium* (De VUYST und VANDAMME 1994).

Eine weitere wichtige Eigenschaft zur Differenzierung der Gattungen, ist der Gärtyp. Unter idealen Bedingungen, d.h. einer hohen Glucosekonzentration, optimalen Wachstumsfaktoren (Vitamine und Aminosäuren), sowie reduzierter Sauerstoffkonzentration, erfolgt die Einteilung in Abhängigkeit von den Stoffwechselprodukten. Die homofermentativen Milchsäurebakterien fermentieren Glucose hauptsächlich zu Milchsäure. Dem gegenüber stehen die heterofermentativen Milchsäurebakterien, die zusätzlich zur Milchsäure, Ethanol, Essigsäure und CO<sub>2</sub> produzieren. Eine weitere genauere Abgrenzung zwischen den einzelnen Gattungen und Arten kann anhand folgender Fähigkeiten erfolgen:

- Wachstum in Abhängigkeit von unterschiedlichen Temperaturen
- Wachstumsfähigkeit bei hohen Salzkonzentrationen
- Toleranz von sauren und alkalischen Milieus
- Form der Isomerisierung (D-, L-Milchsäure)

Trotz der zahlreichen Einteilungskriterien existieren zwischen manchen Gattungen genetische Überschneidungen, wie z.B. in der Gattung *Enterococcus*. Eine exakte Zuordnung zur jeweiligen Gattung bzw. Art ist jedoch mit Hilfe der Basensequenz der ribosomalen RNA möglich. Die Kenntnis über die Zusammensetzung der ribosomalen RNA wird zur Entwicklung gattungs- und artspezifischer Tests genutzt (AXELSSON 1998).

### 2.5.2 Gärungsformen bei Milchsäurebakterien

Die Milchsäurebakterien werden nach ihren Endprodukten in homofermentative und heterofermentative Milchsäurebakterien unterschieden (KEWELOH 2006).

#### 2.5.2.1 Homofermentative Milchsäuregärung

Die homofermentativen Milchsäurebakterien (*Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* und homofermentative *Lactobacillus*) verstoffwechseln Glucose hauptsächlich zu Milchsäure. Der Abbau erfolgt über den Fructosebisphosphat-Weg (Glykolyse) (De VUYST und VANDAMME 1994).

Unter dem Gewinn von zwei Mol ATP werden aus einem Mol Glucose zwei Mol Pyruvat gebildet. Der anfallende Wasserstoff wird bei der Dehydrogenierung von Glycerinaldehyd-3-phosphat auf Pyruvat übertragen (KRÄMER 2002).

Dieser Reaktionsschritt wird durch das Enzym Aldolase katalysiert, einem Enzym der homofermentativen Milchsäurebakterien (De VUYST und VANDAMME 1994).

Pyruvat wird in einer NAD<sup>+</sup>-abhängigen Reaktion mit Hilfe des Enzyms Laktat-Dehydrogenase zu Milchsäure reduziert, während dieser Reaktion wird das zuvor reduzierte NADH<sub>2</sub> wieder zu NAD oxidiert (De VUYST und VANDAMME 1994).

In der Praxis läuft die Verstoffwechslung der Glucose bzw. des Milchzuckers Lactose häufig unter anaeroben Bedingungen ab. Unter diesen Bedingungen wird das Pyruvat zu Lactat reduziert. Dies erfolgt durch das Enzym Lactat-Dehydrogenase in einer NAD<sup>+</sup>-abhängigen Reaktion (AXELSSON 1998).

### 2.5.2.2 Heterofermentative Milchsäuregärung

Die heterofermentativen Milchsäurebakterien (*Leuconostoc* und heterofermentative *Lactobacillus*) besitzen keine Aldolase und keine Triosephosphat-Isomerase. Der Abbau der Glucose erfolgt deshalb nicht über den Fructosebisphosphat-Weg (KRÄMER 2002).

Initiiert wird dieser Stoffwechselweg durch die Oxidation von Glucose-6-Phosphat zu Gluconsäure-6-Phosphat. Aus der sich im nächsten Reaktionsschritt anschließenden Decarboxilierung geht ein Pentosephosphat hervor. Das entstandene Ribulose-5-Phosphat wird mittels einer Epimerase in Xylulose-5-Phosphat umgewandelt. Unter der Einwirkung einer Phosphoketolase entstehen aus dem Xylulose-5-Phosphat ein Triosephosphat (Glycerinaldehyd-3-Phosphat) und ein Acetylphosphat (De VUYST und VANDAMME 1994).

Das Glycerinaldehyd-3-Phosphat wird über den Fructosebisphosphat-Weg zu Milchsäure abgebaut. Das Acetylphosphat wird, falls ein Wasserstoffakzeptor vorhanden ist, unter Energiegewinn zu Essigsäure metabolisiert. Wenn kein Wasserstoffakzeptor zur Verfügung steht, wird das Acetylphosphat mit Hilfe von Acetyl-CoA und Acetaldehyd zu Ethanol reduziert (AXELSSON 1998).

## 2.5.3 Gattungen der Milchsäurebakterien

### 2.5.3.1 Gattungen *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*

Die Gattungen *Enterococcus*, *Lactococcus* und *Streptococcus* wurden früher zu einer Gattung, den *Streptococcus*, zusammengefasst. Die meisten Spezies wurden mit der 16S rRNA-Analyse den einzelnen Gattungen zugeordnet. Die Entwicklung spezifischer Tests dient der eindeutigen Zuordnung der einzelnen Spezies zu den Gattungen.

Weitere Klassifizierungsmöglichkeiten sind die Kohlenhydratfermentation, die Argininhydrolyse und bestimmte Enzymaktivitäten.

Die exakte Zuordnung einiger Spezies in eine bestimmte Gattung ist trotz zahlreicher neuer Untersuchungsmethoden sehr schwierig. Die Zuordnung der einzelnen Spezies zu den jeweiligen Gattungen erfolgt zum Teil willkürlich. In der Gattung *Lactococcus* findet man vorwiegend „nützliche“ *Streptococcus*-Spezies, wo hingegen in der Gattung *Streptococcus* pathogene Arten vorkommen. (AXELSSON 1998).

Die Spezies der Gattungen *Enterococcus*, *Lactococcus* und *Streptococcus* sind grampositive, kokkoide, Bakterien, die aerotolerante bis anaerobe Wachstumsansprüche aufweisen (KRÄMER 2002).

Die einzige *Streptococcus* Spezies, die in der Lebensmittelindustrie Verwendung findet, ist das Bakterium *S. thermophilus*, das bei der Herstellung von Joghurts eingesetzt wird. Aufgrund seiner Hitzeresistenz und der Wachstumsfähigkeit bei Temperaturen von bis zu

---

+52 °C, unterscheidet sich *S. thermophilus* deutlich von anderen *Streptococcus* Spezies (AXELSSON 1998).

Die Gattung *Lactococcus* wird häufig zur Herstellung verschiedener Milchprodukte und zur Aufarbeitung von Silagen eingesetzt. Gegenwärtig sind aus der Gattung *Lactococcus* fünf Spezies bekannt, wobei nur *Lc. Lactis* subsp. *lactis* und *Lc. Lactis* subsp. *cremoris* in der Milchindustrie verwendet werden. Die Bedeutung der Gattung *Enterococcus* ist für die Lebensmitteltechnologie von weitaus geringerem Interesse. Lediglich in bestimmten Käsesorten, die vorwiegend in Südeuropa hergestellt werden, kommen einige Spezies der Gattung *Enterococcus* im Fermentations- und Reifungsprozess zum Einsatz. Die Spezies *E. faecium* und *E. faecalis* werden als Probiotika zur Förderung der Mikroflora des Verdauungssystems und zur Aufbereitung von Silagen eingesetzt (AXELSSON 1998).

### 2.5.3.2 Gattung *Leuconostoc*

Die Gattung *Leuconostoc* wurde ursprünglich zu den heterofermentativen, kokkoiden Milchsäurebakterien gezählt. Das einzige Stoffwechselprodukt aus der Umwandlung von Hexosen ist die D-Milchsäure, die *Leuconostoc*-Arten produzieren weder Ammoniak noch Arginin. Die Separierung der Gattung *Leuconostoc* gegenüber anderen Kokken der Milchsäurebakterien erfolgt aufgrund des heterofermentativen Stoffwechsels. Die Abgrenzung gegenüber der Gattung *Lactobacillus* ist bedingt durch morphologische Unterschiede (AXELSSON 1998).

Gegenwärtig umfasst die Gattung *Leuconostoc* zehn Spezies, wobei die älteste Spezies *Ln. mesenteroides* bereits 1878 von Tsenkovskii beschrieben wurden (De VUYST und VANDAMME 1994).

Einige *Leuconostoc*-Arten produzieren signifikante Mengen Diacetyl aus den Citraten, die in der Milch enthalten sind. Diese Fähigkeit wird in der Milchindustrie mit der Spezies *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* angewendet. Bei der Fermentation von Sauerkraut besitzen die *Leuconostoc*-Arten ebenfalls eine wichtige Funktion, da sie häufig die Milchsäuregärung initiieren (AXELSSON 1998).

Die Spezies *Ln. carnosum* wird häufig mit dem Verderb von vakuumverpacktem Fleisch in Verbindung gebracht. *Ln. carnosum* ist ein anaerobes, kältetolerantes Bakterium, das die Fähigkeit besitzt, bei niedrigen Temperaturen von +1 - +4 °C zu wachsen. Die Wachstumsfähigkeit bei niedrigen Temperaturen führt häufig zu einer Dominanz gegenüber anderen Bakterien, deren Wachstum eingeschränkt oder gehemmt ist. *Ln. carnosum* 4010 produziert ein wirksames Bakteriozin, welches das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen, wie z.B. *Listeria monocytogenes* hemmt (FEINER 2006).

### 2.5.3.3 Die Gattung *Lactobacillus*

Vertreter der Gattung *Lactobacillus* sind homo- oder heterofermentative Stäbchenbakterien, die als Einzelzellen, aber auch in Form von Zellketten vorkommen können. Man findet sie in den Ausführgängen der Milchdrüsen, in Sauermilchprodukten, im Dickdarm der Warmblüter und in gärendem pflanzlichem Material, wie z.B. Sauerkraut, Sauerteig, Silage, u.a..

---

Die Gattung umfasst drei physiologisch definierte Untergruppen:

- Obligat homofermentative Bakterien
  - *L. acidophilus*
  - *L. delbrueckii* var. *bulgarius*
  - *L. delbrueckii* var. *lactis*
  - *L. helveticus*
  - u.a.
  
- Fakultativ heterofermentative Bakterien
  - *L. casei*
  - *L. intestinalis*
  - *L. plantarum*
  - *L. sakei*
  - u.a.
  
- Obligat heterofermentative Bakterien
  - *L. brevis*
  - *L. buchneri*
  - *L. kefir*
  - *L. vaginalis*
  - u.a.

Diese Gruppierung stimmt allerdings nicht mit der Unterteilung aufgrund molekularbiologischer Daten in Form der Basensequenzen der 16S rRNA überein. Es existieren Überschneidungen mit anderen phänotypisch definierten Gattungen, wie z.B. *Pediococcus* und *Leuconostoc* (De VUYST und VANDAMME 1994).

Auf der Basis der 16S rRNA- Sequenzen ergibt sich folgende Gruppierung:

- *L. delbrueckii*- Gruppe
- *L. casei*- *Pediococcus*- Gruppe
- *Leuconostoc*- Gruppe

#### 2.5.3.4 Gattung *Bifidobacterium*

Die Gattung der Bifidobakterien gehört zu den grampositiven, unbeweglichen, nicht sporulierenden Stäbchenbakterien. Bifidobakterien werden zu den Milchsäurebakterien gezählt. Phylogenetisch stehen sie mit der Ordnung nicht in näherer Verbindung (vgl. BALLONGUE 1998).

Die Klassifizierung der Bifidobakterien ist noch sehr unzureichend, da sie in großer Anzahl vertreten sind. Das ubiquitäre Vorkommen der Bifidobakterien erstreckt sich über die tierischen und menschlichen Faeces, den Pansen von Rindern, sowie über Abwässer und Karies (De VUYST und VANDAMME 1994).

Bifidobakterien sind anaerobe Mikroorganismen. Das Ausmaß der Sauerstofftoleranz ist abhängig von der Spezies und dem Kulturmedium. Die physiologische Klassifizierung der Bifidobakterien lässt sich durch die Veränderung der Stoffwechselbedingungen, d.h. dem Wechsel zwischen einer Anaerobiose und aeroben Bedingungen, ermitteln.

Daraus lassen sich nach BALLONGUE (1998) drei verschiedene Wachstumsarten ableiten:

- Aerobes Wachstum ohne die Anhäufung von  $H_2O_2$ : Der Stamm *B. bifidum* ist relativ aerotolerant und produziert mittels NADH-Oxidation geringe Mengen Wasserstoffperoxid.
- Begrenztes Wachstum mit der Anhäufung von  $H_2O_2$ : Die Anhäufung von Wasserstoffperoxid führt zur Hemmung des Schlüsselenzyms Fructose-6-Phosphat Phosphoketolase (F6PPK) im Bifidum-Stoffwechselweg.
- Kein Wachstum ohne die Anhäufung von  $H_2O_2$ : Die Versuchsstämme benötigen für das Wachstum und die Fermentation ein niedriges Redoxpotenzial.

Die Fermentation von Hexosen durch Bifidobakterien verläuft über einen speziellen Stoffwechselweg, dem das Schlüsselenzym Fructose-6-Phosphatase Phosphoketolase angehört (De VUYST und VANDAMME 1994).

Der Abbau der Hexosen führt über Phosphorsäureester, Erythrose, Glycerinaldehyd und Pentosen. Das Schlüsselenzym ist an der Spaltung des Fructose-6-Phosphats zu Acetylphosphat beteiligt, das unter ATP-Gewinn zu Acetat umgewandelt wird. Das daneben entstehende Glycerinaldehyd-3-Phosphat wird über den Embden-Meyerhof-Weg zu Milchsäure abgebaut. Der Phosphatrest des Acetylphosphat wird auf das Adenosindiphosphat (ADP) unter Bildung von Adenosintriphosphat (ATP) übertragen (BALLONGUE 1998).

Dieser Stoffwechselprozess dient gleichzeitig zur Identifizierung von Bifidobakterien, durch den Nachweis des Schlüsselenzyms Fructose-6-Phosphatase Phosphoketolase. Die Identifizierung des Schlüsselenzyms erfolgt durch eine Farbreaktion, bei der Zellextrakte eingefärbt werden oder mittels einer Stärkegelelektrophorese (De VUYST und VANDAMME 1994).

Der aktuelle Einsatz von Bifidobakterien in fermentierten Milchprodukten beruht auf deren probiotischen Eigenschaften. Einige Vertreter der Bifidobakterien sind resistent gegenüber der Magensäure, so dass die Bakterien, die den Darm erreichen, probiotisch wirken können (BALLONGUE 1998).

### 2.5.3.5 Gattung *Pediococcus*

*Pediococcus*-Arten sind säuretolerante und homofermentative, fakultativ anaerobe Milchsäurebakterien, die eine grampositive, tetraederförmige Zellstruktur aufweisen.

Zur Gattung *Pediococcus* zählen acht Spezies: *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. parvulus*, *P. dextrinicus*, *P. damnosus*, *P. inopinatus*, *P. halophilus* und *P. urinaeequi*, wobei der taxonomische Status und somit die Zuordnung der beiden letzten Spezies unsicher ist (SIMPSON et al. 2002).

Eine Differenzierung von *Pediococcus* ssp. auf Basis der phänotypischen Merkmale wie z.B. der Verwertung von Zuckern und anderen Substraten, ist verhältnismäßig schwierig und oft sehr ungenau (BACK und STACKEBRANDT 1978).

Aufgrund der Ergebnisse einer DNS/DNS-Homologie-Studie von BACK und STACKEBRANDT (1978) innerhalb der Gattung *Pediococcus* wurden die Spezies *P. halophilus* und *P. urinaeequi* aus der Gattung ausgeschlossen.

BACK und STACKEBRANDT (1978) konnten nachweisen, dass bei beiden Spezies im Peptidoglycan (L-Lys-direkt-Typ) keine Asparaginsäure nachweisbar ist. Bei allen anderen Spezies der Gattung *Pediococcus* konnte im Peptidoglycan Asparaginsäure nachgewiesen werden (L-Lys-Asp-Typ). *Pediococcus parvulus* zeigte keine genetische Verwandtschaft zu den übrigen Arten. Eine entfernte Verwandtschaft besteht dagegen zu der bierschädigenden Spezies *P. damnosus*.

Auf Stammebene können bei verschiedenen Spezies der Gattung *Pediococcus* Unterschiede bezüglich der Vergärung von Kohlenhydraten und des Stoffwechselmetabolismus beobachtet werden.

BACK und STACKEBRANDT (1978) untersuchten 5 Stämme von *Pediococcus pentosaceus* (DSM 20280, DSM 20281, DSM 20282, DSM 20283 und DSM 20336) und konnten nachweisen, dass diese bezüglich der Vergärung von Arabinose, Xylose, Rhamnose, Trehalose, Lactose, Saccharose, Melibiose, Raffinose, Salicin und Amygdalin unterschiedliche Eigenschaften aufweisen.

Zwei Stämme (DSM 20285 und DSM 20287) der *Pediococcus* ssp. (Gruppe IV a) unterscheiden sich in der Verwertung von alpha-Methylglucosid und Dextrin, produzieren Aceton und haben zudem andere Wachstumsansprüche (+37 °C). Außerdem tolerieren sie Salzkonzentrationen von bis zu 6 %.

*Pediococcus damnosus*, der aus Bierhefe isoliert wurde, zeigte Unterschiede in der Vergärung von Galaktose, Maltose, Trehalose, Saccharose, Melezitose, Maltotriose, alpha-Methylglucosid, Salicin und Amygdalin.

*Pediococcus dextrinicus* (DSM 20335) nimmt eine besondere taxonomische Stellung ein. Dieser Stamm bildet bei der Verwertung von Kohlenhydraten reines L-Lactat. Die meisten anderen Pediokokken, mit Ausnahme von *Pediococcus halophilus*, bilden D/L-Lactate. Bei *Pediococcus dextrinicus* (DSM 20335) ist das Enzym L-Lactat-Dehydrogenase im Gegensatz zu allen anderen *Pediococcus*-Spezies mit Fructose-1,6-di-Phosphat aktivierbar. Auffällig ist zudem die schnelle und kräftige Verwertung von Stärke und Dextrin.

*Pediococcus halophilus* toleriert im Medium eine NaCl-Konzentration von max. 20 %. Der Stamm (DSM 20339) zeigt Unterschiede in der Verwertung von Lactose, Melibiose, Raffinose, Mannit und Sorbit. Bis auf *Pediococcus halophilus* vergären alle anderen Spezies der Gattung *Pediococcus* Arabinose und Ribose.

In Lebensmitteln führt der Einsatz von *Pediococcus*-Spezies überwiegend zu positiven und erwünschten Produkteigenschaften (AXELSSON 1998).

Aus diesem Grund wird z.B. *P. acidilactici* häufig als Starterkultur zur Herstellung von Rohwürsten wie z.B. Salami eingesetzt. Während der Fermentation von Glucose, Mannose und Fructose produziert *P. acidilactici* überwiegend Milchsäure (FEINER 2006).

Auch bei der Aufbereitung von Silagen sowie im Reifungsprozess von Käse werden *Pediococcus* ssp. häufig eingesetzt (AXELSSON 1998).

Einige *Pediococcus* ssp. können jedoch auch zu unerwünschten Veränderungen im Produkt führen. *Pediococcus damnosus* ist als Ursache für den Verderb von Bier bekannt, da sein Wachstum zur Produktion von Diacetyl führt, dass als Butteraroma im Bier sensorisch wahrnehmbar ist (AXELSSON 1998, DOBSON et. al. 2002).

#### **2.5.4 *Pediococcus acidilactici***

Die Spezies *Pediococcus acidilactici*, die erstmals aus dem Gastrointestinaltrakt von Geflügel isoliert wurde, zählt zu den bedeutendsten Starterkulturen in der Lebensmittelindustrie und ist verhältnismäßig ausführlich erforscht, da sie in vielen lebensmitteltechnischen Prozessen verwendet wird, wie z.B. bei der Fermentation von Gemüsen, Fruchtsäften, Teigen und Fleisch.

Es gibt jedoch eine Vielzahl an *P. acidilactici*-Stämmen, die noch nicht abschließend untersucht worden sind (SIMPSON et al. 2002).

Einige *P. acidilactici* Stämme fermentieren unterschiedliche Zucker. Die Stämme Pdi11 und PG fermentieren im Medium L-Arabinose. Die Stämme PAC1.0, Psp2, F, JD1-23, UL5, PAC 750F, LMG 17680 und LMG 17692 fermentieren zudem Sucrose, wobei die beiden

letztenannten Stämme auch Melibiose und Raffinose verwerten. Inositol, Sorbose, Maltose, Lactose oder D-Melezitose werden dagegen von keinem dieser Stämme fermentiert.

Nicht nur wegen der Bildung von Milchsäure, sondern auch wegen der Fähigkeit, Bakteriozine zu bilden, wird *Pediococcus acidilactici* eine besondere Bedeutung bei der Lebensmittelkonservierung zugesprochen (MORA et al. 2000).

Ein in vielen Studien ausführlich beschriebenes Bakteriozin des Stammes *P. acidilactici* ist AcH/PA-1. Dieses Bakteriozin wirkt gegen ein weites Spektrum von grampositiven Bakterien wie z.B. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* und *Clostridium botulinum* (BHUNIA et al. 1988 und 1991, HENDERSON et al. 1992 MOTLAG et al. 1994, OKEREKE und MONTVILLE 1992, PUCCI et al. 1988).

Im Bereich der Lebensmittelkonservierung trugen diese Erkenntnisse wesentlich dazu bei, umfangreiche Studien bezüglich der Produktion und des Einsatzspektrums von AcH/PA-1 durchzuführen (STILES et al. 1996).

#### 2.5.4.1 Bakteriozin AcH/PA-1 (Pediocin PA-1)

Die notwendigen Gene für die Produktion von Pediocin PA-1 sind im Operon organisiert und befinden sich auf dem 9,4 kb Plasmid (pSRQ11) von *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 (VENEMA et al. 1995).

Bei dem Bakteriozin handelt es sich um ein Polypeptid, das keine Proline, Phenylalanine, Leukine und Glutamate in seiner Molekülstruktur enthält und ein Molekulargewicht von 16,5 kDa aufweist (OSMANAGAOGU 1998).

Pediocin PA-1 besteht aus 44 aromatischen sowie aliphatischen Aminosäuren mit 2 Disulfid-Bindungen und ist aufgrund seiner Struktur positiv geladen und somit sehr hydrophob (MICHAEL et al. 1993).

HENDERSON et al. (1992) konnten in Versuchen mit PA-1 beobachten, dass das Bakteriozin nicht nur auf grampositive Bakterien wie z.B. *L. monocytogenes* antagonistisch wirkt, sondern auch auf Gattungsebene der Milchsäurebakterien wie z.B. *Lactobacillus* ssp., *Pediococcus* ssp. und *Leuconostoc* ssp. inhibierende Eigenschaften entfaltet. Der Stamm *Pediococcus acidilactici* (25742) wird vom PA-1 gehemmt.

BHUNIA et al. (1991) beschreiben, dass die mikrobiziden Eigenschaften von AcH/PA-1 vom pH-Wert des Mediums, der Salz- und Phosphatkonzentration und der Struktur der Targetproteine abhängig sind. Sie untersuchten in einer Studie mit dem Indikatorstamm *Lactobacillus plantarum* (NCDO 955) die Abhängigkeit der Bakteriozinaktivität vom pH-Wert des Mediums und konnten beobachten, dass *Lactobacillus plantarum* bei einem pH-Wert von ca. 6,00 ein Absorptionsoptimum für AcH aufweist. Bei pH-Werten, die oberhalb von 9,00 bzw. unterhalb von 4,00 lagen, reduzierte sich die Absorptionsrate um ca. 40 %. Zudem konnten die Autoren nachweisen, dass die inhibierende Wirkung von AcH mit zunehmender Salz- bzw. Phosphatkonzentration nachlässt. Natriumacetate, Ammoniumcitrate Natriumhydrogencarbonate und Ferritine beeinflussten die Bakteriozinaktivität dagegen nicht. Unterschiedliche Konzentrationen an Serumalbumin und Trypticase-Casein beeinflussten die Absorption in die Zellen ebenfalls nicht.

#### 2.5.5 Milchsäurebakterien als Schutzkulturen in Fleischerzeugnissen

Zum Einsatz von Schutzkulturen in Fleischprodukten gibt es zahlreiche veröffentlichte Studienergebnisse. Viele Autoren haben die protektiven Wirkungen von Milchsäurebakterien beschrieben, bzw. die Wirkung von antagonistischen Substanzen, die von Milchsäurebakterien gebildet werden. Die folgenden diesbezüglichen Veröffentlichungen

ermöglichen einen Einblick in aktuelle Forschungsgebiete. Die meisten der Veröffentlichungen beziehen sich auf die Inhibierung von *Listeria* ssp. in Fleischprodukten, teilweise wurden aber auch Antagonismen gegen andere verderbniserregende und humanpathogene Mikroorganismen untersucht und beschrieben.

#### 2.5.5.1 *E. faecium*

TOMÈ et al. (2008) konnten in ihren Lagerungsversuchen mit kalt-geräucherten und vakuumverpackten Lachsen beobachten, dass eine Inokulation von *E. faecium* in Höhe von  $5 - 6 \log_{10}$  KbE/g eine signifikante Reduzierung der initialen Listerienzahlen ( $5 \log_{10}$  KbE/g) in den Proben bewirkt. Zwischen den inokulierten und den Kontrollproben konnten am Ende der Lagerung Differenzen von ca.  $4,5 \log_{10}$  KbE/g Listerien nachgewiesen werden. Die Bakteriozinaktivität wurde durch die Inokulation zellfreier Überstände von *E. faecium* ET05 nachgewiesen. Diese wurden nach 0, 3 und 5 Stunden in Listerien-Suspensionen inokuliert und zu jedem Inokulationszeitpunkt konnte in den Suspensionen eine Reduktion der Listerien-Zelldichte bis auf die initiale Zellzahl von 0,10 (OD 600nm) beobachtet werden. Damit konnten TOMÈ et al. (2008) deutliche bakterizide Effekte von *E. faecium* gegen *L. innocua* nachweisen.

#### 2.5.5.2 *Lb. alimentarius*

ANDERSON et al. (1997) beschreiben die antagonistische Auswirkungen einer Inokulation von *Lactobacillus alimentarius* auf coliforme Bakterien und *Brochotrix thermosphacta* bei der Lagerung von frischem Hackfleisch (+5 °C) und grober Mettwurst (+5 bzw. +20 °C) unter Vakuum bzw. aerober Atmosphäre. Am Ende der Lagerung konnten zwischen den verschiedenen Proben, unabhängig von den Lagerungsatmosphären und -temperaturen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen von *Lactobacillus alimentarius* festgestellt werden. Durch die Inokulation von *Lactobacillus alimentarius* konnte bei *Brochotrix thermosphacta* über den Verlauf der 8-tägigen Kühllagerung von frischem Hackfleisch eine Reduktion der initialen Keimzahl von  $10^5$  KbE/g um  $0,5 \log_{10}$  KbE/g beobachtet werden. Bei aerob gelagerten Mettwürsten (+5 °C) konnte eine Reduktion der coliformen Bakterien um  $0,5 \log_{10}$  KbE/g beobachtet werden, von anfänglich  $8 \cdot 10^3$  KbE/g auf ca.  $3 \cdot 10^3$  KbE/g am Ende der Lagerung. Bei +20 °C und unter Vakuum reduzierten sich die nachgewiesenen Keimzahlen, im Gegensatz zu den Kontrollproben ( $5 \cdot 10^3$  KbE/g) und den aerob gelagerten Proben ( $5 \cdot 10^4$  KbE/g), bis zum Ende der Lagerung auf Werte von ca.  $4 \cdot 10^2$  KbE/g. Die beschriebenen Ergebnisse belegen eine deutlich bakterizide Wirkung der Schutzkultur *Lactobacillus alimentarius* auf coliforme Bakterien und eine bakteriostatische Wirkung auf *Brochotrix thermosphacta* (ANDERSEN et al. 1997).

LEMAY et al. (2002) untersuchten in einem moderat gesäuerten Hähnchenfleisch-Modell ebenfalls die antagonistische Wirkung von *Lactobacillus alimentarius* auf das Wachstum von *Escherichia coli* ATCC 25922 und *Brochotrix thermosphacta* CRDAV 452 über den Verlauf der Lagerung bei +20 °C. In den Proben konnte durch eine Co-Inokulation von *Lactobacillus alimentarius* ( $10^5$  KbE/g) und der Indikatororganismen ( $10^5$  bzw.  $10^6$  KbE/g) eine kontinuierliche Reduzierung der Keimzahlen von *E. coli* ( $10^2$  KbE/g) bis zum Ende der Lagerung bewirkt werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von ANDERSEN et al. (1997) konnten jedoch bezüglich der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl und der Keimzahlen von *Brochotrix thermosphacta* im Vergleich mit den Kontrollproben keine inhibierenden Auswirkungen von *Lactobacillus alimentarius* beobachtet werden. Den Grund hierfür sehen

die Autoren in der zu niedrigen initialen Keimzahl von  $10^5$  KbE/g *Lactobacillus alimentarius*. Für eine signifikante Reduzierung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl und der Keimzahlen von *Brochotrix thermosphacta* in den Proben hätte, wie bei ANDERSEN et al. (1997), eine initiale Keimzahl von mindestens  $10^6 - 10^7$  KbE/g *Lactobacillus alimentarius* inokuliert werden müssen (LEMAY et al 2002).

### 2.5.5.3 *Lb. curvatus*

NEUMEYER et al. (1997) beschreiben starke bakterizide Aktivitäten von *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 (Bac.<sup>+</sup>) gegen *Listeria innocua* DSM 20649 in gelagerten Fleischerzeugnissen und beobachteten, dass sich die initial-inokulierten Listerienzahlen von  $10^4$  KbE/g durch die Inokulation der Proben mit LTH 1174 innerhalb von vier Tagen unter die Nachweisgrenze von  $10^2$  KbE/g reduzieren ließen (NEUMEYER et al. 1997).

Auch CASTELLANO et al. (2006) konnten beobachten, dass die Inokulation von *Lactobacillus curvatus* CRL705 (Bac.<sup>+</sup>) bzw. der von ihm metabolisierten Lactocine 705 und AL705 die Inhibition von *Listeria innocua* und *Brochotrix thermosphacta* in vakuumverpacktem kühlgelagertem Rindfleisch bewirkt. In den beschriebenen Versuchen wurde die Fleischoberfläche mit ca.  $10^3$  KbE/cm<sup>2</sup> *Listeria innocua* und *Brochotrix thermosphacta*, sowie mit  $10^6$  KbE/cm<sup>2</sup> *Lactobacillus curvatus* CRL705 inokuliert, um Bakteriozinkonzentrationen (Lactocin 705 bzw. Lactocin AL705) von 2,8 µmol/l bzw. 6400 AU/ml im Produkt zu erreichen. Die Autoren konnten beobachten, dass die natürliche psychrotrophe Keimflora in Folge der Bakteriozinbildung, verglichen mit den Kontrollproben, um ca.  $2 \log_{10}$  KbE/cm<sup>2</sup> reduziert wurde. Die Keimzahlen der inokulierten Listerien stagnierten in Folge der Bakteriozinbildung in den Proben auf dem initialen Niveau, im Vergleich dazu wurde in den Kontrollproben nach 36 Tagen ein Anstieg der initialen Keimzahlen um ca.  $3 \log_{10}$  KbE/cm<sup>2</sup> Listerien beobachtet. Bezüglich des Nachweises von *Brochotrix thermosphacta* konnte festgestellt werden, dass sowohl *Lactobacillus curvatus* CRL705 als auch Lactocin 705 zu einer Reduzierung der nachgewiesenen Keimzahlen von anfänglich  $6,4 \cdot 10^2$  auf  $2,1 \cdot 10^1$  KbE/cm<sup>2</sup> führten. Im Vergleich zu den Kontrollproben ergab sich eine Differenz von ca.  $4 \log_{10}$  KbE/cm<sup>2</sup> an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta*. Die Bakteriozin-Aktivität von *Lactobacillus curvatus* CRL705 war erst nach 7 Tagen signifikant nachweisbar und nach 14 Tagen erreichte sie dasselbe Niveau, wie in den mit purem Bakteriozin behandelten Proben. Die geringere Bakteriozin-Aktivität in den ersten 14 Tagen erklärt sich durch die Adaptation der Kultur an das Produkt. In den Kontrollproben ohne *Lactobacillus curvatus* CRL705 und Bakteriozine konnte keinerlei inhibitorische Aktivität festgestellt werden. Die pH-Wert-Messungen in den Proben ergaben keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Proben. In der Kontrollprobe wurde nach 36 Tagen ein pH-Wert von 5,5 ermittelt. Die Werte der anderen Proben lagen zwischen 5,4 (*B. thermosphacta*) und 5,48 (*Lactobacillus curvatus* CRL705). Die Autoren beschreiben, dass in dieser Studie eindeutig die inhibierenden Effekte von *Lactobacillus curvatus* CRL705 bzw. von Lactocin 705 bestätigt werden konnten und die Kultur aus diesem Grund ein hohes protektives Potenzial aufweist, Kontaminationen durch *Listeria monocytogenes*, *Brochotrix thermosphacta* und psychrotrophe Milchsäurebakterien in frischen Fleischerzeugnissen, die bei +2 °C gelagert werden, zu verhindern.

Auch METAXOPOULOS et al. (2002) beschreiben Bakteriozin-induzierte Effekte von *Lactobacillus curvatus* L442 auf das Wachstum von *B. thermosphacta* in vakuumverpackten Fleischprodukten. In Kombination mit weiteren Hürden, wie z.B. Kühlung unter Vakuum bzw. unter modifizierter Atmosphäre, verspricht die Anwendung der Kultur eine

mikrobiologische Stabilität und Sicherheit der zu lagernden Produkte (CASTELLANO et al. 2006).

TOMÈ et al. (2008) untersuchten die inhibierenden Auswirkungen von *Lactobacillus curvatus* ET06 und *Lactobacillus curvatus* ET30 auf das Wachstum von *Listeria innocua* 2030c in vakuumverpackten, kalt-geräucherten Lachsen. Über den Verlauf der 3-wöchigen Lagerung bei +5 °C wurden das Wachstum der inokulierten Listerien, die pH-Werte der Produkte, sowie die Bakteriozinaktivität der Inokuli überprüft. Die initialen Zellkonzentrationen der inokulierten Milchsäurebakterien lagen in allen Proben zwischen 5 und 6 log<sub>10</sub> KbE/g und stiegen bis zum Ende der Lagerung auf Konzentrationen von ca. 9 log<sub>10</sub> KbE/g an, unabhängig davon, ob die Proben mit *L. innocua* inokuliert waren, oder nicht. Die initiale Keimzahl der Listerien lag in allen untersuchten Proben bei ca. 5 log<sub>10</sub> KbE/g. Am Ende der Lagerung konnten die Autoren in den Kontrollproben ca. 7 log<sub>10</sub> KbE/g Listerien nachweisen. In den mit *L. curvatus* ET06 inokulierten Proben blieben die Keimzahlen über den Verlauf der Lagerung relativ konstant bei ca. 4 log<sub>10</sub> KbE/g. Die Zahl der nachgewiesenen Listerien in den mit *L. curvatus* ET30 inokulierten Proben sank bis zum Ende der Lagerung auf ca. 3,5 log<sub>10</sub> KbE/g.

In Versuchen mit Schweinehackfleisch konnten HUGAS et al. (1998) vergleichbare Ergebnisse erzielen. Auch sie konnten bei der Kühlung der inokulierten Proben deutliche bakteriostatische Effekte von *L. curvatus* auf Listerien beobachten.

TOMÈ et al. (2008) bestätigten diese Beobachtungen durch Versuche mit zellfreien Überständen der Milchsäurebakterien, durch welche die Bakteriozinaktivität der untersuchten Stämme gegen *L. innocua* bewiesen werden konnte. Die zellfreien Überstände wurden jeweils nach 0, 3 und 5 Stunden in Listerien-Suspensionen inokuliert. Die Zugabe der zellfreien Überstände von *L. curvatus* ET06 verringerte zu jeder Zeit die Zelldichte der Listerien bis auf die initiale Zellzahl von 0,10 (OD 600nm). Damit ließen sich deutliche bakterizide Effekte gegen *L. innocua* nachweisen. *L. curvatus* ET30 zeigte ebenfalls deutliche bakterizide Effekte. Die finale Zelldichte der Listerien lag, unabhängig vom Zeitpunkt der Inokulation, in diesen Versuchen bei ca. 0,20 (TOMÈ et al. 2008).

#### 2.5.5.4 *Lb. plantarum*

ENAN et al. (2006) untersuchten die antilisterielle Wirkung von *Lactobacillus plantarum* UG1 bzw. Plantaricin UG1 in rohem und gekochtem Putenfleisch sowie in Hähnchen- bzw. Putenmortadella und beschreiben, dass durch eine Co-Inokulation von *Lactobacillus plantarum* UG1 bzw. Plantaricin und *Listeria monocytogenes* LMG10470 in den Proben über den Verlauf der Lagerung stark bakterizide Effekte beobachtet werden konnten. Bei Inokulationsmengen von 10<sup>7</sup> KbE/g *Lactobacillus plantarum* UG1 bzw. 8200 AU/ml Plantaricin konnten die initialen Listerienzahlen innerhalb von 3 - 4 Tagen bis unter die Nachweisgrenze reduziert werden. Allerdings konnten in den mit Bakteriozin behandelten Proben nach 1 Woche erneut Listerien nachgewiesen werden, so dass es offensichtlich nur zu einer subletalen Schädigung der Population kam. Zudem nehmen die Autoren an, dass es zu einer Inaktivierung des Bakteriozins durch die Listerien kam, bzw. dass das Bakteriozin von den Fleischfasern adsorbiert wurde (VIGNOLO et al. 2000; BOUTTEFORNY und MILLIERE 2000). Dennoch geht von Plantaricin eine protektive Wirkung hinsichtlich der Kontrolle und Inhibierung von Listerien in den untersuchten Produkten aus. Die antilisterielle Wirkung von *Lactobacillus plantarum* UG1 lässt sich den Untersuchungsergebnissen zu Folge auf das Bakteriozin zurückführen und nicht auf in diesem Zusammenhang viel diskutierte andere Metabolite von Milchsäurebakterien, wie z.B. organische Säuren. Die Problematik der durch Listerien verursachten Inaktivierung des Bakteriozins könne durch

eine Kombination von Nisin und Plantaricin UG1 entgegengewirkt werden, da Nisin ebenfalls starke antilisterielle Eigenschaften aufweist und eine Wiederbesiedlung nach erfolgter Inaktivierung von Listerien verhindert (ENAN et al. 2006).

#### 2.5.5.5 *Lb. reuteri*

MUTHUKUMARASAMY et al. (2007) untersuchten inhibitorische Effekte von *Lactobacillus reuteri* (ATCC 55730) in Kombination mit den kommerziellen Fleisch-Starter-Kulturen *Pediococcus pentosaceus* (UM 166P) und *Staphylococcus carnosus* (UM 110M) auf *E. coli* O157:H7 in luftgetrockneten Würstchen, die mit einem Cocktail aus 5 nicht-pathogenen, Verotoxin-negativen *E. coli* O157:H7-Stämmen in Höhe von  $7,4 \log_{10}$  KbE/g inokuliert wurden. Die Fleisch-Starter-Kulturen sowie *Lb. reuteri* wurden in verschiedenen Kombinationen in Höhe von ca.  $7 \log_{10}$  KbE/g inokuliert. Die Autoren konnten beobachten, dass sich die pH-Werte der Würste nach 72 Stunden auf stabile Werte von 4,9 reduziert haben. Die  $a_w$ -Werte der Proben reduzierten sich von anfänglich 0,983 auf Werte von 0,868 – 0,877. Zwischen den verschiedenen Proben und den Kontrollproben konnten bezüglich dieser Parameter keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die ermittelten Keimzahlen von *P. pentosaceus* betragen nach 27 Tagen zwischen 6,77 und  $7,02 \log_{10}$  KbE/g. Die Keimzahlen von *S. carnosus* reduzierten sich bis zum Ende der Lagerung, verglichen mit der Anfangskeimzahl, um ca.  $3 \log_{10}$  KbE/g. Die Keimzahlen von *Lb. reuteri* reduzierten sich ebenfalls auf Werte von  $4,66 \log_{10}$  KbE/g. Die Keimzahlen von *E. coli* reduzierten sich in den Kontrollproben mit *P. pentosaceus* und *S. carnosus* nach dem Räuchern um  $1 \log_{10}$  KbE/g und bis zum Ende der Trocknung um weitere  $0,7 \log_{10}$  KbE/g. Diese Reduzierung der Keimzahl nach Fermentation und Trocknung konnten auch andere Autoren in ihren Studien feststellen (HINKENS et al. 1996, RIORDAN et al. 1998). In den Proben mit *Lb. reuteri* konnte eine Reduktion um  $3 \log_{10}$  KbE/g festgestellt werden.

Ähnliche Ergebnisse haben auch PIDCOCK et al. (2002) beschrieben, die durch die Verwendung kommerzieller Starterkulturen (*P. pentosaceus*) ebenfalls keine signifikanten Reduktionen der *E. coli* im Produkt feststellen konnten. Die Inokulation von *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei* und *B. lactis* in Kombination mit *P. pentosaceus* bewirkte bei  $+25$  °C jedoch innerhalb von 7 Tagen eine signifikante Reduktion der Keimzahlen von mehr als  $2,5 \log_{10}$  KbE/g. Durch eine Co-Inokulation von *Lb. reuteri* und Fleisch-Starter-Kulturen konnten sie ebenfalls signifikante Reduktionen der Keimzahlen an *E. coli* von mehr als 1,3 log-Stufen beobachten. Die Lagerung bei  $+4$  -  $+13$  °C bewirkte eine weitere Reduktion der nachgewiesenen *E. coli* in den Würsten, bei  $+25$  -  $+37$  °C Lagerungstemperatur konnten jedoch noch stärkere Reduktionen der im Produkt befindlichen *E. coli* nachgewiesen werden, so dass deren Keimzahlen am Ende der Lagerung teilweise unter der Nachweisgrenze lagen. Diesbezüglich veröffentlichten FAITH et al. (1998) und NISSEN et al. (1998) ähnliche Ergebnisse. Auch sie konnten beobachten, dass eine Lagerung der Produkte oberhalb von  $+20$  °C stärkere Reduktionen von *E. coli* bewirkt, als bei niedrigeren Temperaturen. Allerdings bewirken höhere Lagerungstemperaturen auch eine erhöhte oxidative Ranzigkeit der Produkte und somit eine Verkürzung der Haltbarkeit (STIEBING et al. 1999). Die starke Reduktion der *E. coli* in den Produkten begründen die Autoren mit der Bildung von Reuterin, einer von *Lb. reuteri* produzierten inhibitorischen Substanz. Zusammen mit der Salzkonzentration und der Milchsäure in den Produkten ergeben sich synergistische Effekte bezüglich der Reduzierung von *E. coli* und *L. monocytogenes*. Diese mikrobiziden Effekte von Reuterin sind in rohem Fleisch noch ausgeprägter, da die Trocknung der Würste und die relativ hohen Salz- und Milchsäurekonzentrationen stressinduzierte Reuterin-Resistenzen der *E. coli* in den Produkten bewirken können. In Kombination mit anderen Starterkulturen

angewendet, verspricht die Kultur eine starke Reduzierung der Belastung von Fleischprodukten mit *E. coli* O157:H7 (MUTHUKUMARASAMY et al. 2007).

#### 2.5.5.6 *Lc. lactis*

Bei der Untersuchung der antagonistischen Eigenschaften von Milchsäurebakterien gegen verschiedene Indikatorstämme sind von JONES et al. (2008) 6 Stämme isoliert worden, bei denen Antagonismen gegen einen oder mehrere humanpathogene und verderbniserregende Mikroorganismen festgestellt wurden. Der als *Lactococcus lactis* 75 identifizierte Stamm inhibierte in den untersuchten Fleischprodukten deutlich *Listeria monocytogenes*, *C. estertheticum* und *C. jejuni* und zeigte als einziges der untersuchten Isolate Antagonismen gegen *B. thermosphacta*, welcher durch mehrere hitzestabile und proteasesensitive zellfreie Filtrate von *Lc. lactis* 75 inhibiert wurde. Die bakterizide Aktivität von *Lc. lactis* ist auf die Nisinproduktion zurückzuführen. Den Autoren zu Folge hat *Lc. lactis* 75 das protektive Potenzial, als Schutzkultur eingesetzt zu werden, da er in den Versuchen gleich gegen mehrere Zielorganismen (*L. monocytogenes*, *B. thermosphacta*, *C. estertheticum* und *C. jejuni*) inhibitorische Substanzen gebildet hat (JONES et al. 2008).

Auch ELSSER et al. (1997) konnten bei Versuchen mit Brühwürsten Antagonismen von *Lactococcus lactis* ssp. gegen verschiedene Mikroorganismen feststellen. Die Autoren konnten beobachten, dass eine Inokulation von  $10^5$  KbE/ml *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* L201 die Keimzahlen von *Staph. aureus* nach 48-stündiger Lagerung um  $2 \log_{10}$  KbE/ml auf  $5 \cdot 10^3$  KbE/ml reduzierte. Ein Inokulum von  $10^6$  KbE/ml reduzierte die anfänglich nachgewiesenen Keimzahlen der Staphylokokken auf  $8 \cdot 10^1$  KbE/ml. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch bezüglich der Inhibierung von *Bacillus cereus* und *Clostridium perfringens* erzielt. In keiner der mit *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* L201 inokulierten Proben konnte eine Vermehrung der pathogenen Keime beobachtet werden. Im Gegensatz dazu konnten in den Kontrollproben nach 48 Stunden Keimdichten von mehr als  $10^7$  KbE/ml nachgewiesen werden (ELSSER 1997).

#### 2.5.5.7 *L. casei*

CASTELLANO et al. (2004) untersuchten die antagonistischen Eigenschaften zweier von *Lactobacillus casei* CRL 705 (Bac<sup>+</sup>) gebildeten Bakteriozine, bezüglich der Inhibierung von *L. innocua* und *Lb. sakei*. Sie konnten in den untersuchten MRS- und Fleischsuspensionen signifikante bakterizide Eigenschaften von *Lactobacillus casei* CRL 705 (Bac<sup>+</sup>) nachweisen, die in einem inversen Zusammenhang mit der nachgewiesenen Bakteriozinaktivität stehen. Die Keimzahlen von *L. innocua* 7 und *Lb. sakei* CRL 1424 wurden in den Proben über den Verlauf einer Kühllagerung bei +4 bzw. +8 °C signifikant reduziert, teilweise bis unter die Nachweisgrenze. Die beobachtete Bakteriozinaktivität gegen *L. innocua* 7 und *Lb. sakei* CRL 1424 stieg in diesem Zusammenhang bis zur maximalen Reduzierung der Indikatororganismen kontinuierlich an. Die gemessenen Lactocin 705-Konzentrationen in den Proben stagnierten bis zum Ende der Lagerung nachweislich auf den maximal nachgewiesenen Werten, die Konzentrationen von Lactocin AL705 fielen nach der Inaktivierung der Listerien in den Proben wieder signifikant ab. Der Einfluss unterschiedlicher pH-Werte in den Proben konnte durch vergleichende Versuche mit *Lactobacillus casei* CRL 705 (Bac<sup>-</sup>) und *Lactobacillus casei* CRL 705 (Bac<sup>+</sup>) ausgeschlossen werden, da beide Stämme moderate Mengen an undissoziierter Milchsäure bilden und zwischen den Proben keine signifikanten Unterschiede bezüglich der gemessenen pH-Werte beobachtet werden konnten. Daher ist die Inhibierung der Indikatororganismen auf die Produktion der beiden

nachgewiesenen Bakteriozine zurückzuführen. Lactocin 705 ist ein 2-Peptid-Bakteriozin, dessen Aktivität sich auf die komplementäre Hemmung zweier Peptide (CUOZZO et al. 2000; CASTELLANO et al. 2003) nah verwandter Milchsäurebakterien zurückführen lässt. Von Lactocin 705 gehen daher offensichtlich keine antilisteriellen Effekte aus, wahrscheinlicher sind antagonistische Effekte auf *Lb. sakei* CRL 1424. Die antilisteriellen Effekte lassen sich auf die Produktion des Bakteriozins AL705 zurückführen, dessen Wirkung in einer Studie von VIGNOLO et al. (1996 a, b) beschrieben wurde. Die Autoren beschreiben, dass *Lactobacillus casei* CRL 705 die Anforderungen an eine Schutzkultur erfüllt, da er leicht zu kultivieren ist, die Applikation keine Probleme darstellt und sichere sowie gut reproduzierbare Resultate erzielt werden können. Zudem kommt es im Produkt nur zu einer leichten Ansäuerung, so dass nur moderate pH-Wert-Unterschiede über den Verlauf der Lagerung feststellbar sind. Auch andere Substanzen, die in den Produkten zu Off-Flavors führen könnten, werden nur in sensorisch vertretbaren Mengen metabolisiert. Zunächst müssten jedoch noch sensorische Untersuchungen durchgeführt werden, da bisher nicht überprüft wurde, ob es Unterschiede bezüglich der Verbraucherakzeptanz gibt (CASTELLANO et al. 2004 und 2008).

#### 2.5.5.8 *L. sakei*

SCHILLINGER et al. (1991) untersuchten die antilisterielle Aktivität von *Lactobacillus sakei* Lb 706 (Bac<sup>+</sup>) und (Bac<sup>-</sup>) in gegartem, kühl gelagertem Hackfleisch über den Verlauf einer 14-tägigen Lagerung bei +8 °C. Eine Inokulation von  $2 \cdot 10^8$  KbE/g *Lactobacillus sakei* (Bac<sup>+</sup>) bzw.  $2 \cdot 10^7$  KbE/g *Listeria monocytogenes* bewirkte, dass über den Verlauf der Lagerung relativ konstante ( $10^5$  KbE/g) Keimzahlen an Listerien nachweisbar waren. Da zwischen den Proben (Bac<sup>+</sup> / Bac<sup>-</sup>) keine signifikanten Unterschiede bezüglich der pH-Werte beobachtet wurden, resultieren die antilisteriellen Effekte aus der Bakteriozinbildung. Nach dem 9. Tag wurde ein leichter Anstieg der nachgewiesenen Listerien festgestellt, der auf eine nachlassende Bakteriozin-Aktivität zurückzuführen ist. Die Autoren merken an, dass eine signifikante Inhibition der Listerien nur bis zum 7. Tag der Lagerung beobachtet werden konnte. In Versuchen mit frischer Mettwurst konnten die Autoren diese Beobachtungen bestätigen. Zudem wurden synergistische Effekte zwischen (Bac<sup>+</sup>) und (Bac<sup>-</sup>) beschrieben, die ebenfalls Einflüsse auf die antilisteriellen Aktivitäten der Stämme ausüben (SCHILLINGER et al. 1991).

HUGAS et al. (1998) untersuchten den Einfluss verschiedener Applikationsformen von *Lactobacillus sakei* CTC 494 und von Sakacin K auf das Wachstum von *Listeria innocua* CTC 1014 in inokuliertem Schweinehackfleisch ( $2 \cdot 10^2$  KbE *Listeria innocua* /g Hackfleisch) bei einer Lagerungstemperatur von +7 °C. In den Versuchen wurde die Wirkung der Schutzkultur bei verschiedenen Lageratmosphären (aerobe Lagerung, Vakuumlagerung und MAP-Verpackung (20 % CO<sub>2</sub> / 80 % O<sub>2</sub>)) getestet. Die Inokulation von *L. sakei* ( $1 \cdot 10^6$  KbE/g) bewirkte im Vergleich mit der Kontrollprobe deutliche bakterizide Effekte auf *Listeria innocua*. Nach 6 Tagen konnte eine deutliche Verringerung (von 36 MPN g<sup>-1</sup> auf  $\leq 3$  MPN g<sup>-1</sup>) der initialen Keimzahlen beobachtet werden. Die Inokulation von Sakacin K bewirkte innerhalb von 10 Minuten signifikante Reduzierungen (von 50 MPN g<sup>-1</sup> auf  $\leq 3$  MPN g<sup>-1</sup>) der initialen Keimzahlen. Vergleichbare Aktivitäten wurden bei der Vakuumlagerung beobachtet. Auch unter modifizierter Atmosphäre zeigten *L. sakei* und Sakacin K eindeutige bakterizide Wirkungen und reduzierten die initialen Keimzahlen der Listerien signifikant (HUGAS et al. 1998).

Die antilisteriellen Effekte von *L. sakei* CTC 494 konnten HUGAS et al. (1998) in Versuchen mit frischer, kühl gelagerter Hähnchenbrust bestätigen. Bei aerober Lagerung der mit *L. sakei*

*CTC 494* inokulierten Proben konnte innerhalb von 7 Tagen eine Reduzierung der initialen Listerienzahlen ( $2 \cdot 10^2$  KbE/cm<sup>2</sup>) auf 31 KbE/cm<sup>2</sup> beobachtet werden. Die Behandlung der Proben mit Sakacin K bewirkte nach 2 Minuten eine Reduktion der nachgewiesenen Listerien auf 78 KbE/cm<sup>2</sup>. Auch unter Vakuum konnte in der Probe mit *L. sakei CTC 494* eine Reduzierung von einer  $1 \log_{10}$  KbE/g beobachtet werden. In den Bakteriozin-Proben konnte eine anfängliche Reduktion der Listerien beobachtet werden, allerdings stiegen die Keimzahlen bis zum Ende der Lagerungszeit wieder auf  $5,4 \cdot 10^2$  KbE/cm<sup>2</sup> an. HUGAS et al. (1998) konnten somit nachweisen, dass die Wirkung von Sakacin K bzw. die antilisteriellen Effekte des Sakacin K produzierenden Stammes *L. sakei CTC 494* sowohl bei aerober, als auch unter Vakuumverpackung zu beobachten sind (HUGAS et al. 1998).

BREDHOLT et al. (2001) beschreiben bakteriostatische Effekte von *Lactobacillus sakei* TH1 (bac<sup>-</sup>) auf 3 Rifampicin-resistente Stämme von *L. monocytogenes* (2230/92 Serotyp 1, 167 Serotyp 4b und 187 Serotyp 4b) in vakuumverpackten und kühlgelagerten (+4 °C) Kochschinken und Zervelatwürsten. Die initialen Keimzahlen von *Lactobacillus sakei* TH1 stiegen in den ersten 10 Tagen auf ca.  $10^9$  KbE/g und stagnierten auf diesem Niveau. Im Gegensatz zu den Kontrollproben konnte in den mit *Lactobacillus sakei TH1* inokulierten Proben ( $10^5 - 10^6$  KbE/g) eine Stagnation der initialen Listerienzahlen ( $10^3$  KbE/g) beobachtet werden. Die pH-Werte der Proben fielen bis zum Ende der Lagerung auf Werte von ca. 5,2. In allen untersuchten Proben konnte nachgewiesen werden, dass *Lactobacillus sakei TH1* die produktspezifische Milchsäurebakterienflora dominiert. Die bakteriostatischen Effekte begründen sich offensichtlich in dem Selektionsvorteil, den der Stamm durch sein schnelles Wachstum erlangt, da in den Proben keine Bakteriozine nachweisbar waren. Zudem sind eine kompetitive Hemmung der Begleitflora und ein Absinken des pH-Wertes durch bakteriostatisch wirkende, undissoziierte Milchsäure antagonistische Parameter für das Wachstum anderer Mikroorganismen im Produkt (BREDHOLT 1999). Die Ergebnisse der sensorischen Akzeptanztests ergaben keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Proben (BREDHOLT 2001).

KATIKOU et al. (2005) untersuchten die inhibierenden Effekte von *L. sakei CECT 4808* auf das Wachstum von *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ssp., Milchsäurebakterien, *Brochotrix thermosphacta*, sowie Hefen und Pilzen in gekühltem und vakuumverpacktem Schlachtfleisch und beobachteten im Vergleich mit den Kontrollproben signifikante Reduktionen der inokulierten *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas* ssp.. Auch der Nachweis von *Brochotrix thermosphacta*, Hefen, Schimmelpilzen und Milchsäurebakterien in den untersuchten Proben ergab nach 28 Tagen Kühlung signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Kontrollproben und den Proben mit CECT 4808. Die Autoren beschreiben, dass die Proben, die mit *L. sakei CECT 4808* behandelt wurden, gegenüber allen anderen Proben deutlich signifikante Unterschiede bezüglich des Wachstums der untersuchten grampositiven und -negativen Keimflora aufweisen. Die Ursachen hierfür sehen die Autoren in der beobachteten pH-Wert-Senkung, die von *L. sakei CECT 4808* ausgeht, in der Bildung von Bakteriozinen und anderen inhibitorischen Substanzen und/oder in der kompetitiven Hemmung der produktspezifischen Keimflora, da die von den Milchsäurebakterien gebildeten Bakteriozine ausschließlich gegen grampositive Mikroorganismen antagonistische Effekte bewirken, wenngleich einige Studien auch Bakteriozin-Wirkungen beschreiben, in denen Antagonismen gegen gramnegative Mikroorganismen beobachtet wurden. Allerdings müssen hierbei die pH-Werte und andere intrinsic factors beachtet werden, da diese einen nicht unerheblichen Einfluss auf das Wachstum der Mikroorganismen und auf die Beschaffenheit ihrer Zellmembran ausüben (ABEE et al. 1995, JACK et al. 1995).

Vergleichbare antagonistische Effekte einiger *Lactobacillus* ssp. gegen *Enterobacter* ssp. und *B. thermosphacta* haben auch NEWTON und GILL (1978) in ihren Untersuchungen beobachtet und beschrieben.

ALVES et al. (2006) untersuchten die Wirkung von *Lb. sakei* 1 (Bac.<sup>+</sup>), *L. sakei* ATCC 15521 (Bac.<sup>-</sup>) und Chrisin bezüglich der Inhibition von *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 (serotype 4b) and *L. monocytogenes* IAL 633 (serotype 1/2a) in gekochtem und vakuumverpacktem Fleisch, das für 10 Tage bei +8 °C gelagert wurde. Die Autoren beschreiben, dass das Wachstum der beiden Listerienstämme durch *L. sakei* 1 und *L. sakei* ATCC 15521 signifikant gehemmt wurde. Das Chrisin bewirkte im Vergleich mit den Kontrollproben keine signifikanten Reduktionen des Listerienwachstums ( $P \geq 0,015$ ). Die Bakteriozinproduktion von *L. sakei* 1 wurde in Anwesenheit von *L. monocytogenes* 4b beobachtet, nicht aber in den Proben mit *L. monocytogenes* 1/2a. Wenn *L. sakei* 1 in den Proben mit *L. monocytogenes* 4b vergesellschaftet wurde, gab es bezüglich der antilisteriellen Effekte keine signifikanten Unterschiede ( $p \geq 0,015$ ) zu den Proben mit *L. sakei* ATCC 15521. Die Autoren schlussfolgern daraus, dass nicht nur die Bakteriozinproduktion Einflüsse auf die Wachstumsinhibierung der Listerienstämme ausübt, da sowohl bakteriozinbildende, als auch nicht bakteriozinbildende Kulturen das Wachstum der Listerien deutlich gehemmt haben. Die antilisterielle Wirkung ist zu großen Teilen auch auf die Produktion organischer Säuren (AMEZQUITA & BRASHEARS 2002) oder anderer antilisterieller Metabolite (ZHAO, DOYLE & ZHAO 2004) zurückzuführen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch NILSSON et al. (1999), die aufzeigen konnten, dass neben der Bakteriozinproduktion auch die kompetitive Hemmung der produkteigenen Keimflora eine wesentliche antilisterielle Komponente darstellt.

VERMEIREN et al. (2006) untersuchten in 3 verschiedenen Co-Inokulationsstudien die antagonistischen Effekte von *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus* 10A (Bac.<sup>-</sup>) und *Lactobacillus sakei* 148 LS5 (Bac.<sup>+</sup>) bezüglich ihrer antagonistische Wirkung auf einen 3-Stamm-Cocktail von *Listeria monocytogenes* in kühl gelagertem Kochschinken, sowie den Einfluss der Verpackung unter Vakuum bzw. modifizierter Atmosphäre. Die inokulierten Milchsäurebakterien-Stämme dominierten die produktspezifische Keimflora unabhängig von der Lagerungstemperatur und -atmosphäre. *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus* inhibierte das Wachstum der inokulierten Listerien bei einer Inokulation von  $10^5$  KbE/g im Produkt nur geringfügig. Nach 35 Tagen konnten in den Proben ca.  $10^6$  KbE/g Listerien nachgewiesen werden. Höhere Inokulationsmengen von *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus* ( $10^6$  KbE/g) bewirkten dagegen sowohl bei Vakuumlagerung, als auch unter modifizierter Atmosphäre nach 42 Tagen signifikante Reduktionen ( $2 - 2,5 \log_{10}$  KbE/g) der nachgewiesenen Listerien im Vergleich mit den Kontrollproben. In vorangegangenen Studien von VERMEIREN et al. (2006) wurde diesbezüglich eine initiale Mindest-Inokulation von  $10^7$  KbE/g beschrieben, um signifikante antagonistische Effekte von *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus* auf *Leuconostoc mesenteroides* und *Brochotrix thermosphacta* zu bewirken.

Vergleichbare Ergebnisse erzielten auch AMEZQUITA und BRASHEARS (2002), sowie ANDERSON (1995). Niedrige Lagerungstemperaturen bewirkten eine zusätzliche Inhibierung der Listerien in den Proben, hatten aber keinen Einfluss auf die antilisteriellen Effekte von *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus*. Sowohl bei +4 als auch bei +7 °C konnte im Vergleich mit der Kontrollprobe eine Reduktion von  $2 \log_{10}$  KbE/g Listerien beobachtet werden. Der Einfluss der Lagerungsatmosphäre auf die Inhibierung der Listerien in den Proben konnte von den Autoren ebenfalls beobachtet werden. In den Kontrollproben ohne *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus* wurde ein leichter Anstieg von  $0,5 \log_{10}$  KbE/g auf  $5 \cdot 10^2$  KbE/g Listerien festgestellt. Bei einer Co-Inokulation von *Lactobacillus sakei* subsp. *carneus*

und Listerien stagnierten die Listerienzahlen bei Lagerung der Proben unter modifizierter Atmosphäre auf dem Niveau der initialen Inokulationsmenge. Bei Vakuumlagerung der Proben konnte trotz Co-Inokulation ein Anstieg der nachgewiesenen Listerien um ca.  $2 \log_{10}$  KbE/g auf  $10^4$  KbE/g festgestellt werden. Auf den pH-Wert der Proben hatte die Inokulation von *Lactobacillus sakei subsp. carnosus* zu keiner Zeit der Experimente einen signifikanten Einfluss. Somit scheidet die Säureproduktion als Ursache für die antilisteriellen Effekte aus, da *Lactobacillus sakei subsp. carnosus* jedoch kein Bakteriozin bildet (VERMEIREN et al. 2004), muss die Reduzierung der Keimzahlen auf andere inhibitorische Substanzen zurückführbar sein (AMEZQUITA und BRASHEARS 2002). Der genaue Mechanismus ist derzeit noch nicht geklärt und bedarf in der Zukunft noch einiger Untersuchungen (VERMEIREN et al. 2006). Auch andere Autoren (BUCHANAN und KLAWITTER 1992; BUCHANAN und BAGI 1997; NILSSON et al. 2005) beschreiben inhibitorische Effekte von nicht-Bakteriozin-bildenden Kulturen, deren genaue Ursachen noch nicht endgültig geklärt sind. Unabhängig vom Wirkungsmechanismus kann jedoch festgestellt werden, dass sich *Lactobacillus sakei subsp. carnosus* (10A) in Kombination mit einer Lagerung unter modifizierter Atmosphäre als Schutzkultur eignet, das Wachstum von Listerien im Produkt wirkungsvoll zu reduzieren. In den mit *Lactobacillus sakei* 148 LS5 inokulierten Proben konnten nur bezüglich der initialen Mindest-Inokulationsmengen vergleichbare Effekte beobachtet werden. Eine signifikante Inhibierung der inokulierten Listerien konnte zu keiner Zeit in den Proben nachgewiesen werden. Die Autoren schlussfolgern, dass *Lactobacillus sakei* 148 LS5 unter den praktizierten Lagerungsbedingungen nur geringe bzw. nicht ausreichende Mengen an Lactocin S produziert (SOBRINO et al 1991; VERMEIREN et al.2004), und der Einsatz als Schutzkultur in gekühlten Fleischprodukten aus diesem Grund auch nicht die erforderlichen, protektiven Effekte erwarten lässt (VERMEIREN 2006). JONES et al. (2008) konnten ebenfalls nachweisen, dass von *L. sakei* ssp. inhibitorische Effekte gegen pathogene und Verderbnis erregende Mikroorganismen in Fleischprodukten ausgehen. Durch 16 S rDNA-Sequenz-Analysen konnten JONES et al. (2008) beweisen, dass die antimikrobiellen Effekte in den untersuchten Proben von 3 Stämmen ausgehen, die, genau wie *L. sakei* Lb706, eine hohe antilisterielle Aktivität zeigen. Von den untersuchten Stämmen zeigten *L. sakei* 15; *L. sakei* 27; *L. sakei* 75 und *L. sakei* Lb705 antilisterielle Aktivität. Bei *L. sakei* 44 konnten Antagonismen gegen *C. estertheticum* und *C. jejuni* festgestellt werden. In zellfreien Extrakten von *L. sakei* 706 und *L. sakei* 27 konnten auch nach einer Hitzebehandlung antilisterielle Substanzen nachgewiesen werden, jedoch nicht nach einer Inokulation von proteolytischen Enzymen. Diese Substanzen gleichen hitzestabilen Molekülen, wie z.B. dem von *L. sakei* Lb706 produzierten Klasse II-Bakteriozin Sakacin A. Die Sequenzanalysen von 4 inhibitorischen *L. sakei*-Stämmen ergaben eine enge genetische Verwandtschaft. Zwei der untersuchten *L. sakei*-Stämme entwickelten zudem Antagonismen gegen *Campylobacter jejuni* (JONES et al. 2008).

### 2.5.5.9 *Leuconostoc carnosum*

BUDDE et al. (2003) beschreiben die antilisterielle Aktivität von *Leuconostoc carnosum* 4010 in geschnittener und vakuumverpackter Fleischwurst. Die Proben wurden für die Untersuchungen mit  $10^4$  KbE/g eines 5-Stammcocktails von *Listeria monocytogenes* sowie mit  $1,2 \cdot 10^5$  KbE/g bzw.  $6,3 \cdot 10^6$  KbE/g *Leuconostoc carnosum* 4010 inokuliert und für 28 Tage bei +5 °C gelagert. Die unterschiedlich hohen Inokulationen von *Leuconostoc carnosum* 4010 bewirkten in Korrelation mit den nachgewiesenen Keimzahlen nur in den ersten Tagen der Lagerung signifikante Unterschiede bezüglich der nachgewiesenen Listerien. In beiden Proben konnten am Ende der Lagerung jeweils 10 KbE/g Listerien

nachgewiesen werden, in den Kontrollproben lagen die Keimzahlen der nachgewiesenen Listerien bei ca.  $10^8$  KbE/g (BUDDE et al. 2003).

JACOBSEN et al. (2003) beschreiben vergleichbare Ergebnisse bezüglich der antilisteriellen Aktivität von *Leuconostoc carnosum* 4010. Sie untersuchten den Einfluss der Applikationsform auf die inokulierte Listerien-Population in Zervelatwürsten aus Schweinefleisch, die unter modifizierter Atmosphäre für 28 Tage bei +5 bzw. +10 °C gelagert wurden. Als Applikationen wurden zum einen Stammkulturen in Höhe von  $10^6$  KbE/g vor der Hitzebehandlung in die rohen Proben inokuliert, zum Vergleich wurde eine Charge vor der Hitzebehandlung mit 20 µl/g und nach dem Schneiden mit 10 µl/g Leucocin inokuliert. In der dritten Charge wurden die Scheiben beidseitig mit einer Kultur-Suspension ( $10^8$  KbE/ml) beaufschlagt und in der vierten Charge wurden die Scheiben mit der Kultur-Suspension ( $10^8$  KbE/ml) benebelt. Die Lagerung bei +5 °C bewirkte in den Kontrollproben nach 28 Tagen einen Anstieg der Listerien-Zahlen auf max.  $10^8$  KbE/g, bei +10 °C Lagertemperatur erreichten die Listerien diese Keimdichte bereits nach 14 Tagen. Im Vergleich dazu konnte in den Proben, die bei +10 °C gelagert wurden, über den Verlauf der Lagerung eine Reduktion von ca.  $1 \log_{10}$  KbE/g Listerien festgestellt werden. Bei +5 °C Lagertemperatur konnten nach 21 bzw. 28 Tagen signifikante Differenzen zur Kontrollprobe (ca. 2,5 bzw. 4  $\log_{10}$  KbE/g) festgestellt werden. Die Bakteriozin-Behandlung der Proben, die bei +5 °C gelagert wurden, bewirkte nach 28 Tagen eine Differenz zur Kontrollprobe von 5  $\log_{10}$  KbE/g Listerien, bei +10 °C Lagerungstemperatur betrug die Differenz zur Kontrollprobe 4  $\log_{10}$  KbE/g. Die Beaufschlagung bzw. Beneblung der geschnittenen Wurstscheiben bewirkte ebenfalls eine signifikante Inhibition des Listerienwachstums in den Proben. Bei +5 °C Lagertemperatur konnten Differenzen zur Kontrollprobe von ca. 4 bzw. 5  $\log_{10}$  KbE/g Listerien nachgewiesen werden, bei 10 °C Lagertemperatur ergaben sich Differenzen von ca. 5 bzw. 7  $\log_{10}$  KbE/g Listerien. Die Ergebnisse bestätigen somit die Bakteriozin-Aktivität des Stammes und die inhibierenden Effekte auf das Listerienwachstum in den Proben. Die verschiedenen Applikationsformen bei der Inokulation der Proben nach der Hitzebehandlung bewirkten bezüglich ihrer antilisteriellen Effekte nur geringe Differenzen zwischen den verschiedenen Proben, die Inokulation des Brätes mit lyophilisierten Kulturen bedarf jedoch im Vergleich zu den anderen Methoden keiner zusätzlichen Prozesstechnologien (JACOBSEN et al. 2003).

Ähnliche Bakteriozin-induzierte Effekte auf *B. thermosphacta* konnten bereits METAXOPOULOS et al. (2002) bei Versuchen mit *Leuconostoc mesenteroides* L124 in vakuumverpackten Fleischprodukten beobachten. Und auch JONES et al. (2008) konnten bei einem Screening von mehreren Milchsäurebakterienstämmen einen Stamm von *Leuconostoc carnosum* isolieren, der in den durchgeführten Agar-Diffusionstests das Wachstum von *L. monocytogenes* und *C. estertheticum* signifikant inhibiert hat.

#### 2.5.5.10 *Pediococcus* ssp.

NIELSEN et al. (1990) untersuchten die Dosis- und Zeitpunkt-abhängige Inhibition von *Listeria ivanovii* durch Pediocin in kühlgelagerten Fleischsuspensionen, welche mit unterschiedlich hoch konzentrierten Pediocin-Lösungen vor bzw. nach einer Inokulation mit *Listeria ivanovii* behandelt wurden, sowie den Einfluss der 28-tägigen Lagerung bei +5 °C auf die Bakteriozin-Aktivität. Die Pediocin-Behandlung nach der Inokulation der Listerien ( $10^7$  KbE/ml) reduzierte die Listerien-Keimzahlen in den Proben mit 500 AU/ml innerhalb von 10 Minuten um 1  $\log_{10}$  KbE/g. Bei 1000 AU/ml konnten Reduzierungen von ca. 1,3  $\log_{10}$  und bei 5000 AU/ml konnten nach 10 Minuten 2  $\log_{10}$  KbE/g beobachtet werden. Wurden geringere Keimzahlen ( $10^4$  KbE/g) inokuliert, konnten bei 500 AU/ml und 1000 AU/ml nach 10 Minuten noch ca.  $10^2$  KbE/g nachgewiesen werden. Die Behandlung mit 5000 AU/ml bewirkte eine

Reduzierung von über  $2 \log_{10}$  KbE/g auf  $5 \cdot 10^1$  KbE/g Listerien. In den Kontrollproben stagnierte die Listerienzahl dagegen auf dem jeweils inokulierten Niveau. Die Pediocin-Behandlung der Proben vor der Inokulation der Listerien ( $10^7$  KbE/ml) bewirkte vergleichbare Ergebnisse. Bei niedrigeren Inokuli ( $10^4$  KbE/ml) konnten Reduzierungen von  $2,5 \log_{10}$  KbE/g auf unter  $10^1$  KbE/g festgestellt werden. Bei der Lagerung der Proben konnte beobachtet werden, dass die Bakteriozinaktivität mit steigender Lagerungsdauer abnahm. Eine Konzentration von 5000 AU/ml reduzierte die initialen Keimzahlen, verglichen mit der Kontrollprobe, nach 7 Tagen auf ca.  $8 \cdot 10^2$  KbE/g und nach 28 Tagen auf ca.  $10^4$  KbE/g. Geringere Pediocin-Konzentrationen bewirkten über den Verlauf der Lagerung keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollprobe (NIELSEN et al. 1990).

GOFF et al. (1996) untersuchten die antilisterielle Aktivität von Pediocin AcH in kühl gelagertem Hähnchenfleisch. Die Pediocin-Präparation erfolgte nach der Methode von BUHNIA et al. (1988), um hohe, pure Pediocin-Konzentrationen zu erhalten (YANG 1992).

Die Pediocin-Behandlung der Proben bewirkte schon am Tag 0 signifikante Differenzen von  $1,8 - 2,6 \log_{10}$  KbE/g im Vergleich mit der Kontrollprobe. Mit Pediocin-Konzentrationen von 800 bis 1600 AU/ml konnten keine Reduktionen der Listerienzahlen in den Proben beobachtet werden, bei 1600 AU/ml wurden aber zumindest bakteriostatische Effekte erzielt. Mit Konzentrationen von 2400 AU/ml konnten dagegen deutlich bakterizide Effekte beobachtet werden, nachgewiesen durch eine signifikante Reduktion der initialen Listerienzahlen von  $3,6 \log_{10}$  KbE/g auf  $2,8 \log_{10}$  KbE/g nach 28 Tagen. Geringere Inokulationsmengen an *Listeria monocytogenes* (ca.  $2,5 \log_{10}$  KbE/g) bewirkten bei Bakteriozin-Konzentrationen von 2400 AU/ml, dass bereits nach 7 Tagen keine Listerien mehr in den Proben nachweisbar waren. Sensorische Abweichungen der Produkte konnten bei allen untersuchten Bakteriozin-Konzentrationen zu keiner Zeit festgestellt werden. Damit stellen die Ergebnisse eine protektive und nachhaltige Möglichkeit der Behandlung von rohem Hähnchenfleisch bezüglich eines eventuellen Listerienwachstum dar (GOFF et al. 1996).

ALBANO et al. (2007) untersuchten 2 von *Pediococcus acidilactici* ssp. produzierte Bakteriozine, die inhibierende Eigenschaften gegen *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. monocytogenes* Scott A, 4855 und 54, *L. innocua* N27, *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* NCTC 11846, *E. faecalis* FAIR E77, FAIR E88, FAIR E92 und FA 2, *Enterococcus* ssp. 9 und 57, *Streptococcus* ssp. TL1, TL2R, und TL2W und *Streptococcus caprinus* ATCC 700065 aufweisen. Dieses breite Spektrum der Aktivität gegen grampositive Bakterien ist typisch für Klasse II-Bakteriozine, wie z.B. Pediocin PA-1, dessen antilisterielle Wirkung besonders bekannt ist (RODRIGUEZ et al. 2003). Die beiden untersuchten Bakteriozine (BacHA-6111-2 und BacHA-5692-3) wurden bereits nach 18-stündiger Inkubation in MRS-Medium in maximalen Konzentrationen von 3200 AU/ml gegen *E. faecium* HKLHS und 1600 AU/ml gegen *L. innocua* N27 nachgewiesen. Innerhalb der ersten 24 Stunden reduzierte sich der pH-Wert der Proben mit HA-6111-2 von 6,51 auf 4,95 und die Zelldichte stieg von 0,05 auf 5,45. In den Proben mit HA-5692-3 konnten ähnliche Ergebnisse festgestellt werden, der pH-Wert fiel von 6,38 auf 4,92 und die Zelldichte stieg von 0,074 auf 5,85. Die größte Aktivität wurde bei einem pH-Wert von 5,05 festgestellt. Sanken die pH-Werte unter 4,5 ab, so blieben die Bakteriozin-Konzentrationen konstant, da die Produktion bei Werten unter 4,5 blockiert ist (TODOROV et al. 2005) und beide Bakteriozine sehr sensitiv auf saure und alkalische Bedingungen reagieren. Nur bei pH-Werten zwischen 5 und 7 konnte antimikrobiologische Aktivität nachgewiesen werden. In Kombination (1600AU/ml) inhibierten beide Bakteriozine das Wachstum von in der Lag-Phase befindlichen *L. innocua* und zeigten bezüglich *E. faecium* sogar leicht mikrobizide Auswirkungen. Befanden sich die Zielorganismen allerdings in der

stationären Phase, so wurde bei beiden Bakteriozinen eine bakteriostatische Wirkung auf *E. faecium* nachgewiesen. Bezüglich der antilisteriellen Eigenschaften konnten bei beiden Bakteriozinen mikrobizide Wirkungen gegen *L. innocua* beobachtet werden, da sich die Keimzahlen von *L. innocua* verglichen mit der initialen Inokulationshöhe um ca.  $4 \log_{10}$  KbE/g reduzierten. Die beschriebenen Bakteriozine sind aufgrund ihrer Wirkung und bezüglich ihrer Eigenschaften vergleichbar mit Pediocin PA-1. Dennoch beschreiben die Autoren, dass weitere Untersuchungen nötig sind, um einschätzen zu können, ob die beiden Stämme HA-6111-2 und HA-5692-3 als Fleisch-Starter-Kulturen eingesetzt werden können (ALBANO et al. 2007).

In weiteren Untersuchungen konnten ALBANO et al. (2007) beobachten, dass 2 *Pediococcus pentosaceus* ssp. starke antagonistische Effekte gegen *L. monocytogenes* und *L. innocua* entwickeln. In Anwesenheit der beiden *P. pentosaceus* ssp. konnten in den Proben nach 28 Tagen Kühlagerung Listerien-Konzentrationen von  $5 \cdot 10^2$  KbE/g festgestellt werden, in den Kontrollproben ohne die beiden Kulturen konnten dagegen  $1 \cdot 10^7$  KbE/g nachgewiesen werden. Zwischen den beiden *P. pentosaceus* Kulturen konnten bezüglich der Inhibition keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Der Vergleich zwischen der Kontrollprobe und einer Probe mit *Pediococcus pentosaceus* (Bac.) ergab am Ende der Lagerung ebenfalls keine signifikanten Unterschiede bezüglich der nachgewiesenen Listerienzahlen in den Proben. Aufgrund dieser Ergebnisse ist die antilisterielle Wirkung der beiden untersuchten Stämme durch deren Bakteriozinbildung begründet (ALBANO et al. 2007).

TOMÈ et al. (2008) konnten in Versuchen mit *Pediococcus acidilactici* ebenfalls die bakteriostatischen Eigenschaften des untersuchten Stammes auf das Wachstum von *Listeria innocua* 2030c bestätigen. Über den Verlauf einer 3-wöchigen Lagerung von kaltgeräucherten und unter Vakuum verpackten Lachsen bei  $+5 \text{ }^\circ\text{C}$  wurde die Bakteriozinaktivität von *Pediococcus acidilactici* überprüft. Die initialen Zellkonzentrationen der inokulierten Milchsäurebakterien lagen in den Proben zwischen 5 und  $6 \log_{10}$  KbE/g und stiegen bis zum Ende der Lagerung auf Konzentrationen von ca.  $9 \log_{10}$  KbE/g an, die initiale Keimzahl der Listerien der untersuchten Proben lag bei ca.  $5 \log_{10}$  KbE/g. Bezüglich der nachgewiesenen Listerien konnten zwischen den mit *P. acidilactici* inokulierten und den Kontrollproben am Ende der Lagerung Differenzen von ca.  $2 \log_{10}$  KbE/g festgestellt werden. Die nachgewiesenen Keimzahlen der Listerien stagnierten in den Proben mit *P. acidilactici* über den Lagerungsverlauf auf dem Niveau der initialen Inokulation von  $10^5$  KbE/g. Die Bakteriozinaktivität des Stammes gegen *L. innocua* konnte in Versuchen mit zellfreien Überständen von *P. acidilactici* bestätigt werden. Die zellfreien Suspensionen von *P. acidilactici* bewirkten in den Listeriensuspensionen ebenfalls eindeutige bakteriostatische Effekte, da die Zellzahlen der Listerien mehr oder weniger konstant auf dem Niveau blieben, das zum Zeitpunkt der Inokulation beobachtet wurde (TOMÈ et al. 2008).

LI et al. (2008) untersuchten einen Stamm von *Pediococcus parvulus* bezüglich seiner Auswirkungen auf Mikrobiologie, pH-Wert, Textur, Farbe, und Sensorik von traditionell hergestellten chinesischen Würstchen. Signifikante Differenzen zwischen den Kontrollproben und den inokulierten Proben konnten vor allem hinsichtlich der nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* beobachtet werden. In den Kontrollproben konnten nach 48 Tagen ca.  $10^2$  KbE/g *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden, in den inokulierten Proben dagegen weniger als 10 KbE/g. Die nachgewiesenen mesophilen Gesamtkeimzahlen ergaben nach 48 Tagen leichte Differenzen von ca.  $1 \log_{10}$  KbE/g zwischen den inokulierten und den Kontrollproben. Der Nachweis von Staphylokokken, sowie von Hefen und Schimmelpilzen ergab dagegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Proben, in beiden Proben

konnten nach 48 Tagen ca.  $10^7$  KbE/g Staphylokokken und ca.  $10^5$  KbE/g Hefen und Schimmelpilze nachgewiesen werden. Die ermittelten pH-Werte in den Proben ergaben am Tag 48 eine signifikante Differenz zwischen den inokulierten Proben (ca. 5,0) und den Kontrollproben (ca. 5,5). Bezüglich der Feuchte und des verfügbaren Zuckers in den Proben konnten nach 48 Tagen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Dagegen konnten bei der Textur-Profil-Analyse signifikante Erhöhungen der Härte festgestellt werden, ebenso bezüglich der Gummiartigkeit, Festigkeit und Elastizität. Die Autoren begründen diese Effekte durch den niedrigeren pH-Wert der inokulierten Proben. Die instrumentelle Farbmessung in den inokulierten Proben ergab Proben signifikant erhöhte  $L^*$ -Werte und signifikant erniedrigte  $a^*$ -Werte. Bezüglich der  $b^*$ -Werte konnten keine Unterschiede zwischen den Proben beobachtet werden. Die sensorischen Analysen ergaben zum Teil signifikante Unterschiede zwischen den Proben, vor allem bezüglich des Geruchs und der adstringierenden Eigenschaften der Produkte. Die Gesamtbeurteilung der Proben ergab eine Präferenz der Prüfer für die inokulierten Würste. Somit konnten LI et al. (2008) nachweisen, dass die Inokulation von *Pediococcus parvulus* in traditionell hergestellten chinesischen Würstchen das Wachstum von Enterobacteriaceae über den Verlauf der Trocknung und Lagerung der Produkte inhibiert, ohne deren sensorische und texturale Eigenschaften nachteilig zu beeinflussen (LI et al. 2008).

## 2.6 Sensorische Fleischqualität

Die sensorische Beurteilung von Produkten ist eine wissenschaftliche Untersuchungsmethode zur Bewertung, Messung, Analyse und Interpretation der durch die verschiedenen Lebensmittel- und Verpackungseigenschaften hervorgerufenen Sinneseindrücke. Anhand der wahrgenommenen Attribute wie Aussehen, Geschmack, Geruch, Gefühl und Gehör, erfolgt die sensorische Beurteilung (STONE und SIDEL 2004). Im allgemeinen Sprachgebrauch wird der Begriff Sensorik häufig anstelle des Begriffes Verkostung verwendet. In wissenschaftlichen Untersuchungen werden die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Produkten (Zutaten, Inhaltsstoffe) sowie deren sinnlichen Wahrnehmungen und Bewertungen untersucht (DERNDORFER 2006).

Die sensorische Beurteilung von Produkteigenschaften beinhaltet neben der Erfassung die professionelle Analyse, Interpretation und Auswertung der Daten (STONE und SIDEL 2004). Nach LAWLESS und HEYMANN (1998) bestehen sensorische Beurteilungen aus vier Teilabschnitten (Planung, Durchführung, Analyse und Interpretation). Die Planung, insbesondere die Präparation und Darreichung der Proben, erfolgt unter standardisierten Bedingungen zur Minimierung beeinflussender Faktoren. Die Durchführung der sensorischen Beurteilung ist ein quantitativ-wissenschaftliches Verfahren zur Erhebung numerischer Daten, die aus dem Verhältnis zwischen den Produkteigenschaften und den menschlichen Wahrnehmungen entstehen. Eine umfangreiche Analyse sensorischer Daten erfordert die Berücksichtigung zahlreicher Einflussfaktoren. Die Streuung sensorischer Daten kann menschliche Ursachen haben, d.h., die Prüfer besitzen unterschiedliche sensorische Erfahrungen und Assoziationen zu einem bestimmten Produkt. Die Abweichungen können in der Auswertung der Daten nur schwer kontrolliert oder berücksichtigt werden. Die abschließende Interpretation der Ergebnisse impliziert Folgerungen und Entscheidungen für oder gegen das Produkt und den Ablauf der sensorischen Beurteilungen.

Die sensorische Produktforschung im engeren Sinne beschäftigt sich ausschließlich mit den intrinsischen Produkteigenschaften, die in ihrer Gesamtheit auch als Produktkern bezeichnet werden. Intrinsische Produkteigenschaften lassen sich als sinnlich wahrnehmbare, chemisch-physikalische Bestandteile des zu untersuchenden Erzeugnisses definieren.

Gegenstand der sensorischen Produktforschung sind alle Reaktionen des Menschen auf sensorische Produktreize. Die unterschiedlichen menschlichen Reaktionen bei der sensorischen Produktforschung unterteilen sich in zwei Kategorien, zum einen in die Verfahren zur Messung der Produktwahrnehmung und zum anderen in die Verfahren zur Messung der Produktbeurteilung (SCHARF 2000).

Bei der Messung der Produktbeurteilung werden sensorische Eigenschaften von Produkten durch affektive Urteile der Zielgruppen ermittelt (SCHARF 2000).

Sensorische Prüfmethode werden in analytische (objektive) und hedonische (subjektive) Methoden eingeteilt. Analytische Prüfmethode beinhalten Schwellenprüfungen, Unterschiedsprüfungen, Rangordnungsprüfungen sowie Intensitätsprüfungen, deren Beurteilung mittels einer Skala erfolgt, sowie Zeit-Intensitätstests. Zu den hedonischen Prüfungen gehören Akzeptanz- und Präferenztests, inklusive der Methoden zur Messung dynamischer Präferenzen (DERNDORFER 2006).

## **2.6.1 Sensorische Prüfmethode**

### **2.6.1.1 Rangordnungsprüfungen**

Rangordnungsprüfungen sind Prüfungen, bei denen die Intensität (analytische Prüfung) eines bestimmten Attributes und die Präferenz bzw. die Akzeptanz (hedonische Prüfung) anhand einer dargereichten Probenfolge ermittelt wird. Die ermittelten Daten spiegeln jedoch nur die Unterschiede bzw. Präferenzen der einzelnen Proben wider; es lassen sich keine Aussagen über die unterschiedlichen Intensitäten treffen (DERNDORFER 2006).

Die Schlichtheit von Rangordnungsprüfungen erleichtert die Instruktion von Testpersonen, insbesondere von Kindern und ungebildeten Menschen, da keine skalierte Differenzierung der Sinneseindrücke erforderlich ist. Diese Schlichtheit erleichtert zudem die Auswertung sowie die Interpretation der ermittelten Daten (LAWLESS und HEYMANN 1998).

Zur Erzielung aussagekräftiger Ergebnisse erfordert der Rangordnungstest mehrere Testpersonen bzw. Testdurchgänge, die zur Identifizierung von Produktunterschieden, im Vergleich zu anderen Verfahren, führen (SCHARF 2000).

Nach LAWLESS und HEYMANN (1998) sind Rangordnungsprüfungen lediglich eine Erweiterung der paarweisen Vergleichsprüfung, zu deren Durchführung mindestens drei Proben vorhanden sein müssen. Mit Hilfe von Rangordnungstests können zahlreiche sensorische Merkmale von Produkten, wie z.B. Aussehen, Farbe, Form, Geruch, Geschmack, Textur und Mundgefühl, untersucht werden. Bei der Durchführung eines Rangordnungstests kann jedoch immer nur ein Merkmal untersucht werden. Somit muss der Test bzw. die Ermittlung der Rangordnung für jedes zu beurteilende Merkmal unabhängig von den anderen Attributen durchgeführt werden (BUSCH-STOCKFISCH 2002, II).

In der Literatur ist umstritten, ob Testpersonen gleiche Rangplätze für zwei Proben vergeben dürfen. MEILGAARD et al. (1998) weisen in diesem Zusammenhang darauf hin, dass gegebenenfalls eine Entscheidung seitens der Prüfer zu erzwingen ist, um auch kleinste sensorische Unterschiede zu identifizieren (SCHARF 2000).

Die Rangordnungsprüfung wird angewendet, wenn Prüfmuster für nachfolgende sensorische Prüfungen vorsortiert werden müssen. Das Verfahren dient zur Einordnung der Produkte nach bestimmten Merkmalseigenschaften, wie z.B. Art, Ausprägung bzw. Intensität oder Beliebtheit (BUSCH-STOCKFISCH 2002, II).

Rangordnungsprüfungen kommen häufig in Innovationsprozessen zum Einsatz, um eine Selektion einer größeren Anzahl von Prototypen für weitgehende Unterschiedsprüfungen vorzunehmen. Dabei werden Informationen über den Zusammenhang zwischen der

Variation eines chemisch-physikalischen Produktbestandteils einerseits und der Wahrnehmung des beeinflussten sensorischen Merkmals andererseits gewonnen, ohne auf kosten- und zeitintensive deskriptive Verfahren der sensorischen Produktforschung zurückgreifen zu müssen (SCHARF 2000).

Außerdem wird diese Methode beim Vergleich von Produkten unterschiedlicher Herstellungsverfahren angewendet. Das Verfahren wird häufig als Vorauswahl für weiterführende Prüfungen herangezogen, um ggf. Änderungen vorzunehmen (FLIEDNER und WILHELMI 1993).

### **2.6.1.2 Hedonische Prüfungen**

Die hedonischen bzw. affektiven Prüfungen werden den subjektiven Prüfungen zugeordnet. Die Prüfpersonen sind ungeschulte Konsumenten bzw. Verbraucher und haben die Aufgabe, ihre persönliche Einstellung und Meinung zu Prüfproben bzw. Attributen abzugeben. Bei diesen Prüfungen steht die Prüfperson mit ihren Vorlieben und Bedürfnissen im Vordergrund. Es werden nicht die Charakteristika des Lebensmittels gemessen, sondern die Einstellung des Verbrauchers zu dem Produkt. Hedonische Prüfungen sollten, wenn möglich, durch Profilprüfungen unterstützt werden, da hierdurch Informationen gewonnen werden, die der affektiv handelnde Verbraucher nicht formulieren kann (BUSCH-STOCKFISCH 2002, I).

Die Entwicklung und Untersuchung der hedonischen Skala erfolgte durch JONES et al. (1955) sowie PERYMAN und PILGRIM (1957).

PERYMAN prägte den Namen der hedonischen Skala, einer Neun-Punkte-Skala, die zur Ermittlung der Akzeptanz von Lebensmitteln dient. Die hedonische Skala basiert auf der Annahme, dass sich die kategorische Einordnung der Antworten auf Verbraucherpräferenzen stützt. Die einfache Anwendung der hedonischen Skala erleichtert die Durchführung derartiger Tests. Untersuchungen haben gezeigt, dass die Ergebnisse, die aus Rangordnungsprüfungen und aus hedonischen Prüfungen hervorgehen, keine signifikanten Abweichungen aufweisen (LAWLESS und HEYMANN 1998).

Hedonische Prüfungen können durchgeführt werden als:

- Akzeptanzprüfungen, zur Ermittlung der Akzeptanz des Produktes, das mittels einer Skala den Grad des Gefallens untersucht und
- Präferenzprüfungen, zur Ermittlung des vom Konsumenten bevorzugten Produktes (BUSCH-STOCKFISCH 2002, I).

### **2.6.1.3 Sensorische Akzeptanztests**

Der Unterschied zwischen sensorischen Akzeptanztests und sensorischen Präferenztests besteht darin, dass bei den Akzeptanztests die Erfassung der affektiven Urteile mittels einer numerischen Skala erfolgt, wohingegen bei den Präferenztests lediglich eine Entscheidung durch den Verbraucher zwischen zwei oder mehreren Produkten erfolgt (LAWLESS und HEYMANN 1998).

Die hedonische Skala ist bipolar, verbal verankert und beinhaltet eine neutrale Antwortmöglichkeit („neither like or dislike“). Außerdem ist die Neun-Punkte-Hedonik-Skala balanciert, d.h., die Anzahl positiver (Like extremely, Like very much, Like moderately, Like slightly) und negativer Antwortmöglichkeiten (Dislike slightly, Dislike moderately, Dislike very much, Dislike extremely) ist gleich groß. Für die Konsumenten besteht die Möglichkeit, ihre gefühlsmäßige Wertschätzung gegenüber den sensorischen Eigenschaften eines Produktes in diskrete, positiv und negativ formulierte Kategorien einer Skala zu transformieren. Die vergleichsweise einfache Handhabung der Neun-Punkte-Hedonik-Skala befähigt auch

---

Testpersonen, die keinerlei Erfahrungen bezüglich sensorischer Produktbeurteilung besitzen. Die Verwendung verbaler Abstufungen in der hedonischen Skala beugt zahlenbedingten Verzerrungseffekten vor (SCHARF 2000).

Aus statistischer Sicht ist die Auswertung nur zulässig, wenn die Abstände zwischen den Kategorien der Skala gleich groß sind, d.h. die Skala intervallskaliert ist (DERNDORFER 2006).

#### **2.6.1.4 Sensorische Präferenztests**

Sensorische Präferenztests sind dadurch gekennzeichnet, dass zwei oder mehrere Produkte direkt gegeneinander beurteilt werden. Es wird indirekt die relative Bevorzugung von Testprodukten ermittelt, dabei werden zwei Methoden, der einfache und der multiple Paarvergleich, unterschieden (STONE und SIDEL 2004).

Bei der Durchführung des Präferenztests muss die Prüfperson für das ihr vorgelegte Probenpaar angeben, welche der beiden Prüfproben sie präferiert, wobei die Beurteilung in der Vorlagereihenfolge erfolgt. Die paarweise Vergleichsprüfung kann in zweierlei Form durchgeführt werden, d.h. als Prüfung mit erzwungener Wahl („forced choice“) oder als „Ex-aequo-Prüfung“, bei der sich der Verbraucher nicht unbedingt für eines der beiden Produkte entscheiden muss (E DIN 10974).

Die sensorischen Präferenztests können in verschiedenen Varianten angewendet werden, dabei sollte die Testperson die Beurteilungsaufgabe leicht verstehen, ohne ein affektives Urteil in einen Skalenwert transformieren zu müssen. Der Vorteil des multiplen Paarvergleichstests besteht darin, dass die Ergebnisse in Rangfolgen oder in metrische Daten transformiert werden können, die sich mittels verschiedener multivarianter Verfahren differenziert analysieren lassen (SCHARF 2000).

Durch die Umrechnung der Messergebnisse in Zahlen kann die Intensität des Genusses oder die momentane Akzeptanz des Produktes beim Verbraucher ermittelt werden. Bei der Beurteilung mehrerer vergleichbarer Produkte kann die Auswertung mit Hilfe einer Beliebtheitsreihenfolge erleichtert werden (E DIN 10974).

Des Weiteren dienen sensorische Präferenztests der Ermittlung affektiver Urteile bei vergleichenden Beprobungen mehrerer Produkte, die sich hinsichtlich ihrer olfaktorischen und/oder gustatorischen Eigenschaften unterscheiden. Die Durchführung ist aufgrund der hohen kognitiven Belastungen und der sensorischen Ermüdung der Testpersonen nicht ratsam. Sensorische Präferenztests sind dazu geeignet, eine Reihe optisch, akustisch oder haptisch variierender Produkte zuverlässig zu beurteilen (SCHARF 2000).

Zwischen sensorischen Akzeptanz- und Präferenztests existieren trotz unterschiedlicher Methoden deutliche Korrelationen in der Umsetzung sowie der Ermittlung von Akzeptanzen und Präferenzen (STONE und SIDEL 2004).

#### **2.6.1.5 Innerhalb-/Außerhalb-Prüfung**

Der Innerhalb/Außerhalb-Test (IN/OUT-Test) hat sich in den letzten Jahren zum Standardtest für die sensorische Qualitätskontrolle entwickelt. Die Prüfer müssen einheitlich beurteilen, ob ein Produkt mit der sensorischen Spezifikation konform (IN) oder nicht konform (OUT) ist. Dieser Test führt sehr schnell zu Freigabeentscheidungen oder Korrekturmaßnahmen. Als Grundvoraussetzung für die Durchführung des Tests müssen die vorab angestrebten sensorischen Abweichungen mittels Attributen und Intensitäten spezifiziert sein (WARENDORF 2002).

Die Innerhalb/Außerhalb-Prüfung wird zum einen zur Prüfung von Produkten angewendet, die das fertige Erzeugnis beeinflussen, wie z.B. Rohwaren, Halbfertigwaren und Verpackungsmaterialien, zum anderen für das Endprodukt selbst. Die Anwendung der Prüfung erfolgt zur Freigabe von Fertigprodukten, zur Ermittlung und Überprüfung der Lagerstabilität und zur Erfassung von Qualitätsveränderungen durch Verarbeitung und Distribution. Ein weiterer möglicher Anwendungsbereich für die Innerhalb/Außerhalb-Prüfung ist die Beurteilung der Verkehrsfähigkeit von Produkten (DIN 10973).

Bei der Innerhalb/Außerhalb-Prüfung gibt es mehrere unterschiedliche Variationsmöglichkeiten. Zum einen die allgemeine (kategoriale), zum anderen die skalierte Prüfung, sowie die deskriptive (beschreibende) Prüfung (DIN 10973).

Bei der kategorischen bzw. einfachen IN/OUT-Prüfung beurteilen die Prüfer lediglich, ob ein Produkt innerhalb oder außerhalb der zuvor festgelegten Spezifikation liegt (DERNDORFER 2006).

Der allgemeine IN/OUT-Test kann universal bei Qualitätsuntersuchungen eingesetzt werden. Er eignet sich hervorragend für die Erkennung gravierender sensorischer Probleme oder starker Schwankungen während einer Produktion (WARENDORF 2002).

Beim skalierten IN/OUT-Test wird die Kategorisierung auf mehrere Stufen einer Skala erweitert, um festzustellen, wie nah oder weit die Produkte von der IN/OUT-Grenze entfernt sind. Dadurch präzisiert sich die Aussagekraft des Tests. Es können Produkte innerhalb einer Kategorie besser voneinander unterschieden und aufkommende Trends zu Qualitätsproblemen frühzeitig erkannt werden. Die Einteilung der Skala ist vierstufig, d.h. im Gegensatz zur kategorialen Prüfung ist die Skala bei der skalierten Prüfung um zwei Stufen erweitert (WARENDORF 2002).

Bei dem deskriptiven IN/OUT-Test wird die IN/OUT-Fragestellung mit einer vereinfachten Profilprüfung kombiniert, dadurch werden zusätzlich quantitative Informationen gewonnen. Diese Variante des IN/OUT-Tests eignet sich insbesondere dann, wenn Qualitätsabweichungen zu erwarten sind und genau aufgezeichnet werden sollen. Dies trifft für Lagertests oder für die Startphase eines neuen Produktes oder einer neuen Linie zu. Die abgefragten Attribute sind auf diejenigen reduziert, die für die Verbraucherakzeptanz am wichtigsten oder charakteristisch für kritische Produktionsparameter oder Rohstoffe sind. Die Prüfer für diesen IN/OUT-Test müssen soweit geschult sein, dass sie die Attribute vollständig verstehen und mit Intensitäten bewerten können (WARENDORF 2002).

### **2.6.2 Planung von sensorischen Prüfungen**

Die Anzahl der Einflussmöglichkeiten, die bei hedonischen Prüfungen berücksichtigt werden müssen, sind erheblich (E DIN 10974). Die Beeinflussung der affektiven Urteile durch extrinsische Produkteigenschaften sollte nach Möglichkeit vermieden werden. Die Prüfperson nimmt im Vorfeld bewusst oder unbewusst Informationen über die zu untersuchenden Produkte auf. Somit entwickeln sich unbewusst persönliche Erwartungen an das zu untersuchende Produkt (SCHARF 2000).

In ein und derselben Prüfung sollten ausschließlich Prüfpersonen gleicher Qualifikation eingesetzt werden (z.B. ausschließlich Laien, Prüfer oder Sensoriker). Je größer die Anzahl der Prüfpersonen ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass Unterschiede in der Rangordnung der Produkte statistisch abgesichert werden können. Hedonische Prüfungen sollten mit mindestens 30 ungeschulten Prüfpersonen durchgeführt werden (BUSCH-STOCKFISCH 2002, II).

Die Prüfung sollte in einem Prüfraum nach DIN 10962 durchgeführt werden. Ein stationäres sensorisches Prüflabor ist ein speziell für sensorische Prüfungen eingerichtetes Labor. Dazu

gehören unter anderem ein Raum mit sensorischen Prüfkabinen, die eine Unabhängigkeit der Antworten der Befragten sicherstellen, sowie ein Vorbereitungsbereich (E DIN 10974).

Ist kein entsprechender Prüfraum vorhanden, so sind folgende Mindestanforderungen einzuhalten: gleich bleibende Beleuchtung (Tageslichtleuchten); geruchsarme Atmosphäre (ausreichende Lüftung); geräuscharme Umgebung und eine von der Produktionsanlage getrennte Arbeitsfläche (DIN 10973).

Testräume für objektive sensorische Prüfungen müssen eine hohe interne Validität der Testergebnisse ermöglichen, d.h., dass die Testpersonen nicht durch ihre Umgebung beeinflusst werden dürfen (DERNDORFER 2006).

Unabhängig von der Art und Ausstattung des Prüfraums muss für ausreichende hygienische Einrichtungen (z.B. Toiletten und Handwascheinrichtungen) gesorgt sein (E DIN 10974).

Bei der Durchführung affektiver Beurteilungen, bei denen das Aussehen von Produkten bewertet werden soll, ist auf eine entsprechende Beleuchtung zu achten. Nach Möglichkeit sollte in den Testräumen eine helle, weiße Beleuchtung vorhanden sein, damit das Produkt nicht fälschlicherweise eine bessere oder schlechtere Bewertung erhält (STONE und SIDEL 2004).

Die zu prüfenden Produkte müssen den Prüfpersonen in Abhängigkeit vom Prüfdesign, wann immer möglich, anonymisiert vorgelegt werden. Zur Identifizierung dient allein der vom Labor vergebene Code. Deshalb müssen alle Hinweise, an denen ein Produkt identifiziert werden könnte, entfernt oder maskiert werden (E DIN 10974).

Die Anforderungen an die Vorbereitung der Proben sind in den einzelnen DIN-Normen exakt beschrieben und vorgegeben. Grundsätzlich sind bei allen Prüfungen folgende Anforderungen an die Proben zu beachten: Zur Gewährleistung einheitlicher Beeinflussungen müssen die Prüfbedingungen während einer Prüfung für alle Prüfer gleich sein. Alle Prüfproben einer Rangordnung müssen das gleiche Erscheinungsbild aufweisen und müssen sich in identischen Gefäßen befinden. Die Vorlage der Prüfproben muss in gleicher Weise erfolgen und die Proben müssen zum Zeitpunkt der Prüfung einheitliche Temperaturen aufweisen. Zudem muss eine ausreichende Prüfprobenmenge vorrätig sein, so dass ein Rückkosten möglich ist. Zu jeder Prüfung ist durch den Prüfungsleiter eine neue Verschlüsselung der Prüfproben mit dreistelligen Zufallszahlen vorzunehmen, damit eine eventuelle Zuordnung der Proben durch die Panellisten ausgeschlossen werden kann. Die Probenanzahl sollte dem Schwierigkeitsgrad der Fragestellung entsprechen, im allgemeinen sollten nicht mehr als 6 Proben gleichzeitig beprüft werden (BUSCH-STOCKFISCH 2002, II).

### **2.6.3 Statistische Auswertung von sensorischen Prüfungen**

Jede Datenanalyse sollte mit einer Überprüfung der Daten und mit elementar-statistischen Berechnungen beginnen.

Zur Untersuchung von Verlaufsdaten ist der Einsatz von grafischen Verfahren sehr nützlich. Für jede bewertete Probe sollte ein Histogramm erstellt werden, d.h. eine graphische Darstellung der Häufigkeitsverteilung von Messwerten. Daraus wird ersichtlich, ob die Verteilung monomodal ist oder nicht und ob es große Varianzen von einer Probe zur anderen gibt oder nicht. Für jeden in der Auswertung erscheinenden Zentralparameter, wie z.B. den Mittelwert, muss es mindestens einen Dispersionsparameter, wie z.B. den der Standardabweichung geben. Darüber hinaus können parametrische oder nicht-parametrische Methoden angewendet werden, dabei sind insbesondere die nichtparametrischen Methoden sehr nützlich, wenn die Voraussetzungen der Normalverteilung und Varianzgleichheit nicht gegeben sind (E DIN 10974).

Bei jeder statistischen Ergebnisanalyse muss die Irrtumswahrscheinlichkeit der Ergebnisentwicklung berücksichtigt werden. Führt die Bewertung von zwei unterschiedlichen Produkten zu dem statistischen Ergebnis, dass der Unterschied zwischen den Proben signifikant ist, muss bei der Auswertung berücksichtigt werden, wie hoch die tatsächliche Wahrscheinlichkeit für das Zustandekommen der Ergebnisse ist (STONE und SIDEL 2004).

Die Unterschiede zwischen zwei Messgrößen sind signifikant, wenn die Wahrscheinlichkeit, dass sie durch Zufall entstanden sind, gering ist (STAHEL 2008).

Ausgangspunkt jedes statistischen Tests ist eine Hypothese, z.B., dass zwischen mehreren zu untersuchenden Proben keine Unterschiede bestehen (Nullhypothese). Daraus entwickelt sich zwangsläufig eine Gegenhypothese, die besagt, dass Unterschiede zwischen den zu untersuchenden Proben zu erkennen sind. In den folgenden Untersuchungen wird dann festgestellt werden, welche der beiden Hypothesen wahr ist und welche verworfen werden muss. Die Idee statistischer Tests liegt darin, genau das Gegenteil der angestrebten Aussage anzunehmen und zu hoffen, dass man die entsprechende Hypothese verwerfen kann (MEYNERs und KUNERT 2002, VI).

Die Ablehnung bzw. Verwerfung der Nullhypothese sollte nicht fälschlicherweise erfolgen. Die Nullhypothese wird nur dann verworfen, wenn die Wahrscheinlichkeit für das Zustandekommen des beobachteten Ergebnisses unter der Annahme, dass ein Unterschied besteht, kleiner als ein bestimmter kritischer Wert ist (DERNDORFER 2006).

Die Auswertung der Daten erfolgt aufgrund der Berücksichtigung von Unterschieden, wie z.B. der statistischen Signifikanz, wenn der Wert für  $\alpha \leq 0,05$  ist. Der Wert  $\alpha \leq 0,05$  bestätigt, dass unter der Annahme, dass das Ergebnis nicht auf Verwechslungen basiert, zwischen zwei Proben ein Unterschied besteht (STONE und SIDEL 2004).

Der  $\alpha$ -Fehler oder  $\alpha$ -Wert wird auch als Signifikanzniveau oder als Irrtumswahrscheinlichkeit bezeichnet und muss vor jeder statistischen Analyse festgelegt werden (DERNDORFER 2006).

Bestätigen die Untersuchungen die formulierte Nullhypothese, so kann die Alternativhypothese verworfen werden. Sollte die Nullhypothese nicht bestätigt werden können, wird der so genannte  $\alpha$ - Fehler begangen (MEYNERs und KUNERT 2002, VI).

Muss die Nullhypothese aufgrund der sensorischen Beurteilungsergebnisse verworfen werden, obwohl die Tatsachen nachweislich aufzeigen, dass z.B. kein Unterschied zwischen den untersuchten Proben existiert, so wird der  $\beta$ -Fehler begangen. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine falsche Nullhypothese nicht abgelehnt wird, wird als  $\beta$ -Fehler bezeichnet (STONE und SIDEL 2004).

In statistischen Auswertungen kann in der Regel nur die Wahrscheinlichkeit für den  $\alpha$ -Fehler kontrolliert werden. Aus diesem Grund wird eine gegenteilige Hypothese formuliert, um zu vermeiden, dass sich fälschlicherweise für die Alternativhypothese entschieden wird. Die Wahrscheinlichkeit nicht zu registrieren, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den Proben bestehen, kann hingegen nur abgeschätzt werden. Allgemein ist die Wahrscheinlichkeit jedoch relativ groß. Die beiden möglichen Ergebnisse eines statistischen Tests sind daher auch unterschiedlich zu gewichten. Wird sich für die Alternativhypothese entschieden, geschieht dies mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit  $\alpha$ . Die Fehlerwahrscheinlichkeit wird z.B. als  $\alpha = 5 \%$  festgesetzt, d.h., dass sich 5 von 100 Prüfern fälschlicherweise für die Alternativhypothese entscheiden (MEYNERs und KUNERT 2002, VI).

Die Festlegung der Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha$  auf 5 % bzw. auf 1 % erfolgt individuell. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 %, bzw.  $\alpha \leq 0,01$ , erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass fälschlicherweise ein Unterschied zwischen zwei Produkten registriert wird. Zwischen

den Werten  $\alpha$  und  $\beta$  besteht eine mathematische Beziehung. Das Ausmaß der Werte ist von der Anzahl der Testpersonen, der Differenz zwischen den Werten und der Zuverlässigkeit der Ergebnisse abhängig (STONE und SIDEL 2004).

Bei der Durchführung sensorischer Analysen werden in den meisten Fällen zwei oder mehrere Proben entsprechend einer bestimmten Versuchsanordnung beurteilt. Es besteht die Möglichkeit, die Produkte relativ zueinander zu vergleichen. Die unterschiedlich wahrgenommenen Eigenschaften werden mit Hilfe einer Skala gemessen und dokumentiert. Anhand der gemessenen Unterschiede muss nun ermittelt werden, ob diese durch ungenaue Messungen zustande gekommen sind oder ob tatsächlich ein signifikanter Unterschied besteht (DERNDORFER 2006).

### 2.6.3.1 Auswertung von Rangordnungsprüfungen

Einer der gebräuchlichsten statistischen Tests für die Auswertung von Rangplätzen ist der Friedmann-Test für abhängige Stichproben. Dieser Test zeigt an, inwieweit von den Prüfpersonen insgesamt zwischen den  $k$  Prüfproben Unterschiede bezüglich einer Merkmalseigenschaft festgestellt werden (DIN 10963).

Der Friedmann-Test ist ein nichtparametrischer statistischer Test zum Vergleich von drei oder mehr gepaarten Stichproben (LAWLESS und HEYMANN 1998).

Vor der Untersuchung wird angenommen, dass kein Unterschied zwischen den Prüfproben besteht (Nullhypothese). Die folgende Untersuchung zeigt, ob die beobachteten Werte dieser Annahme so stark widersprechen, dass die Nullhypothese verworfen werden muss (DERNDORFER 2006).

Zur Berechnung der Friedmann-Statistik  $F$  wird angenommen, dass  $n$  Verbraucher  $p$  Produkte einstufen und dass  $R_i$  die errechnete Rangsumme ist, die ein Produkt  $i$  bei dem Test erhalten hat. Die Rangsumme nähert sich  $R_i n p (p+1)/2$ , wenn die  $p$  Produkte gleich präferiert werden. Mit der Friedmann'schen Statistik wird die Abweichung wie folgt berechnet:  **$F_R = 12/(n k(k+1)) R-3n (k+1)$**

Bei Rangordnungsprüfungen werden jeder der  $n$  Prüfpersonen  $k$  Proben mit der Aufgabe vorgelegt, sie entsprechend einer vorgegebenen Eigenschaft zu sortieren. Bei fünf Proben sollen die Ränge 1,2,3,4 und 5 vergeben werden, ist die eindeutige Zuordnung von zwei Prüfproben nicht möglich, können die entsprechenden Ränge geteilt werden (z.B. 1, 2, 3.5, 3.5, 5). Bei der Berechnung der Rangsumme ist darauf zu achten, dass jede Rangfolge bei der Auswertung die identische Summe erreicht, d.h., dass bei einer Rangfolge mit vier Proben die Rangsumme der vergebenen Ränge immer 10 betragen muss (DERNDORFER 2006).

### 2.6.3.2 Auswertung von Präferenztests

Die Auswertung des Präferenztests erfolgt auf der Grundlage der Nullhypothese. Ausgehend davon, dass  $k$  Testpersonen Probe A und  $m$  Testpersonen Probe B präferieren, wird die Wahrscheinlichkeit für die Bestätigung der Nullhypothese berechnet. Ist die Wahrscheinlichkeit kleiner als das zuvor festgelegte Signifikanzniveau (0,05), existieren keine Unterschiede zwischen den Proben. Die Testpersonen präferieren keines der beiden Produkte, somit wäre in diesem Fall die Nullhypothese bestätigt (DERNDORFER 2006).

---

### 2.6.3.3 Auswertung von Akzeptanztests

Der Akzeptanztest zweier Produkte wird anhand einer hedonischen Neun-Punkte-Skala beurteilt. Anschließend wird ermittelt, ob der beobachtete Unterschied signifikant zu einem bestimmten Niveau  $\alpha$  ist. In Abhängigkeit davon, ob jede Prüfperson alle Proben beurteilt oder die Proben von unterschiedlichen Prüfpersonen beurteilt werden, wird der t-Test für abhängige bzw. unabhängige Stichproben verwendet. Der daraus zu berechnende p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit für das Zustandekommen des beobachteten Unterschiedes zwischen zwei Proben unter der Annahme, dass sich die Proben nicht unterscheiden, an. Es gilt, bei einem p-Wert kleiner  $\alpha$  (0,05), dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Proben besteht (DERNDORFER 2006).

Die Auswertung der hedonischen Skala basiert auf der Häufigkeitsverteilung der einzelnen Kategorien auf der Skala. Die einzelnen Kategorien erhalten zur Auswertung in aufsteigender Reihenfolge jeweils eine Zahl von Eins bis Neun zugeordnet. Die Eins für die Kategorie: „gefällt überhaupt nicht“, für die geringste Akzeptanz und die Neun für die Kategorie: „gefällt extrem gut“, für die größte Akzeptanz des Produktes. Die ermittelten Werte für die einzelnen Proben werden in einer Tabelle gesammelt und gemittelt (DERNDORFER 2006).

Die Berechnung des Mittelwertes erfolgt wie in der Auswertung der Rangordnungsprüfungen beschrieben. Für die Auswertung der hedonischen Skala gilt: Je höher der gemittelte Wert, desto größer ist die Akzeptanz für ein bestimmtes Attribut. Für die Auswertung gilt, wenn die p-Werte  $\geq 0,05$  sind, existiert kein signifikanter Unterschied und die Nullhypothese wird akzeptiert. Ist der p-Wert  $\leq 0,05$ , besteht ein signifikanter Unterschied und es gilt die Alternativhypothese.

### 2.6.3.4 Auswertung von Innerhalb-/Außerhalb-Prüfungen

Für die Auswertung des allgemeinen (kategorialen) Innerhalb/Außerhalb-Tests wird der prozentuale Anteil der In-Urteile im Zusammenhang aller Urteile errechnet. Anhand vorab festgelegter Entscheidungskriterien erfolgt eine Freigabe oder eine Sperrung des untersuchten Produktes.

Die Auswertung des skalierten In-/Out-Tests orientiert sich an der Häufigkeitsverteilung der Antworten. In der Praxis ist häufig die Anzahl an Antworten nicht ausreichend. Daher ist die Festlegung von Entscheidungskriterien anhand unterschiedlicher Antwortkombinationen zu einem Gesamtergebnis praktikabler. Ein deskriptiver In-/Out-Test wird zur Entscheidungsfindung anhand der In-/Out-Urteile in gleicher Weise ausgewertet. Das zusätzliche Kurzprofil wird entsprechend einer Profilprüfung durch Berechnung des Mittelwertes und des Vertrauensbereiches jedes einzelnen Attributes ausgewertet (WARENDORF 2002, V).

### 3. Eigene Untersuchungen

#### 3.1 *Material*

Die detaillierten Produktdaten und jeweiligen Kenngrößen der verwendeten Materialien und Rohstoffe sind dem Anhang der vorliegenden Arbeit zu entnehmen.

##### 3.1.1 Probenmaterial

In den Vorversuchen wurde ein handelsübliches, ungewürztes Hackfleisch aus entsehnter Putenbrust hergestellt. Für die Hauptversuche wurde handelsübliches, ungewürztes Geflügelhackfleisch aus Putenflügel- bzw. Putenoberkeulenfleisch hergestellt. Hintergrund des Einsatzes verschiedener Fleischpartien zur Herstellung des Hackfleisches war die Überlegung, ob die eingesetzten Schutzkulturen hinsichtlich unterschiedlicher Fleischparameter, wie z.B. Farbe, pH-Wert und mikrobiologischer Status, unterschiedliche mikrobiologische und sensorische Effekte auf das Hackfleisch ausüben.

Das für die Versuche benötigte Fleisch stammte von frisch geschlachteten weiblichen Puten eines EG-zugelassenen Schlacht- und Verarbeitungsbetriebes in Norddeutschland. Zur Verarbeitung wurde ausschließlich mageres, grob entsehntes und zerteiltes Brust-, Flügel- bzw. Keulenfleisch herangezogen. Im Anschluss an die Vorzerkleinerung im Geflügelschlacht- und Verarbeitungsbetrieb wurde das Fleisch in Transportkisten verpackt und zur weiteren Verarbeitung unter kontinuierlicher Kühlung bei  $\leq 4$  °C (Verordnung (EG) Nr. 853/2004) im Kühltransporter innerhalb von 2 Stunden in das Technikum der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover transportiert, wo das Fleisch im direkten Anschluss weiterverarbeitet wurde. Nach der Ankunft im Technikum der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover wurden bei jedem Rohstoff die Temperatur und der pH-Wert gemessen, um zu überprüfen, ob die Kühlkette während des Transportes eingehalten wurde. Auf die Einstellung bestimmter Parameter, wie z.B. Fettgehalt, wurde in diesen Versuchen verzichtet, da diese für das Wachstum der Schutzkulturen nur eine untergeordnete Rolle spielen. Für die weitere Verarbeitung wurde das Fleisch in Portionsgrößen von 2 kg eingewogen. Zudem wurden von allen Anlieferungen Proben für die durchzuführenden Analysen genommen.

##### 3.1.2 Verwendete Schutzkulturen

In diesem Projekt wurden die folgend beschriebenen Kulturen der Firma Chr. Hansen verwendet und getestet: B-LC-20 Safe Pro<sup>TM</sup> und B-SF-43 Bactoferm<sup>TM</sup>.

**B-LC-20 Safe Pro<sup>TM</sup>:** ist eine Stammkultur aus *Pediococcus acidilactici*. Als bakteriozinproduzierender Stamm hemmt er durch die Bildung von Pediocin insbesondere die Entwicklung von *Listeria monocytogenes ssp.* und anderer pathogener und verderbniserregender Mikroorganismen. B-LC-20 Safe Pro<sup>TM</sup> wird zusätzlich zur verwendeten Starterkultur bei der Herstellung von Rohwurst eingesetzt, die bei Temperaturen unter +26 °C fermentiert wird. Dabei beeinflusst die Kultur weder das Säuerungsprofil noch die sensorischen Eigenschaften des Produktes negativ. (HANSEN 2002)

**B-SF-43 Bactoferm<sup>TM</sup>:** ist eine Stammkultur aus *Leuconostoc carnosum 4010*. Als bakteriozinproduzierender Stamm hemmt er insbesondere die Entwicklung von *Listeria monocytogenes*. Darüber hinaus unterdrückt die Kultur das Wachstum verderbniserregender und pathogener Mikroorganismen, sowie die ursprünglich vorhandene Laktobazillenflora.

---

*Leuc. carnosum* wächst bei Temperaturen von +2 - +30 °C und ist ebenfalls gefrierstabil. Diese Schutzkultur wird für vakuum- oder schutzgasverpackte, kühlgelagerte Fleischprodukte empfohlen (HANSEN 2002).

## **3.2 Methoden**

Die detaillierten Daten und jeweiligen Kenngrößen der verwendeten Geräte und Instrumente sind dem Anhang der vorliegenden Arbeit zu entnehmen.

### **3.2.1 Applikation der Schutzkulturen**

Zur Etablierung einer geeigneten Applikationsmethode wurden im Rahmen des Projektes verschiedene Möglichkeiten untersucht, die Schutzkulturen in das Hackfleisch einzubringen. Zudem wurden die Effekte unterschiedlicher Inokulationsmengen und Inokulationszeitpunkte auf das Wachstum und die protektiven Eigenschaften der Kulturen untersucht.

#### **3.2.1.1 Applikation von lyophilisierten Kulturen**

Zunächst erfolgte die Applikation der Schutzkulturen in das Hackfleisch ausschließlich gemäß den Dosierungsanweisungen des Herstellers. Auf 100 g Hackfleisch wurden 0,025 g der jeweiligen lyophilisierten Schutzkultur an der Analysenwaage eingewogen und für die weitere Verwendung in sterile Eppendorf-Tubes überführt. Die Einwaage entspricht einer Keimzahl der jeweiligen Schutzkultur von ca.  $10^6$  -  $10^7$  KbE/g Fleisch. Zum Vergleich wurden bei jeder Produktion auch Kontrollproben ohne Schutzkulturen hergestellt. In weiteren Versuchen wurde das grob zerkleinerte Fleisch vor dem Mischen und Wolfen mit unterschiedlichen Mengen der jeweiligen Schutzkulturen inokuliert, um Wachstum und protektive Effekte der Kulturen bei den jeweiligen Inokulationsmengen zu untersuchen. An der Analysenwaage wurden diesbezüglich pro 100g Hackfleisch 0,025 g; 0,05 g; 0,1 g; 0,2 g der jeweiligen gefriergetrockneten Kultur eingewogen und für die weitere Verwendung in Eppendorf-Tubes überführt. Auch in diesen Versuchen wurden zum Vergleich Kontrollproben ohne Schutzkulturen produziert.

#### **3.2.1.2 Applikation von Schutzkultursuspensionen**

Zur Untersuchung möglicher Effekte der Applikationsmethode auf das Wachstum und die protektiven Eigenschaften der Schutzkulturen wurden neben der Applikation von Lyophilisaten auch Schutzkultur-Suspensionen in das Fleisch inokuliert. Zu diesem Zweck wurden die eingewogenen Schutzkultur-Lyophilisate in 5 ml NaCl-Pepton-Lösung resuspendiert. Der Eintrag der Suspensionen in das vorbereitete und eingewogene Fleisch (2 kg) erfolgte mit Hilfe einer sterilen Eppendorf-Pipette. Auch bei diesen Versuchen wurden zur Kontrolle Proben ohne Schutzkulturen hergestellt.

#### **3.2.1.3 Sprühverneblung der Schutzkultursuspensionen**

Neben den beiden bereits beschriebenen Methoden wurde auch eine Sprühverneblung der Schutzkulturen als Applikationsmethode getestet. Zu diesem Zweck wurden die eingewogenen Schutzkulturen in NaCl/Pepton-Lösung resuspendiert und mit Hilfe eines Handzerstäubers als Aerosol auf die Produktoberfläche aufgetragen, nachdem das Hackfleisch in die MAP-Schalen gefüllt worden ist.

### 3.2.2 Mischen und Wolfen des Hackfleischs

Nach dem Eintrag der Schutzkulturen wurden jeweils 2 kg des grob zerkleinerten inokulierten Fleisches mit Hilfe einer Küchenmaschine für 15 min. durchmischt, um eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Schutzkulturen in den Proben zu garantieren. Die Kontrollproben (2 kg) wurden aus Gründen einer einheitlich definierten Verfahrenstechnik ebenfalls für die Dauer von 15 Minuten mit Hilfe der Küchenmaschine durchmischt. Im Anschluss daran wurden die jeweiligen Fleischmischungen im Fleischwolf mit einer Lochscheibe der Größe 4,5 mm zerkleinert. Das frisch hergestellte Hackfleisch wurde mit Hilfe eines Messers von der Lochscheibe abgetrennt und in Portionsgrößen von ca. 100 Gramm in handelsübliche, transparente MAP-Schalen zur Verpackung von Frischfleisch verbracht. Die Portionsgrößen von 100 g wurden gewählt, um den Fleischeinsatz möglichst gering und ökologisch vertretbar zu gestalten.

**Tabelle 6: Übersicht über den Versuchsaufbau im VVS**

Einwaage in g / 100g Fleisch		Fleisch	Untersuchungen	Applikation
B-LC 20 Safe Pro™, B-SF 43 Bactoferm™	0,000	Putenbrust	Mikrobiologie, pH-Wert, a <sub>w</sub> -Wert, Sensorik, Farbmessung	Lyophilisat, Suspension, Sprühnebel
	0,025			
	0,050			
	0,100			
	0,200			

### 3.2.3 Verpackung des Hackfleischs

Die Verpackung der jeweiligen Versuchschargen erfolgte mit einer halbautomatischen Schalenversiegelungsanlage (Fa. Multivac) in direktem Anschluss an das Wolfen, da so eine sehr praxisnahe Verpackung des hergestellten Hackfleischs gewährleistet werden konnte. Das Verpacken bzw. das Versiegeln der MAP-Schalen erfolgte unter einer Schutzgasatmosphäre, bestehend aus 70 % O<sub>2</sub> und 30 % CO<sub>2</sub>. Als Verschlussfolie für die Schutzgasverpackungen wurde eine Verbundfolie ausgewählt, bestehend aus einer PET Trägerbahn, die mit einer PVDC Sauerstoffbarriere beschichtet ist und eine PP-Copo basierende, antifog-ausgerüstete Siegelschicht besitzt.

Im direkten Anschluss an das Verpacken wurden die Proben mit einem 3-stelligen Zahlencode aus Zufallszahlen ohne Wiederholungen versehen, um eine anonyme Auswertung der folgenden Untersuchungen vornehmen zu können (BUSCH-STOCKFISCH 2002, E DIN 10974).

### 3.2.4 Transport der Probenpackungen

Im Anschluss an die Versiegelung wurden die Probenpackungen in Transportkisten verpackt und unter Kühlung ( $\leq +4$  °C) vom Technikum des Institutes für Lebensmittelqualität und –sicherheit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover in das Technikum des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover transportiert. Die Unterbrechung der Kühlkette verursachte einen Anstieg der Kerntemperatur des Hackfleischs um 1,5 °C auf durchschnittlich +3,5 °C.

### 3.2.5 Lagerung der Proben

Die Lagerung der unter modifizierter Atmosphäre verpackten Hackfleischproben erfolgte in einem Kühlschrank im Technikum des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover, bei Gewährleistung einer konstanten Kühltemperatur von  $+2 \pm 0,5$  °C. Die Überprüfung der Lagertemperatur wurde täglich mit

einem probennah im Kühlschrank angebrachten Thermometer durchgeführt. Die Lagerdauer umfasste einen Zeitraum von 10 Tagen. Während der gesamten Lagerungszeit wurden die Proben an den Tagen 0, 3, 5, 7 und 10 mikrobiologisch, physikalisch und sensorisch untersucht.

### **3.2.6 Dotierung der Proben mit Indikator Mikroorganismen**

Bei der Auswahl der in dieser Arbeit eingesetzten Indikatorkeime wurden typische produktspezifische und humanpathogene Mikroorganismen berücksichtigt, die beim Menschen durch den Verzehr von kontaminierten Geflügelprodukten lebensmittelassoziierte Krankheiten verursachen können.

Für die Dotierung des Hackfleischs mit den Indikator Mikroorganismen wurden verschiedene Stammlösungen mit den jeweiligen Mikroorganismen hergestellt. Die Indikatorkeime wurden zur Herstellung der jeweiligen Suspensionen aus der Stammsammlung entnommen, in ein Reagenzglas mit 9 ml BHI-Bouillon überführt und bei den entsprechend erforderlichen Temperaturen für  $24 \pm 2$  Stunden inkubiert. Im Anschluss daran erfolgte die Absorptionsmessung der hergestellten Keim-Suspensionen bei 660 nm. Anhand der angefertigten Absorptions-Konzentrations-Trendlinien wurden den gemessenen Absorptionen die entsprechenden Konzentrationen zugeordnet. Durch die Herstellung von dezimalen Verdünnungsreihen mit NaCl/Pepton-Lösungen wurden in den Keimsuspensionen definierte Keimgehalte eingestellt, die für die spätere Dotierung der Hackfleischproben benötigt wurden.

### **3.2.7 Herstellung von keimarmem, artifiziell beimpftem Hackfleisch**

In Vorversuchen wurden auf der Basis von Caso-Bouillon 100 ml-Keimsuspensionen mit einer Keimdichte von ca.  $2 \cdot 10^4$  KbE/ml hergestellt. Die hergestellten Keimsuspensionen wurden jeweils mit 0,05 g bzw. mit 0,25 g der jeweiligen lyophilisierten Schutzkulturen/100 ml Suspension inokuliert und im Anschluss daran für die Dauer von 10 Tagen bei  $+2$  °C gelagert. Während der gesamten Lagerungszeit wurden die Proben an den Tagen 0, 3, 5, 7 und 10 mikrobiologisch und physikalisch untersucht.

Für die Herstellung von keimarmem und artifiziell beimpftem Hackfleisch wurde in den Versuchen frisch hergestelltes Hackfleisch zu je 20 g in sterile Spitzküvetten mit Schraubverschluss verbracht und für die Dauer von 14 Tagen bei  $-80$  °C tiefgefroren, um die produktspezifische Hintergrundflora des Fleisches subletal zu schädigen bzw. zu reduzieren. Nach der Gefrierbehandlung wurden die Proben-Küvetten bei  $+2$  °C im Kühlschrank aufgetaut und mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette mit ca.  $2 \cdot 10^4$  KbE/g der jeweiligen Indikator Mikroorganismen sowie mit ca.  $10^7$  KbE/g der jeweiligen Schutzkultur inokuliert.

Im Anschluss an die Co-Inokulation wurden die geöffneten Küvetten in handelsübliche MAP-Schalen überführt und an der Schalenversiegelungsanlage unter Schutzgasatmosphäre verpackt. Im Anschluss an die Verpackung wurden die MAP-Schalen mit den Probenküvetten für die Dauer von 10 Tagen bei  $+2$  °C gelagert. Während der gesamten Lagerungszeit wurden die Proben an den Tagen 0, 3, 5, 7 und 10 mikrobiologisch und physikalisch untersucht.

Tabelle 7: Übersicht über den Versuchsaufbau in HVS 2

Einwaage in g / 100g Fleisch		Indikatorkeime ( $10^4$ KbE/g)	Untersuchung	Applikation
B-LC 20 Safe Pro <sup>TM</sup> , B-SF 43 Bactoferm <sup>TM</sup>	0,000 0,025	<i>Staph. aureus</i> , <i>S. enterica</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>C. jejuni</i> ,	Mikrobiologie, pH-Wert, $a_w$ -Wert Farbmessung Sensorik	Lyophilisat

### 3.2.8 Mikrobiologische Methoden

Die mikrobiologischen Untersuchungen umfassten die quantitativen Bestimmungen der Parameter aerobe mesophile Gesamtkeimzahl, aerobe psychrotrophe Gesamtkeimzahl, aerob wachsende Milchsäurebakterien ssp., anaerob wachsende Laktobazillen ssp., *Enterobacteriaceae* ssp., *Pseudomonas* ssp., *Brochotrix thermosphacta*, *Listeria* ssp., *Salmonella* ssp. und *Campylobacter* ssp.. Die Vorbereitung der Proben für die Untersuchungen erfolgte nach der Methode L 00.06-16 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren für Fleisch und Fleischerzeugnisse (§ 64 LFGB).

Jeweils 20 g der zu untersuchenden Proben wurden auf der Laborwaage in einen Stomacherbeutel eingewogen und mit 180 ml Verdünnungslösung (NaCl-Pepton-Lösung) vermenget. Mithilfe des Beutel-Walkmischers wurden die Proben für 120 Sekunden homogenisiert. Zur Verdünnung der Proben wurde eine dezimale Verdünnungsreihe angesetzt mit Verdünnungen im Verhältnis 1: 10 ( $10^{-1}$ ), 1: 100 ( $10^{-2}$ ), 1: 1000 ( $10^{-3}$ ) usw.. Die Anzahl der Dezimalverdünnungen richtete sich nach dem zu erwartenden Keimgehalt der Probe. Je höher dieser geschätzt wurde, desto höher war auch die Verdünnungsstufe zu wählen. Die Herstellung der dezimalen Verdünnungsreihen erfolgte immer nach dem gleichen Schema. 1 ml der Probensuspension (1. Verdünnungsstufe) wurde in ein mit 9 ml Verdünnungsflüssigkeit befülltes Reagenzglas pipettiert. Nach dem kräftigen Durchmischen auf dem Vortex Mixer wurde 1 ml dieser zweiten Verdünnungsstufe wieder entnommen und wiederum mit 9 ml Verdünnungsflüssigkeit durchmischt. Es entstand eine dritte Verdünnungsstufe. Dieses Verdünnungsschema wird bis zur gewünschten Verdünnungsstufe weitergeführt. Die weiteren Untersuchungen der Verdünnungsreihen erfolgen mit Hilfe des Plattenguss- bzw. Spatelverfahren zur quantitativen und qualitativen Bestimmung der koloniebildenden Einheiten (BAUMGART, 2004).

#### 3.2.8.1 Aerobe mesophile GKZ (nach Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)

Der Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl erfolgte im Plattengussverfahren mit jeweils 1 ml der verdünnten Probe im Doppelansatz in Pepton-Hefeextrakt-Glucose-Agar. Die beimpften Platten wurden unter aeroben Bedingungen 72 Stunden bei einer Temperatur von +30 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden alle Kolonien gezählt.

#### 3.2.8.2 Aerobe psychrotrophe GKZ (nach Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)

Der Nachweis der aeroben psychrotrophen Gesamtkeimzahl erfolgte im Plattengussverfahren mit jeweils 1 ml der verdünnten Probe im Doppelansatz in Pepton-Hefeextrakt-Glucose-Agar. Die beimpften Platten wurden unter aeroben Bedingungen 240 Stunden bei einer Temperatur von +5 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden alle Kolonien gezählt.

---

**3.2.8.3      *Enterobacteriaceae* (nach Methode L 06.00-24 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)**

Der Nachweis der *Enterobacteriaceae* erfolgte im Oberflächenspatelverfahren mit jeweils 0,1 ml der verdünnten Probe im Doppelansatz auf Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar (Violet-Red-Bile-Dextrose-Agar nach Mossel). Die beimpften Platten wurden unter anaeroben Bedingungen 48 Stunden bei einer Temperatur von +30 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden alle roten und rosafarbenen Kolonien mit und ohne Präzipitationshof gezählt.

**3.2.8.4      *Pseudomonas* spp. (nach Methode L 06.00-43 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB nach DIN ISO 13720)**

Der Nachweis der *Pseudomonas* spp. erfolgte im Oberflächenspatelverfahren mit jeweils 0,1 ml der verdünnten Probe im Doppelansatz auf Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar (*Pseudomonas-Aeromonas*-Selektivagar nach Kielwein). Zur Verbesserung der Selektivität wurden dem autoklavierten und auf +50 °C bis +45 °C abgekühlten Agar vor dem Gießen 0,06 g/l Penicillin-G zugemischt. Der beimpfte Nährboden wurde unter aeroben Bedingungen 72 Stunden bei +30 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden zur quantitativen Bestimmung alle blauvioletten Kolonien mit rotvioletter Umgebung gezählt. Zur Bestätigung wurden drei positive Kolonien je Platte mit Bactident® Oxidase-Teststäbchen auf Cytochromoxidase getestet. Mit einer sterilen Impföse wurden die verdächtigen Kolonien auf die Reaktionszone des Teststäbchens überführt. Durch eine Blaufärbung der Zone wurden oxidasepositive Kolonien identifiziert.

**3.2.8.5      *Brochotrix thermosphacta* (in Anlehnung an HECHELMANN (1981))**

Der Nachweis von *Brochotrix thermosphacta* erfolgte im Oberflächenspatelverfahren mit jeweils 0,1 ml der verdünnten Probe im Doppelansatz auf Streptomycin-Inosit-Neutralrot-Agar. Die beimpften Platten wurden unter aeroben Bedingungen 48 Stunden bei einer Temperatur von +25 °C inkubiert. Im Anschluss wurden alle rotvioletten Kolonien gezählt.

**3.2.8.6      *Aerob wachsende MSB* spp. (nach Methode L 06.00-35 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)**

Der Nachweis von aerob wachsenden Milchsäurebakterien erfolgte im Doppelansatz mit 0,1 ml der verdünnten Probe im Oberflächenspatelverfahren auf *Lactobacillus*-Agar nach de Man, Rogosa und Sharpe. Die beimpften Platten wurden bei einer Temperatur von +25 °C für 72 Stunden unter aeroben Bedingungen inkubiert. Zum Auszählen wurden kleine, opake, weiße Kolonien herangezogen.

**3.2.8.7      *Anaerob wachsende Laktobazillen* spp. (in Anlehnung an Methode L 06.00-31 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)**

Der Nachweis von anaerob wachsenden Laktobazillen erfolgte im Doppelansatz mit 0,1 ml der verdünnten Probe im Oberflächenspatelverfahren auf *Lactobacillus*-Agar nach de Man, Rogosa und Sharpe. Die beimpften Platten wurden bei einer Temperatur von +25 °C für 72 Stunden unter anaeroben Bedingungen inkubiert. Zum Auszählen wurden kleine, opake, weiße und graue Kolonien herangezogen.

### 3.2.8.8 *Salmonella* spp. (in Anlehnung an die Methode L 00.00-20 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)

25 g der zu untersuchenden Probe wurden zur Voranreicherung in einen Stomacherbeutel eingewogen und 225 ml gepuffertes Peptonwasser hinzugefügt. Mithilfe des Beutel-Walkmischers wurden die Proben für 120 Sekunden homogenisiert und anschließend unter aeroben Bedingungen für 20 Stunden bei +37 °C inkubiert. Nach der Voranreicherung wurden 0,1 ml der Probe mit 10 ml *Salmonella*-Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT und 1 ml der Voranreicherung mit 10 ml Tetrathionat-Brillantgrün-Galle-Anreicherungsbouillon vermischt. Die *Salmonella*-Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT wurde für 24 Stunden bei einer Temperatur von +42 °C aerob inkubiert. Die Tetrathionat-Brillantgrün-Galle-Anreicherungsbouillon-Bouillon wurde für 24 Std bei einer Temperatur von 37 °C aerob inkubiert. Nach der Inkubationszeit der Anreicherungen wurden diese mit einer Impföse auf RAMBACH®-Agar ausgestrichen und unter aeroben Bedingungen bei +37 °C für 48 Stunden inkubiert. Im Anschluss wurden kräftig rosa gefärbte Kolonien auf Standard-I-Nähragar überimpft und bei +37 °C erneut aerob inkubiert. Zur Identifizierung diente der serologische Agglutinationstest mit *Salmonella*-Antiseren (*Salmonella* I und II). Hierfür wurde auf einen Objektträger jeweils ein Tropfen Serum gegeben, mit der Impföse eine Kolonie vom Standard-I-Nähragar entnommen, auf dem Objektträger mit dem Serum verrieben, durch vorsichtiges Schwenken des Objektträgers weitervermischt und festgestellt, ob eine Agglutination der Probe zu beobachten war.

Bei der quantitativen Bestimmung der Keimzahlen wurde auf eine Voranreicherung verzichtet. Hierfür wurden 25 g der Hackfleischprobe in 225 ml NaCl/Pepton-Lösung verbracht und mit Hilfe des Beutelwalkmischers homogenisiert. Im Anschluss an die Dezimalverdünnung der Proben wurden zum quantitativen Nachweis jeweils 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe im Oberflächenspatelverfahren auf XLD- bzw. RAMBACH®-Agar ausgebracht und bei +37 °C für 48 Stunden aerob inkubiert.

### 3.2.8.9 *Campylobacter* spp. (nach Methode ISO 10272)

Zum Nachweis von *Campylobacter* spp. wurden 10 g der zu untersuchenden Probe eingewogen und mit 90 ml *Campylobacter*-Selektiv-Anreicherungsbouillon nach Preston vermischt. Die anschließende Inkubation der Anreicherungsproben erfolgte bei einer Temperatur von +41,5 °C unter mikroaerophilen Bedingungen für 48 Stunden. Mit einer sterilen Impföse wurde die Anreicherungsbouillon auf *Campylobacter*-Selektivnährboden ausgestrichen und unter mikroaerophilen Bedingungen bei +41,5 °C für 48 Stunden bebrütet. Glänzende, flache sowie metallgrau gefärbte Kolonien wurden mikroskopisch auf Beweglichkeit überprüft.

Bei der quantitativen Bestimmung der Keimzahlen wurde auf eine Voranreicherung verzichtet. Hierfür wurden 25 g der Hackfleischprobe in 225 ml NaCl/Pepton-Lösung verbracht und mit Hilfe des Beutelwalkmischers homogenisiert. Im Anschluss an die Dezimalverdünnung der Proben wurden zum quantitativen Nachweis jeweils 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe im Oberflächenspatelverfahren auf *Campylobacter*-Selektivnährboden ausgebracht und bei +41,5 °C für 48 Stunden unter mikroaerophilen Bedingungen inkubiert.

### 3.2.8.10 *Listeria monocytogenes* (nach Methode L 00.00-22, L 00.00-32 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)

Für die selektive Voranreicherung wurden in einen Stomacherbeutel 10 g der zu untersuchenden Probe eingewogen, mit 90 ml Fraser-*Listeria*-Selektiv-Basis-Anreicherungsbouillon inkl. Fraser-Selektiv-Supplement vermischt und mit Hilfe des Beutel-Walkmischers homogenisiert. Die erste Voranreicherung wurde unter aeroben Bedingungen für 24 Stunden bei +30 °C inkubiert. 0,1 ml der ersten Voranreicherung wurden für die zweite Anreicherungsstufe mit 10 ml Fraser-*Listeria*-Selektiv-Basis-Anreicherungsbouillon inkl. 2x Fraser-Selektiv-Supplement + Ammoniumeisen-III-Citrat vermischt und unter aeroben Bedingungen für 24 Stunden bei +37 °C inkubiert.

Zur Bestätigung von *Listeria* ssp. wurde mit einer Impföse ein Tropfen der zweiten Anreicherungsstufe auf chromogenen *Listeria*-Selektivnährboden ausgestrichen und unter aeroben Bedingungen für 24 Stunden bei einer Temperatur von +37 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit konnten auf dem selektiven Nährboden blau/grüne Kolonien als *Listeria* ssp. und blau/grüne Kolonien mit einer opaken Zone als *Listeria monocytogenes* identifiziert werden.

Bei der quantitativen Bestimmung der Keimzahlen wurde auf eine Voranreicherung verzichtet. Hierfür wurden 25 g der Hackfleischprobe in 225 ml NaCl/Pepton-Lösung verbracht und mit Hilfe des Beutelwalkmischers homogenisiert. Im Anschluss an die Dezimalverdünnung der Proben wurden zum quantitativen Nachweis jeweils 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe im Oberflächenspatelverfahren auf OCLA-Agar ausgebracht und bei +37 °C für 48 Stunden aerob inkubiert.

### 3.2.8.11 *Staphylococcus aureus* (in Anlehnung an Methode DIN 10 163)

Der Nachweis der *Staphylococci* ssp. erfolgte im Oberflächenspatelverfahren mit jeweils 0,1 ml der verdünnten Probe im Doppelansatz auf Baird-Parker-Agar. Zur Verbesserung der Selektivität wurde dem autoklavierten und auf +50 °C bis +45 °C abgekühlten Agar vor dem Gießen eine Eigelb-Tellurit-Emulsion zugemischt. Der beimpfte Nährboden wurde unter aeroben Bedingungen 2\*24 Stunden bei +37 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden zur quantitativen Bestimmung alle schwarz glänzenden und gewölbten Kolonien mit und ohne Hof gezählt. Auf einen Koagulase-Test wurde verzichtet, da zur Quantifizierung *Staphylococcus aureus* in das Hackfleisch inokuliert wurde, und in den Kontrollproben keine *Staphylococci* ssp. nachweisbar waren.

### 3.2.8.12 Quantitative Bestimmung der Keimgehalte

Die quantitative Bestimmung der Keimgehalte wurde nach dem Auszählen der Kolonien

nach der folgenden Formel durchgeführt: 
$$\bar{a} = \frac{\Sigma a}{n_1 \times 1 + n_2 \times 0,1} \times d$$

$\bar{a}$  = gew. arithmetisches Mittel

$\Sigma a$  = Summe der Kolonie-bildenden Einheiten aller ausgezählten Petrischalen

$n_1$  = Anzahl der Petrischalen der niedrigsten Verdünnungsstufe

$n_2$  = Anzahl der Petrischalen der nächsthöheren Verdünnungsstufe

$d$  = Faktor der niedrigsten Verdünnungsstufe

Die ermittelten Keimzahlen wurden anschließend als Koloniebildende Einheiten (KbE) angegeben.

## **3.2.9 Physikalische Methoden**

### **3.2.9.1 Temperatur-Messung (in Anlehnung an die Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)**

Die Temperaturmessungen erfolgten mit Hilfe eines Einstichthermometers. Die Elektrode des Thermometers wurde zur Messung direkt in die Hackfleischproben eingestochen und der angezeigte Wert abgelesen. Gemessen wurde an drei Stellen im Inneren der Geflügelhackfleisch-Proben. Die Ergebnisse wurden arithmetisch gemittelt.

### **3.2.9.2 $a_w$ -Wert-Messung (in Anlehnung an die Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)**

Der  $a_w$ -Wert ist ein Maß für die Wasseraktivität und wird beschrieben als der Quotient aus dem Wasserdampfdruck des zu untersuchenden Lebensmittels und dem Wasserdampfdruck von Wasser bei gleichen Temperaturbedingungen. Dieser Parameter ermöglicht eine Aussage bezüglich der Verfügbarkeit des enthaltenen Wassers des Untersuchungsgutes. Die Durchführung der  $a_w$ -Wert-Messungen erfolgte mit dem Novasina thermoconstanter TH 200 S. Das Gerät war mit einer Messzelle ausgestattet, so dass jeweils eine Probe vermessen werden konnte. Zur Untersuchung der Geflügelhackfleischproben wurden spezielle Novasina-Probenbehälter verwendet.

### **3.2.9.3 pH-Wert- Messung (in Anlehnung an die Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB)**

Der pH-Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Oxonium-Ionenkonzentration. Durch das Entstehen einer Potenzialdifferenz zwischen der Messelektrode im Probenmaterial und einer Bezugselektrode in einer bekannten Lösung wird der Wert mittels eines Messinstrumentes direkt berechnet. Die Messungen der pH-Werte wurden mit dem pH-Meter ino Lab pH / Cond Level 1 durchgeführt. Die Glaselektrode, sowie die Bezugselektrode für die Temperaturkompensation des pH-Meters wurden zur Messung direkt in die Hackfleischproben eingestochen und der angezeigte Wert abgelesen. Gemessen wurde an drei Stellen der Geflügelhackfleisch-Proben. Die Ergebnisse wurden arithmetisch gemittelt. Das Messgerät wurde an jedem Untersuchungstag durch zwei Eichlösungen (pH 4 und pH 7) neu kalibriert.

### **3.2.9.4 Instrumentelle $L^*a^*b^*$ - Farbmessung**

Die  $L^*a^*b^*$ -Farbmessung erfolgte im Institut für Textil- und Bekleidungstechnik der Leibniz Universität Hannover nach der Methode der CIE (Commission Internationale de l'Eclairage 1976) unter Verwendung des Minolta Spektrophotometers CM-3600d im Dreifilterverfahren. In diesem Farbsystem werden als Farborte bezeichnete absolute Zahlen in einem dreidimensionalen Farbraum angegeben. Hierbei entspricht  $L^*$  der Helligkeit,  $b^*$  dem Gelbwert (pos.) bzw. Blauwert (neg.) und  $a^*$  dem Rotwert (pos.) bzw. Grünwert (neg.). Bei der Messung wird photometrisch die Farbemission der Probe erfasst. Die Erfassung der  $L^*a^*b^*$ -Werte erfolgte unmittelbar nach Öffnung der unter Schutzgas verpackten Hackfleischproben. Vor jeder Messreihe wurde das Gerät mit einem Weiß- und Schwarzstandard kalibriert.

Bei jeder Probe wurden 2\*5 Mittelwertmessungen von der Oberfläche des Hackfleisches erfasst, um der inhomogenen Verteilung der Probenmatrix gerecht zu werden. Die Messung erfolgte unter Glanzeinschluss in einem Wellenlängenbereich von 400 – 700 nm mittels

Xenon-Blitzröhre. Die Einstellungen des Spektrophotometers bei der Messung waren: Messöffnung: 30 mm; Normlichtart: D<sub>65</sub>; Betrachtungswinkel: 10°. Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte mit der Software *Spectra Magic*.

### 3.2.10 Chemische Untersuchungen

#### 3.2.10.1 Aschebestimmung

Die Aschegehaltsbestimmung wurde nach der Methode L 06.00-4 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB bestimmt.

5 g der homogenierten Probe wurden zuerst in einem Quarztiegel im Trockenschrank bei +103 °C ± 2 °C für 1 Stunde vorgetrocknet. Danach wurde die vorveraschte Probe im Muffelofen 1 – 2 Stunden bei +600 °C verascht. Der Aschegehalt wurde mit folgender Formel rechnerisch bestimmt:

$$\% \text{ Asche} = \frac{(\text{Auswaage} - \text{Asche aus 1 ml Mg-Acetat}) \cdot 100}{\text{Einwaage}}$$

#### 3.2.10.2 Trockensubstanzbestimmung

Der Trockensubstanzgehalt wurde nach Methode L 06.00-3 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB bestimmt.

Eine Nickelschale wurde mit 65 g mit HCl gereinigtem Seesand und einem Glasstab bestückt, im Trockenschrank bei +105 °C vorgetrocknet, und zum Abkühlen auf Raumtemperatur in einen Exsikkator gestellt.

Anschließend wurde 4 g Probenmenge in die Schale eingewogen und mittels Glasstab zu einer homogenen Masse mit dem Seesand verrieben. Bei +105 °C ± 2 °C wurde die Probe für 4 Stunden im Trockenschrank getrocknet und anschließend in den Exsikkator gestellt, um die Probe auf Raumtemperatur abzukühlen. Mit Hilfe folgender Formel wurde der Trockensubstanzgehalt berechnet:

$$\% \text{ Trockensubstanz} = \frac{\text{Auswaage} \cdot 10}{\text{Einwaage}}$$

#### 3.2.10.3 Gesamtfettbestimmung

Die Ermittlung des Gesamtfettgehalts erfolgte nach der Methode L 06.00-6 der Amtlichen Sammlung nach § 64 LFGB von Untersuchungsmethoden.

10 g homogenisierte Probe wurden mit drei Siedesteinen bestückt. Die Probe wurde mit 150 ml Salzsäure (4 N) 1 Stunde unter schwachem Sieden aufgeschlossen und in noch heißem Zustand mit heißem, destilliertem Wasser filtriert. Anschließend wurde der Filter mit dem Filtrückstand unter dem Abzug vollständig getrocknet. Danach erfolgte für 5 – 6 Stunden die Extraktion in der Soxhlet-Apparatur.

Der Kolben mit dem Fett und den Siedesteinen wurde im Anschluss für ca. 2 Stunden im Trockenschrank bei +105 °C ± 2 °C getrocknet und danach im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt. Abschließend wurde der Kolben gewogen und der Gesamtfettgehalt mit Hilfe der folgenden Formel berechnet:

$$\% \text{ Fett} = \frac{\text{Auswaage} \cdot 100}{\text{Einwaage}}$$

### 3.2.10.4 Eiweißbestimmung (Rohprotein)

Die Bestimmung des Rohproteins wurde nach der Methode L 06.00-7 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB durchgeführt.

1,0 g homogenisierte Probe wurde auf einem stickstofffreien Wäageschiffchen eingewogen und in einen Kjeldahlkolben gegeben. Die eingewogene Probe wurde mit 15 – 20 ml konz. Schwefelsäure (95 %ig) und einer Kjeldahl-Tabletten versetzt. Der Kjeldahlkolben wurde anschließend in einen Heizblock  $\geq 2$  Stunden bei  $+380 - +410$  °C gekocht, bis die Lösung eine klare und grüne Färbung zeigte. Nach dem Abkühlen der Probe auf  $+50 - +60$  °C wurde die Probenlösung auf 100 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Abschließend wurden die Stickstoffbestimmung und die Berechnung des Rohproteingehalts durchgeführt.

### 3.2.10.5 Bindegewebeseiweißbestimmung

Über die Ermittlung des Hydroxiprolingehalts nach der Methode L 06.00-8 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB wurde der prozentuale Gehalt an Bindegewebe indirekt bestimmt.

5 g der homogenisierten Probe wurden in einen 250 ml Stehrundkolben eingewogen und mit 30 ml Salzsäure (6 N) und drei Siedesteinen versetzt. Die Probe wurde 8 Stunden unter schwachem Sieden nass verascht. Dabei wurde Hydroxiprolin aus dem Bindegewebeseiweiß freigesetzt. Nach dem Abkühlen wurde die Probe mit 100 ml heißem destilliertem Wasser aufgefüllt und filtriert, um das Fett zu separieren. Nach einer weiteren Verdünnung wurden dem Filtrat das Oxidationsreagenz Chloramin T und 4-Dimethylaminobenzaldehyd als Farbreagenz zugesetzt. 4-Dimethylaminobenzaldehyd bildet mit dem oxidierten Hydroxiprolin einen Farbkomplex. Zur Messung des Blindwerts wurde destilliertes Wasser verwendet. Die Extinktion der Farblösung wurde bei einer Wellenlänge von 558 nm im Photometer gemessen. Unter der Berücksichtigung der erstellten Eichgeraden wurde der Hydroxiprolingehalt der Probe mit der folgenden Formel berechnet:

$$\text{Hydroxiprolin/100g} = \frac{12,5 \cdot Y}{\text{Einwaage} \cdot X}$$

Bindegewebeseiweiß enthält im Mittel ca. 12,5 % 4-Hydroxiprolin. Durch Multiplikation mit dem Faktor 8 wurde der Gehalt an Bindegewebeseiweiß berechnet.

### 3.2.10.6 Berechnung der Grunddaten

Die oben ermittelten Parameter dienen als Grundlage zur Berechnung von Fleischeiweiß (FE), Bindegewebeseiweißfreies Fleischeiweiß (BEFFE) und BEFFE/FE. Dabei wurden folgende Formeln angewandt:

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O (rech.)} &= 100 - \text{TS (\%)} \\ \text{ONF} &= \text{TS} - \text{Fett} - \text{Asche (\%)} \\ \text{FE} &= \text{GE} - \text{FrE} - \text{NPN (\%)} \\ \text{BEFFE} &= \text{GE} - \text{FrE} - \text{NPN} - \text{BE (\%)} \\ \text{BE} &= 8 \text{ HP (\%)} \end{aligned}$$

<b>TS</b>	= Trockensubstanz	<b>ONF</b>	= Organisches Nichtfett
<b>FE</b>	= Fleischeiweiß	<b>GE</b>	= Gesamteiweiß
<b>FrE</b>	= Fremdeiweiß	<b>NPN</b>	= fremde Nichteiweiß-Stickstoff-Verbindungen
<b>BE</b>	= Bindegewebeseiweiß	<b>HP</b>	= Hydroxiprolin
<b>BEFFE</b>	= Bindegewebeseiweißfreies Fleischeiweiß		

### 3.2.11 Biochemische Methoden

#### 3.2.11.1 Qualitativer Nachweis der Schutzkultur mit dem API-50-CHL-System

Um die Ergebnisse der mikrobiologischen Nachweismethoden für aerob wachsende Milchsäurebakterien zu bestätigen und nachzuweisen, dass es sich bei den ermittelten Keimzahlen um die während des Versuchsdurchlaufes zugesetzte Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> handelt, wurde im Anschluss an die mikrobiologischen Nachweismethoden das API-System verwendet. Das API-50-CHL-Medium ist für die Identifizierung von Mikroorganismen der Gattung *Lactobacillus* und verwandte Bakterien bestimmt. Es ermöglicht den Nachweis von 49 Zuckerfermentationen.

Zunächst wurde die lyophilisierte Kultur zweimal in MRS-Bouillon subkultiviert. Im Anschluss daran wurde der zu untersuchende Stamm auf Reinheit überprüft. Dafür wurden die MSB-Suspensionen auf MRS-Agar überimpft und anschließend unter anaeroben Bedingungen für 72 Stunden bei einer Temperatur von +25 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden identische Kolonien in das API-50-CHL-Medium übertragen. Es wurde hierbei eine Suspension hergestellt, deren Trübung der des Mc Farland 2 entsprach. Im Anschluss daran wurde das beimpfte API-50-CHL-Medium in die Teströhrchen des API-Systems pipettiert und mit Paraffinöl überschichtet. Die Teströhrchen wurden im Anschluss für 24 Stunden und 48 Stunden unter aeroben Bedingungen bei einer Temperatur von +30 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden die Farbumschläge des im Medium enthaltenen Bromkresolpurpurindikators ausgewertet. Aufgrund des auf diese Weise ermittelten biochemischen Profils der Schutzkultur konnte dieses im Anschluss mit dem Profil der Milchsäurebakterien aus den zu untersuchenden Proben verglichen werden. Hierfür wurde ähnlich verfahren, wie oben beschrieben. Die zu analysierende MSB-Kolonie wurde in dem Medium suspendiert und anschließend in alle Röhrchen des Streifens überimpft. Während der Inkubation entstanden durch die Fermentation der Kohlenhydrate organische Säuren, welche zu Farbumschlägen der pH-Indikatoren führten. Die Ergebnisse bildeten das biochemische Profil der untersuchten MSB-Kolonien, welches mit dem Profil der Reinkulturen verglichen wurde.

#### 3.2.12 Molekularbiologische Nachweismethoden

Der molekularbiologische Nachweis der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> wurde in Anlehnung an Mora et al. (1997) durchgeführt.

Die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> beinhaltet den Stamm *Pediococcus acidilactici*, (DSM 10313). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Kolonien, die beim mikrobiologischen Nachweis von Milchsäurebakterien aus Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> auf MRS-Agar ausgezählt wurden, mittels Polymerase-Kettenreaktion stichprobenartig bezüglich des Vorhandenseins einer für die Schutzkultur spezifischen D-Laktat-Dehydrogenase-Sequenz (D-LDH-Sequenz) untersucht.

Die Tabelle 8 zeigt die genaue Basenfolge und Fragmentlänge des Primerpaares zur Identifizierung der Sequenz.

Tabelle 8 Basenfolge des eingesetzten Primerpaares

Primer	Basenfolge 5'>3'	Primerlänge	PCR-Produkt
<i>ldhDF</i>	GGA CTT GAT AAC GTA CCC GC	20 Basenpaare (bp)	449 bp
<i>ldhDR</i>	GTT CCG TCT TGC ATT TGA CC	20 Basenpaare (bp)	449 bp

Die Spezifität des eingesetzten Primerpaares zur Identifizierung der D-LDH-Sequenz ist in Tabelle 38 dargestellt.

### 3.2.12.1 DNS-Isolation

Aus den zu untersuchenden Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden jeweils 20 g in einen Stomacherbeutel eingewogen. Die Fleischeinwaage wurde mit 180 ml NaCl/Pepton-Lösung im Beutel-Walkmischer für 120 Sekunden homogenisiert. Im Anschluss daran wurden dezimale Verdünnungsreihen hergestellt. Die jeweiligen Verdünnungsstufen richteten sich nach der erwarteten Keimzahl im Hackfleisch. Die jeweiligen Verdünnungen wurden mit Hilfe des Oberflächenspatelverfahrens auf selektive MRS-Nährböden aufgetragen und bei +25 °C für die Dauer von 48 Stunden inkubiert. Nach der Inkubationszeit und Quantifizierung wurden bezüglich der DNS-Isolation stichprobenartig drei bis fünf Kolonien mittels eines sterilen Zahnstochers vom Nährmedium entnommen.

Für die DNS-Extraktion wurde das Invisorb R Genomic Kit III der Fa. Invitex verwendet. Dieses Kit erlaubt die DNS-Isolierung aus Zellkulturen, Hefen, Bakterien, Abstrichen und Serum. Die Isolierung der DNA erfolgte gemäß dem „Protokoll 3 B der Anleitung zur stichprobenartigen Extraktion genomischer DNS von komplexen und / oder hochresistenten Mikroorganismen (Schimmelpilze, Gram-positive Bakterien, Protozoen) aus Einzelkolonien auf Nährböden.“ Die entnommenen Kolonien wurden in ein Eppendorfgefäß überführt und in 500 µl Lysis Buffer D resuspendiert. Im Anschluss wurde wie folgt verfahren:

Schritt 1: Die Zellsuspension im Eppendorfgefäßes wurde für 2 min mittels Vortex-Reagenzglas-Schüttler homogenisiert und im Anschluss für 2 min in flüssigen Stickstoff überführt. Anschließend wurde die Suspension für 2 min im Wasserbad bei +60 °C wieder aufgetaut und anschließend erneut homogenisiert. Schritt 1 wurde insgesamt 2-mal wiederholt.

Schritt 2: Die Zellsuspension wurde bei 13000 Umdrehungen pro Minute (UPM) für 5 min zentrifugiert. Der klare Überstand wurde im Anschluss in ein steriles Eppendorfgefäß überführt.

Schritt 3: Dem Überstand wurden 15 µl der „Carrier“-Suspension beigemischt und im Anschluss homogenisiert.

Schritt 4: Die Suspension wurde danach für 5 min bei Raumtemperatur (+20 °C) inkubiert, und im Anschluss für 1 Sekunde bei 10000 UPM zentrifugiert. Der Überstand der zentrifugierten Suspension wurde im Anschluss verworfen

- Schritt 5: Das Pellet wurde mit 1 ml Waschpuffer resuspendiert und im Anschluss homogenisiert. Danach wurde die Suspension für 1 Sekunde bei 10000 UPM zentrifugiert. Der Überstand der zentrifugierten Suspension wurde im Anschluss verworfen. Schritt 5 wurde insgesamt 2-mal wiederholt.
- Schritt 6: Der Überstand der Suspension wurde vorsichtig abpipettiert. Das Pellet wurde im Anschluss bei +60 °C vollständig getrocknet, ohne eine Austrocknung zu verursachen.
- Schritt 7: Das getrocknete Pellet wurde mit 50 µl des Extraktionspuffers resuspendiert und für 5 min bei +60 °C im Wasserbad inkubiert.
- Schritt 8: Die Zellsuspension wurde für 1 min bei 13000 UPM zentrifugiert und der Überstand wurde im Anschluss in ein steriles Eppendorfgefäß überführt, ohne dabei Silika-Partikel mit zu überführen. Der Überstand wurde im Anschluss bei +4 °C bis zur weiteren Verwendung gelagert.
- Schritt 9: Vor der Durchführung der PCR wurden die Probengefäße sicherheitshalber für 5 min bei 13000 UPM zentrifugiert.

### 3.2.12.2 Probenaufbereitung

Der Mastermix für die Polymerase-Kettenreaktion setzte sich aus folgenden Reaktionsbestandteilen zusammen (Gesamtvolumen pro Ansatz: 25 µl): 15,78 µl dest Wasser, jeweils 2,5 µl Primer *ldhDF* (10µm) bzw. Primer *ldhDR* (10µm), 0,52 µl dNTP, 0,2 µl Taq-Polymerase und 2,5 µl PCR-Puffer. Dieser Ansatz wurde mit 1µl Probenvolumen auf 25 µl aufgefüllt. Die anschließende Amplifikation der Bakterien-DNS wurde in einem Thermocycler durchgeführt.

### 3.2.12.3 Temperatursteuerung des Thermocyclers

Die Anfangsdenaturierung erfolgte für 10 min bei +94 °C. Im Anschluss liefen 40 Zyklen ab, die aus den folgenden Temperatur-Zeit-Intervallen bestanden: 0,40 min bei +94 °C (Denaturierung), 1 min bei +67 °C (Anheftung der Primer an die DNS), 0,50 min bei +72 °C (Elongation). Die Endtemperatur von +72 °C wurde für 7,00 min gehalten, bevor die Amplifikationsprodukte auf +4 °C abgekühlt wurden.

### 3.2.12.4 Agarosegelelektrophorese

Die Auftrennung der Amplifikationsprodukte erfolgte im Anschluss an die Polymerase-Kettenreaktion mittels Agarosegelelektrophorese. Das Agarose-Gel (1 %) wurde in eine Elektrophoresekammer mit Elektrophoresepuffer verbracht. Die einzelnen Amplifikationsprodukte wurden mit einem Blaumarker angefärbt und in die Kavitäten des Gels geladen. Zur Unterscheidung und Bestimmung einzelner Banden diente ein Längenstandard mit definierten Bandenmustern, der ebenfalls in 2 Kavitäten des Gels geladen wurde. Zudem wurde in jedes Gel eine Negativkontrolle (H<sub>2</sub>O) geladen. Bei einer angelegten Spannung von 80 Volt wurden die Proben für ca. 90 Minuten aufgetrennt. Im Anschluss an die elektrophoretische Trennung wurde das Gel von der Elektrophoresekammer in die Ethidiumbromid-Färbelösung verbracht und für die Dauer von 1 Stunde unter Kreisen in Bewegung gehalten.

Die Visualisierung der Banden des Agarosegels erfolgte in einem Trans-Illuminator unter ultraviolettem Licht. Das Amplifikationsprodukt der beiden Primer hat eine Größe von 449 Basenpaaren und ist an dieser Position während der Einstrahlung von UV-Licht in Form einer Bande sichtbar.

### **3.2.13 Sensorische Prüfverfahren**

Die sensorischen Untersuchungen erfolgten in Anlehnung an sensorische Prüfverfahren gemäß den folgenden DIN-Normen:

DIN 10973:	Sensorische Prüfverfahren – Innerhalb / Außerhalb Prüfung (2006-04)
E DIN 10974:	Sensorische Prüfverfahren – Verbrauchertests (2007-06) Normentwurf
ISO 6658-2005:	Sensory analysis – Methodology – General guidance
ISO 8587-2006:	Sensory analysis – Methodology – Ranking
DIN EN ISO 8586-2:	Sensorische Analyse – Allgemeiner Leitfaden für die Auswahl, und Überprüfung von Prüfpersonen – Teil 2: Sensoriker (ISO/DIN 8586-2: 2006)

#### **3.2.13.1 Zusammensetzung der Prüfpanel**

In Bezug auf Quantität bzw. Qualität setzten sich die Prüfpanel während der verschiedenen sensorischen Untersuchungen unterschiedlich zusammen. Für die Rangordnungsprüfungen und In/Out- Tests wurden geschulte Panellisten (Mitarbeiter des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotoxikologie der Leibniz Universität Hannover) rekrutiert, die Schulung der Prüfer erfolgte gemäß der DIN EN ISO-Norm 8586-2. Bei den sensorischen Consumer-Acceptance-Tests wurden dagegen ungeschulte Verbraucher (Studenten) befragt.

#### **3.2.13.2 Schulung der Prüfer**

Die Auswahl und Schulung der Prüfer erfolgte gemäß den normativen Verweisen der DIN EN ISO Norm 8586-2. Bezüglich der zu bewertenden sensorischen Qualität des Hackfleischs wurden den Prüfern folgende zu beachtende Merkmalsattribute vorgegeben: „Aussehen in der Verpackung“, „Geruch“, „Geschmack“, „Textur“ und „Geschmack“. Die Schulung der Prüfer beinhaltete die Bewertung von Produktstandards anhand vorgegebener Deskriptoren und den Vergleich mit Proben, die in einem bzw. mehreren Attributen Unterschiede zum Produktstandard aufweisen.

#### **3.2.13.3 Vorbereitung der Prüfbögen**

Die Erstellung der Prüfbögen erfolgte in Anlehnung an die Entwürfe der DIN-Norm 10973 bzw. E DIN 10974 sowie an die ISO-Norm 8587-2006. Zur Realisierung optimaler Bedingungen und leicht verständlicher Prüfbögen für die Panellisten wurden die Prüfbögen modifiziert. Die Exemplare der jeweiligen Prüfbögen sind dem Tabellenanhang zu entnehmen.

### **3.2.13.4 Vorbereitung des Prüfungsraums**

Die Durchführung der sensorischen Beurteilungen erfolgte in einem Prüfraum des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover. Der Prüfraum war von der Produktionsanlage getrennt, mit Tageslicht-Leuchten und Lüftung ausgestattet und befand sich in einer geräusch- und geruchsarmen Umgebung. Somit erfüllte er die Mindestanforderungen nach E DIN 10974 (2007-06).

Die einzelnen Prüfplätze wurden für die jeweiligen Prüfungen mit neutralen Tellern und Gabeln, Prüfbögen und Kugelschreibern, Bechern, Spuckbechern und Papierhandtüchern sowie mit Tee und Weißbrot zur Neutralisation bestückt.

Die benötigten Materialien wurden vor Verkostungsbeginn an den einzelnen Prüfplätzen präpariert, die Platzierung der Materialien erfolgte einheitlich, um mögliche externe Einflussfaktoren zu unterbinden.

### **3.2.13.5 Probenvorbereitung des rohen Hackfleisches**

Die Codierung, bzw. Anonymisierung der Rohproben gemäß E DIN 10974 (2007-06) erfolgte an den jeweiligen Untersuchungstagen vor Beginn der sensorischen Beurteilungen. Zur Kennzeichnung wurden die gelagerten Rohproben mit einem dreistelligen Zifferncode aus Zufallszahlen ohne Wiederholungen versehen, damit die Möglichkeit zur Identifizierung der Proben unterbunden wurde (BUSCH-STOCKFISCH 2002). Die Lagerung der Rohproben erfolgte in einem auf +2 °C temperierten Kühlschrank. Die Rohproben wurden erst kurz vor Beginn der Beurteilung aus dem Kühlschrank genommen, um temperaturbedingte Veränderungen bzw. Abweichungen im Produkt zu unterbinden.

### **3.2.13.6 Probenvorbereitung des gekochten Hackfleisches**

Die Vorbereitung der Kochproben erfolgte ca. eine Stunde vor Beginn der Verkostung. Dafür wurden die zu untersuchenden Hackfleischproben für 15 Minuten im kochenden Wasser gegart, um sicherzustellen, dass mögliche pathogene Mikroorganismen abgetötet werden. Für die Zubereitung wurden drei baugleiche Töpfe (ø 20 cm) verwendet, in die jeweils 300 ml Wasser und zwei MAP-Schalen-Inhalte Geflügelhackfleisch (200 g) gegeben wurden. Anschließend erfolgte die Befüllung der zuvor dreistellig codierten Plastikbecher gemäß E DIN 10974 (2007-06). Die vorbereiteten Proben wurden mit Klarsicht- und Aluminiumfolie abgedeckt, um ein Austrocknen der Hackfleischproben zu vermeiden. Die Kochproben lagerten bis zum Beginn der Verkostung in einem auf +50 °C temperierten Wärmeschrank, um die Proben mit der üblichen Verzehrtemperatur darzureichen. Die Vorbereitung und Darreichung der Proben sollte identisch sein, um eine Homogenität der Proben zu gewährleisten. Die üblichen Verbraucherbedingungen sollten ebenfalls berücksichtigt werden, wie z.B. die Probentemperatur und die Probenmenge (E DIN 10974).

### **3.2.13.7 Sensorische Prüfung**

Zu Beginn der sensorischen Beurteilungen erfolgte eine Erläuterung zu den angewendeten Prüfverfahren, um möglichen Fehlwahrnehmungen bzw. Fehlinterpretationen entgegenzuwirken (E DIN 10974).

Die Darreichung der einzelnen Prüfproben erfolgte nach dem Prinzip der Rangordnungsprüfung, d.h., dass den Prüfern die Prüfproben gleichzeitig vorgelegt wurden, so dass eine mögliche Beeinflussung durch eine zeitversetzte Beurteilung ausgeschlossen werden konnte (ISO 8587-2006).

---

Das Prüfverfahren bestand je nach Prüfpanel aus einem Consumer Acceptance Test (E DIN 10974), der eine Bewertung mittels einer hedonischen Skala beinhaltete, bzw. einem Rangordnungstest (ISO 8587-2006). Ferner erfolgte die Durchführung von zwei Innerhalb-/Außerhalb- Prüfungen (DIN 10973), die aus zwei deskriptiven Prüfungen bestanden. Die Prüfpersonen sollten zum einen bestimmte Attribute deskriptiv bewerten, zum anderen sollte der Gesamteindruck des Produkts beurteilt werden.

Die Durchführung der sensorischen Prüfverfahren erforderte konzentrierte und motivierte Prüfer, da zahlreiche kombinierte sensorische Beurteilungsverfahren angewendet wurden.

Die Beurteilung der Kochproben erfolgte vor der Untersuchung der Rohproben, da Hackfleisch üblicherweise durchgegart verzehrt wird. Die Kochprobe simulierte eine Alltagssituation der Prüfpersonen. Der Hagebuttentee diente während der Verkostung der einzelnen Kochproben als Neutralisationsmittel. Nach dem Ausspülen bestand die Möglichkeit, den Tee in die dafür vorgesehenen Spuckbecher zu geben.

### **3.2.13.8 Formulierung der Nullhypothese**

Für das angestrebte Untersuchungsziel wurde angenommen, dass keine Unterschiede zwischen den Proben bestehen. Dafür wurde folgende Nullhypothese formuliert: *„Die Hackfleischproben weisen keine signifikanten Akzeptanzunterschiede bei den Attributen Aussehen, Geruch, Textur und Farbe auf.“* Aus der Nullhypothese leitet sich folgende Gegen- bzw. Alternativhypothese ab: *„Die Hackfleischproben weisen signifikante Akzeptanzunterschiede bei den Attributen Aussehen, Geruch, Textur und Farbe auf.“*

## 4. Ergebnisse

### 4.1 VVS 1: Einfluss der Lagerungstemperatur

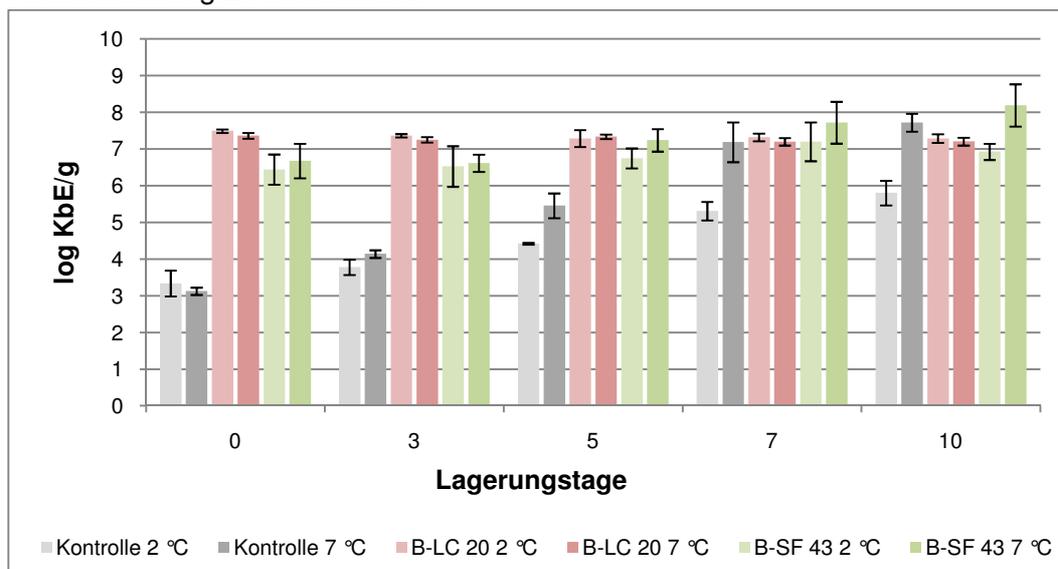
Die Ergebnisse der Vorversuche ermöglichten Aussagen, die für die Durchführung der Hauptversuche unabdingbar waren. Zunächst sollte überprüft werden, ob die einzusetzenden Schutzkulturen bei den angestrebten Lagerungstemperaturen vermehrungsfähig sind. Zudem sollten eine geeignete Applikationsmethode sowie die notwendige Konzentration der Schutzkulturen im Hackfleisch ermittelt werden, um einen nachhaltigen protektiven Einfluss der jeweiligen Schutzkultur im Produkt nachzuweisen.

#### 4.1.1 Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

##### 4.1.1.1 Wachstum der Schutzkulturen bei verschiedenen Kühltemperaturen

In Abbildung 1 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an Milchsäurebakterien des Vorversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C und +7 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Milchsäurebakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf MRS-Agar dar. Im Rahmen des Oberflächenspatelverfahrens wurden nur solche Kolonien gewertet, die eine für Milchsäurebakterien typische Koloniemorphologie aufwiesen. An den Untersuchungstagen wurde stichprobenartig jede zweite Kolonie der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ zusätzlich mit API-Tests und durch Polymerase-Kettenreaktion bestätigt, um sicherzustellen, dass es sich bei den nachgewiesenen Milchsäurebakterien um die eingepflichtete Schutzkultur handelt (Tabelle 37 im Tabellenanhang).

An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoform™ (B-SF 43) mit unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich des Vorhandenseins von Milchsäurebakterien untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 12 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 1: VVS 1 Nachweis von Milchsäurebakterien in Putenhackfleisch aus Flügel Fleisch bei +2 °C und +7 °C Lagerungstemperatur (n = 4)**

Am Tag der Herstellung betrug die Keimdichte an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den unbeimpften Kontrollproben bei +2 °C im geometrischen Mittel  $3,34 \pm 0,35 \log \text{KbE/g}$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C konnte in den Kontrollproben am Lagerungstag 3 ( $3,78 \pm 0,21 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $4,42 \pm 0,03 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $5,31 \pm 0,25 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $5,80 \pm 0,34 \log \text{KbE/g}$ ) deutliche Erhöhungen der Keimdichten an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden.

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) konnten bei +2 °C am Tag der Herstellung im geometrischen Mittel  $7,49 \pm 0,05 \log \text{KbE/g}$  an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C wurden in den Hackfleischproben mit B-LC 20 am Lagerungstag 3 ( $7,37 \pm 0,04 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $7,29 \pm 0,23 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $7,32 \pm 0,10 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $7,29 \pm 0,12 \log \text{KbE/g}$ ) keine statistisch signifikanten Veränderungen der Keimdichten an Milchsäurebakterien nachgewiesen. Die Keimdichte der nachgewiesenen Milchsäurebakterien lag nach 10-tägiger Kühllagerung bei +2 °C ca.  $0,11 \log \text{KbE/g}$  unter der am Herstellungstag nachgewiesenen Keimdichte.

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) konnten am Tag der Herstellung bei +2 °C im geometrischen Mittel  $6,45 \pm 0,41 \log \text{KbE/g}$  an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C wurden in den Hackfleischproben mit B-SF 43 am Lagerungstag 3 ( $6,53 \pm 0,55 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $6,75 \pm 0,27 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $7,20 \pm 0,53 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $6,92 \pm 0,22 \log \text{KbE/g}$ ) keine statistisch signifikante Erhöhung der Keimdichten an Milchsäurebakterien nachgewiesen. Die Anzahl der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ erhöhte sich vom Herstellungstag bis zum Tag 10 der Kühllagerung um insgesamt ca.  $0,48 \log \text{KbE/g}$ .

Bei einer Lagerung der Hackfleischproben bei +7 °C betrug die Keimdichte an nachgewiesenen fleischeigenen Milchsäurebakterien in den unbeimpften Kontrollproben am Tag der Herstellung im geometrischen Mittel  $3,13 \pm 0,10 \log \text{KbE/g}$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C konnten in den Kontrollproben am Lagerungstag 3 ( $4,14 \pm 0,10 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $5,46 \pm 0,36 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $7,19 \pm 0,54 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $7,72 \pm 0,24 \log \text{KbE/g}$ ) deutlich höhere Keimdichten an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Die Keimzahl der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den unbeimpften Kontrollproben erhöhte sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +7 °C um insgesamt ca.  $4,6 \log \text{KbE/g}$ .

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) konnten am Tag der Herstellung bei +7 °C im geometrischen Mittel  $7,37 \pm 0,08 \log \text{KbE/g}$  an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C wurden in den Hackfleischproben mit B-LC 20 am Lagerungstag 3 ( $7,25 \pm 0,07 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $7,33 \pm 0,06 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $7,20 \pm 0,10 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $7,20 \pm 0,11 \log \text{KbE/g}$ ) keine statistisch signifikanten Veränderungen der Keimdichten an Milchsäurebakterien nachgewiesen. Die Keimdichte der nachgewiesenen Milchsäurebakterien lag nach 10-tägiger Kühllagerung bei +7 °C ca.  $0,16 \log \text{KbE/g}$  unter der am Herstellungstag nachgewiesenen Keimdichte.

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) konnten am Tag der Herstellung bei +7 °C im geometrischen Mittel  $6,45 \pm 0,41 \log \text{KbE/g}$  an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C wurde in den Hackfleischproben mit B-SF 43 am Lagerungstag 3 ( $6,53 \pm 0,55 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $6,74 \pm 0,27 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $7,20 \pm 0,53 \log$

KbE/g) und am Lagerungstag 10 ( $6,92 \pm 0,22 \log \text{KbE/g}$ ) eine Erhöhung der Keimdichten an Milchsäurebakterien nachgewiesen. Die Anzahl der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ erhöhte sich somit vom Herstellungstag bis zum Tag 7 der Kühllagerung kontinuierlich um insgesamt ca.  $0,8 \log \text{KbE/g}$ , fiel an Lagerungstag 10 allerdings wieder um  $0,3 \log \text{KbE/g}$  auf im Mittel  $6,92 \log \text{KbE/g}$  ab.

Betrachtet man die ermittelten Keimzahlen bei den verschiedenen Lagerungstemperaturen, so wird deutlich, dass die Erhöhung der Lagerungstemperatur auf  $+7 \text{ °C}$  nur in den Kontrollproben eine statistisch signifikante Keimzahl-Erhöhung der untersuchten Mikroorganismen bewirkt. Bezüglich der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den unbeimpften Kontrollproben resultierte aus der Differenz der Lagerungstemperatur nach 10-tägiger Lagerung eine Erhöhung der nachgewiesenen Keimzahlen um  $\Delta 1,9 \log \text{KbE/g}$  ( $p \leq 0,05$ ). Auf die Schutzkultur B-LC 20 wirkte sich die Erhöhung der Lagerungstemperatur statistisch nicht signifikant aus ( $p \geq 0,05$ ). In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnte durch die Erhöhung der Lagerungstemperatur eine Erhöhung der nachgewiesenen Milchsäurebakterien um  $\Delta 1,17 \log \text{KbE/g}$  ( $p \geq 0,05$ ) festgestellt werden.

Durch die Ergebnisse des ersten Vorversuches bezüglich des Wachstums der Schutzkulturen bei verschiedenen Kühltemperaturen konnte sichergestellt werden, dass die eingesetzten Schutzkulturen bei einer Kühltemperatur von  $+2 \text{ °C}$  wachstums- und vermehrungsfähig sind. Dies war entscheidend für den weiteren Versuchsablauf.

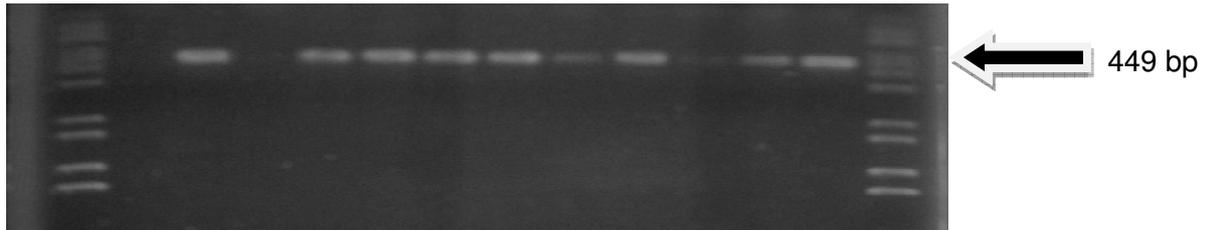
#### **4.1.1.2 Spezifischer Nachweis von *P. acidilactici* mit dem API-50-CHL-Test**

Nachdem die koloniebildenden Einheiten des Milchsäurebakterien-Nachweises ausgezählt worden waren, wurde mit dem API-50-CHL-Test stichprobenartig jede 2. Kolonie überprüft, um zu bestätigen, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien aus den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ der inokulierten Schutzkultur zuzuordnen sind.

Bei der Auswertung der Teststreifen konnte nachgewiesen werden, dass alle untersuchten Milchsäurebakterien-Kolonien der Schutzkultur zuzuordnen sind (Tabelle 37 im Tabellenanhang). Die nachgewiesenen Reaktionen auf den Teststreifen der untersuchten Proben stimmten zu 99,9 % mit den Reaktionen von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) überein.

#### **4.1.1.3 Ergebnisse des molekularbiologischen Nachweises von *P. acidilactici***

Durch den stichprobenartigen molekularbiologischen Nachweis konnte bestätigt werden, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien der Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ der inokulierten Schutzkultur zuzuordnen sind. Hierfür wurde an den entsprechenden Untersuchungstagen jede 2. Kolonie mittels Polymerase-Kettenreaktion bestätigt. Bei allen untersuchten Kolonien konnte durch die Polymerase-Kettenreaktion die spezifische D-Laktat-Dehydrogenase-Sequenz (D-LDH-Sequenz) von *P. acidilactici* (DSM 10313) in Form einer Bande nachgewiesen werden.

. *acidilactici* (VVS 1)**Tabelle 9: Beladung der Kavitäten im Agarosegel des VVS 1**

1	Marker	2	H <sub>2</sub> O	6	V 1-3	10	V 1-7	14	Marker
		3	B-LC 20	7	V 1-3	11	V 1-7		
		4	V 1-0	8	V 1-5	12	V 1-10		
		5	V 1-0	9	V 1-5	13	V 1-10		

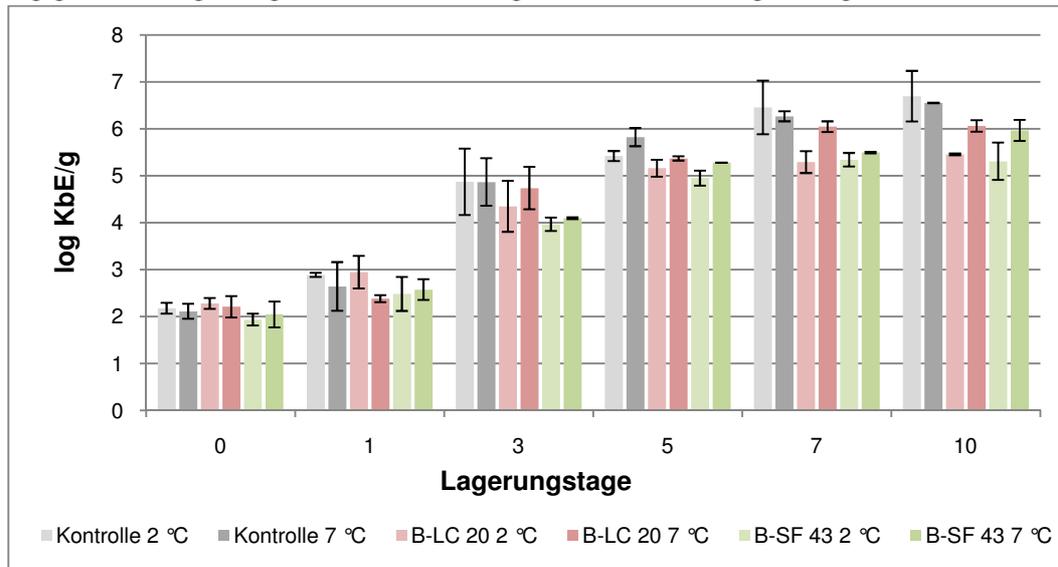
In Abbildung 2 ist ein Agarosegel des spezifischen Nachweises von *Pediococcus acidilactici* abgebildet. Die Isolierung der DNS erfolgte nach der Auszählung der MRS-Agar-Platten, die an den jeweiligen Untersuchungstagen hergestellt worden sind. Im Vorversuch 1 wurden pro Gel insgesamt 10 Kolonien stichprobenartig überprüft (V1 0-10). Die in Tabelle 9 angegebenen Bezeichnungen geben Auskunft über die Beladung der Kavitäten: 1 und 14 wurden mit dem DNS-Marker beladen, 2 mit H<sub>2</sub>O als Negativkontrolle, 3 mit Referenz-DNS von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) und 4 – 13 mit isoliertem Probenmaterial der Hackfleischproben von den jeweiligen Untersuchungstagen, die mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> inokuliert wurden. Wie der Abbildung zu entnehmen ist, waren bei 449 bp in allen Spuren Banden zu erkennen, außer in der Negativkontrolle. Die Banden der Spuren 4 und 11 sind jedoch deutlich schwächer ausgeprägt, als die übrigen. Dennoch kann davon ausgegangen werden, dass die auf MRS-Agar nachgewiesenen Milchsäurebakterien der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> (*P. acidilactici* DSM 10313) zuzuordnen sind.

#### 4.1.1.4 Nachweis von *Enterobacteriaceae*

In Abbildung 3 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* des Vorversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C und +7 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* (Mittelwert ± SD) auf VRBD-Agar dar. An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> (B-SF 43) mit unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich des Vorhandenseins von *Enterobacteriaceae* untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 12 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Am Tag der Herstellung betrug die Keimdichte an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* in den unbeimpften Kontrollproben bei +2 °C im geometrischen Mittel  $2,18 \pm 0,11 \log \text{KbE/g}$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C konnten in den Kontrollproben am Lagerungstag 1 ( $2,89 \pm 0,04 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 3 ( $4,87 \pm 0,71 \log \text{KbE/g}$ ) am Lagerungstag 5 ( $5,42 \pm 0,11 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $6,46 \pm 0,57 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $6,70 \pm 0,54 \log \text{KbE/g}$ ) deutlich höhere Keimdichten an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Die Keimzahl der nachgewiesenen

*Enterobacteriaceae* in den unbeimpften Kontrollproben erhöhte sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +2 °C um insgesamt ca. 4,52 log KbE/g.



**Abbildung 3: VVS 1 Nachweis von *Enterobacteriaceae* in Putenhackfleisch aus Flügelfleisch bei +2 °C und +7 °C Lagerungstemperatur (n = 3)**

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) konnten am Tag der Herstellung bei +2 °C im geometrischen Mittel  $2,28 \pm 0,12$  log KbE/g an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C wurden in den Hackfleischproben mit B-LC 20 am Lagerungstag 1 ( $2,95 \pm 0,35$  log KbE/g), am Lagerungstag 3 ( $4,35 \pm 0,54$  log KbE/g), am Lagerungstag 5 ( $5,16 \pm 0,18$  log KbE/g), am Lagerungstag 7 ( $5,29 \pm 0,23$  log KbE/g) und am Lagerungstag 10 ( $5,45 \pm 0,02$  log KbE/g) ebenfalls erhöhte Keimdichten an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Die Keimdichte der nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* lag nach 10-tägiger Kühllagerung bei +2 °C ca. 3,18 log KbE/g über der am Herstellungstag nachgewiesenen Keimdichte.

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ (B-SF 43) konnten am Tag der Herstellung bei +2 °C im geometrischen Mittel  $1,94 \pm 0,13$  log KbE/g an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C wurden in den Hackfleischproben mit B-SF 43 am Lagerungstag 1 ( $2,48 \pm 0,36$  log KbE/g), am Lagerungstag 3 ( $3,97 \pm 0,14$  log KbE/g), am Lagerungstag 5 ( $4,95 \pm 0,16$  log KbE/g), am Lagerungstag 7 ( $5,34 \pm 0,15$  log KbE/g) und am Lagerungstag 10 ( $5,31 \pm 0,40$  log KbE/g) eine deutliche Erhöhung der Keimdichte an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Die Anzahl der nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ erhöhte sich somit vom Herstellungstag bis zum Tag 10 der Kühllagerung kontinuierlich um insgesamt ca. 3,92 log KbE/g.

Bei +7 °C Lagerungstemperatur betrug die Keimdichte an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* in den unbeimpften Kontrollproben am Tag der Herstellung im geometrischen Mittel  $2,11 \pm 0,16$  log KbE/g. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C konnten in den Kontrollproben am Lagerungstag 1 ( $2,64 \pm 0,52$  log KbE/g), am Lagerungstag 3 ( $4,87 \pm 0,51$  log KbE/g) am Lagerungstag 5 ( $5,82 \pm 0,19$  log KbE/g), am Lagerungstag 7 ( $6,27 \pm 0,11$  log KbE/g) und am Lagerungstag 10 ( $6,55 \pm 0,01$  log KbE/g) signifikant höhere Keimdichten an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Die Keimzahl der nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* in den unbeimpften Kontrollproben erhöhte sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +7 °C um insgesamt ca. 4,44 log KbE/g.

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) konnten am Tag der Herstellung bei +7 °C im geometrischen Mittel  $2,21 \pm 0,23 \log \text{KbE/g}$  an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C wurden in den Hackfleischproben mit B-LC 20 am Lagerungstag 1 ( $2,38 \pm 0,07 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 3 ( $4,74 \pm 0,45 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $5,37 \pm 0,05 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $6,05 \pm 0,11 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $6,06 \pm 0,12 \log \text{KbE/g}$ ) ebenfalls deutliche Erhöhungen der Keimdichten an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Die Keimdichte der nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* lag nach 10-tägiger Kühllagerung bei +7 °C ca.  $3,80 \log \text{KbE/g}$  über der am Herstellungstag nachgewiesenen Keimdichte.

In den Hackfleischproben mit der eingepflichten Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) konnten am Tag der Herstellung bei +7 °C im geometrischen Mittel  $2,05 \pm 0,28 \log \text{KbE/g}$  an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C wurde in den Hackfleischproben mit B-SF 43 am Lagerungstag 1 ( $2,58 \pm 0,22 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 3 ( $4,10 \pm 0,02 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 5 ( $5,28 \pm 0,00 \log \text{KbE/g}$ ), am Lagerungstag 7 ( $5,50 \pm 0,02 \log \text{KbE/g}$ ) und am Lagerungstag 10 ( $5,97 \pm 0,22 \log \text{KbE/g}$ ) eine deutliche Erhöhung der Keimdichte an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Die Anzahl der nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ erhöhte sich vom Herstellungstag bis zum Tag 10 der Kühllagerung kontinuierlich um insgesamt ca.  $3,92 \log \text{KbE/g}$ .

Betrachtet man die ermittelten Keimzahlen bei den verschiedenen Lagerungstemperaturen, so wird deutlich, dass eine Erhöhung der Lagerungstemperatur auf +7 °C bei gleichzeitiger Inokulation der verwendeten Schutzkulturen nicht grundsätzlich eine signifikante Keimzahl-Erhöhung der untersuchten Mikroorganismen bewirkt hat. Der Nachweis von *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben ohne Schutzkulturen (Kontrolle) ergab nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C ähnlich hohe Keimzahlen ( $p \geq 0,05$ ), wie bei der Lagerung bei +7 °C ( $\Delta 0,14 \log \text{KbE/g}$ ). In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnten ab dem 3. Lagerungstag inhibierende Effekte der Schutzkulturen beobachtet werden, die eine weniger stark ausgeprägte Erhöhung der Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* bewirkten. Diese Effekte wirkten sich bis zum Ende der Lagerungszeit aus. In den bei +2 °C gelagerten Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden nach 10 Tagen statistisch signifikant höhere Keimzahlen nachgewiesen ( $p \leq 0,05$ ), als in den bei +7 °C gelagerten Proben ( $\Delta 0,6 \log \text{KbE/g}$ ). In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurden dagegen nach 10-tägiger Lagerung bei +7 °C höhere Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen ( $p \geq 0,05$ ), als bei einer Lagerung bei +2 °C ( $\Delta 0,62 \log \text{KbE/g}$ ).

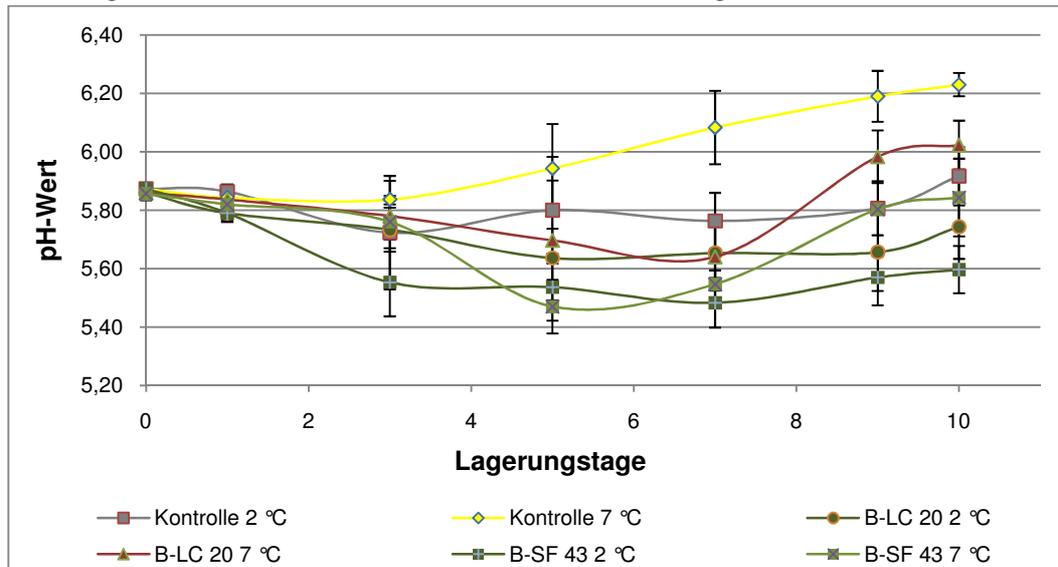
## 4.1.2 Physikalische Untersuchungsergebnisse

### 4.1.2.1 Ergebnisse der pH-Wertmessungen

In Abbildung 4 wird der Verlauf der pH-Werte der Hackfleischproben des Vorversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C und +7 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den gemessenen pH-Wert der Proben (Mittelwert  $\pm$  SD) dar.

An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die pH-Werte der Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) sowie die pH-Werte der unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle)

bezüglich ihrer Entwicklung über den Verlauf der Lagerung untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 24 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 4: VVS 1 gemittelte pH-Werte (n = 3) der Hackfleischproben aus Putenflügelfleisch bei +2 °C und +7 °C Lagerungstemperatur**

Bei +2 °C Lagerungstemperatur betrug der pH-Wert der Hackfleischproben ohne Schutzkulturen (Kontrolle) am Herstellungstag im geometrischen Mittel  $5,87 \pm 0,01$ . Am Lagerungstag 1 konnte bei einer Lagerungstemperatur vom +2 °C ein pH-Wert von  $5,86 \pm 0,02$  ermittelt werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C reduzierte sich der pH-Wert der Kontrollproben bis zum 3. Lagerungstag auf Werte von  $5,72 \pm 0,10$ , und stieg bis zum 10. Lagerungstag wieder auf Werte von  $5,92 \pm 0,10$  an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus ein Anstieg des pH-Wertes bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,05$ .

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) betrug der mittlere pH-Wert am Herstellungstag bei +2 °C  $5,86 \pm 0,02$ . Am Lagerungstag 1 wurde ein pH-Wert von  $5,79 \pm 0,03$  ermittelt. Bis zum Lagerungstag 5 fiel der pH-Wert der Proben mit B-LC 20 auf mittlere Werte von  $5,64 \pm 0,10$  und stieg bis zum Ende der Lagerung wieder auf einen Wert von  $5,74 \pm 0,11$  an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus eine Reduzierung des pH-Wertes bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,12$ . Im Vergleich mit der Kontrollprobe ergibt sich am Lagerungstag 10 eine Reduzierung um  $\Delta 0,18$  ( $p \leq 0,05$ ).

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) konnten am Tag der Herstellung bei +2 °C mittlere pH-Werte von  $5,87 \pm 0,01$  gemessen werden. Am Lagerungstag 1 der 10-tägigen Kühllagerung wurde ein gemittelter pH-Wert von  $5,79$  gemessen. Bis zum 7. Lagerungstag fiel der pH-Wert der Proben mit B-SF 43 auf einen Wert von  $5,48 \pm 0,09$  und stieg im Anschluss bis zum Ende der Lagerung auf einen gemittelten Wert von  $5,60 \pm 0,08$ . Im Vergleich mit der Kontrollprobe ergibt sich am Lagerungstag 10 eine Reduzierung um  $\Delta 0,32$  ( $p \geq 0,05$ ), im Vergleich mit den Hackfleischproben mit B-LC 20 ergibt sich eine Reduzierung des pH-Wertes um  $\Delta 0,14$  ( $p \geq 0,05$ ).

Bei einer Lagerungstemperatur von +7 °C betrug der pH-Wert der Hackfleischproben ohne Schutzkulturen (Kontrolle) am Tag der Herstellung im geometrischen Mittel  $5,87 \pm 0,01$ . Am Lagerungstag 1 konnte ein pH-Wert von  $5,84 \pm 0,05$  ermittelt werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +7 °C reduzierte sich der pH-Wert der Kontrollproben bis zum 3. Lagerungstag auf Werte von  $5,83 \pm 0,06$ , und stieg bis zum 10. Lagerungstag wieder auf

Werte von  $6,23 \pm 0,04$  an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus ein Anstieg des pH-Wertes bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,36$ .

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) betrug der mittlere pH-Wert bei  $+7\text{ °C}$  am Herstellungstag  $5,86 \pm 0,02$ . Am Lagerungstag 1 wurde ein pH-Wert von  $5,84 \pm 0,03$  ermittelt. Bis zum Lagerungstag 5 fiel der pH-Wert der Proben mit B-LC 20 auf mittlere Werte von  $5,64 \pm 0,12$  und stieg bis zum Ende der Lagerung wieder auf einen Wert von  $6,02 \pm 0,08$  an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus eine Erhöhung des pH-Wertes bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,16$ . Im Vergleich mit der Kontrollprobe ergibt sich am Lagerungstag 10 eine Reduzierung um  $\Delta 0,20$  ( $p \geq 0,05$ ).

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) konnten am Tag der Herstellung bei  $+7\text{ °C}$  mittlere pH-Werte von  $5,86 \pm 0,02$  gemessen werden. Am Lagerungstag 1 der 10-tägigen Kühllagerung wurde ein gemittelter pH-Wert von  $5,82 \pm 0,03$  gemessen. Bis zum 5. Lagerungstag fiel der pH-Wert der Proben mit B-SF 43 auf einen Wert von  $5,47 \pm 0,09$  und stieg im Anschluss bis zum Ende der Lagerung auf einen gemittelten Wert von  $5,84 \pm 0,13$ . Verglichen mit dem pH-Wert am Herstellungstag ergibt sich nach 10 Tagen Kühllagerung bei  $+7\text{ °C}$  eine Reduzierung des pH-Wertes um  $\Delta 0,01$ . Im Vergleich mit der Kontrollprobe ergibt sich am Lagerungstag 10 eine Reduzierung um  $\Delta 0,39$  ( $p \geq 0,05$ ), im Vergleich mit den Hackfleischproben mit B-LC 20 ergibt sich eine Reduzierung des pH-Wertes um  $\Delta 0,20$  ( $p \geq 0,05$ ).

Der Vergleich der pH-Werte der Hackfleischproben, die bei  $+2\text{ °C}$ , bzw. bei  $+7\text{ °C}$  gelagert wurden, lässt erkennen, dass der pH-Wert der unbeimpften Kontrollproben bei einer 10-tägigen Lagerung bei  $+7\text{ °C}$  im Mittel ca.  $\Delta 0,31$  ( $p \leq 0,05$ ) höher gemessen wurde, als in den Hackfleischproben, die bei  $+2\text{ °C}$  gelagert wurden. Bei den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 betrug die pH-Wert-Erhöhung nach 10 Tagen eine Differenz von  $\Delta 0,28$  ( $p \leq 0,05$ ) und bei den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 ergab sich durch die höhere Lagertemperatur eine Erhöhung des pH-Wertes um  $\Delta 0,24$  ( $p \geq 0,05$ ).

## 4.2 VVS 2: Ermittlung der Applikationsmethode

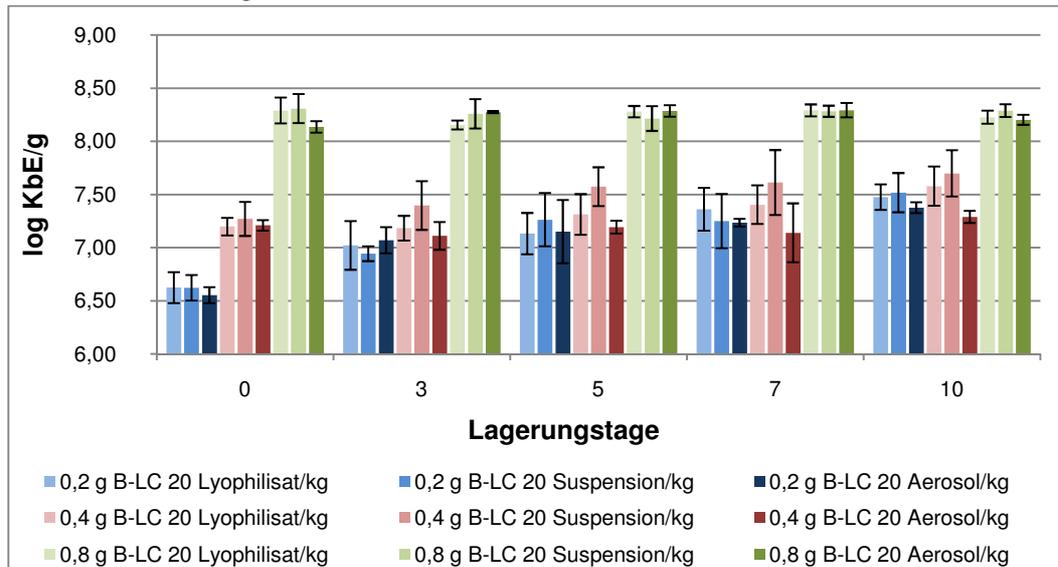
### 4.2.1 Mikrobiologische Ergebnisse

#### 4.2.1.1 Nachweis von Milchsäurebakterien

In Abbildung 5 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an Milchsäurebakterien des Vorversuchs zur Ermittlung der geeigneten Applikationsmethode während der 10-tägigen Lagerungszeit bei  $+2\text{ °C}$  dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Milchsäurebakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf MRS-Agar dar. Im Rahmen des Oberflächenspatelverfahrens wurden nur solche Kolonien gewertet, die eine für Milchsäurebakterien typische Koloniemorphologie aufwiesen. Die Kolonien der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden zusätzlich stichprobenartig mit API-Tests und durch Polymerase-Kettenreaktion bestätigt, um sicherzustellen, dass es sich bei den nachgewiesenen Milchsäurebakterien um die eingepflichtete Schutzkultur handelt (Tabelle 37 im Tabellenanhang).

Am Herstellungstag wurden 0,2 bzw. 0,4 bzw. 0,8 g der Schutzkultur B-LC 20 /kg Hackfleisch mit Hilfe unterschiedlicher Eintragungsmethoden in / bzw. auf das frisch hergestellte

Hackfleisch ein- bzw. aufgebracht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 13 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 5: VVS 2 Ergebnisse (n = 3) verschiedener Eintragungsmethoden bei 0,2 g Schutzkultur / kg Putenhackfleisch bei +2 °C Lagerungstemperatur**

Wie der Abbildung 5 zu entnehmen ist, bewirken die verschiedenen Eintragungsmethoden nur leichte, und statistisch nicht signifikante Unterschiede ( $p \geq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen an Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben. Bei allen drei Applikationsmethoden konnten bei einem Eintrag von 0,2 g B-LC 20/kg am Tag der Herstellung Keimzahlen an Milchsäurebakterien von  $\geq 6,5$  log KbE/g nachgewiesen werden, die sich im Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C auf  $\geq 7$  log KbE/g erhöht haben. Nach 10 Tagen konnten folgende Keimzahlen ermittelt werden: In den Hackfleischproben, in die das Lyophilisat eingebracht wurde, konnten Milchsäurebakterien-Keimzahlen von  $7,48 \pm 0,12$  log KbE/g nachgewiesen werden. In den Hackfleischproben, in welche die Schutzkultursuspension eingebracht wurde, konnten Keimzahlen von  $7,52 \pm 0,18$  log KbE/g nachgewiesen werden und in den Hackfleischproben, die mit dem Schutzkultur-Aerosol beaufschlagt wurden, konnten Keimzahlen von  $7,38 \pm 0,05$  log KbE/g nachgewiesen werden. Bei einem Eintrag von 0,4 g Schutzkultur / kg Hackfleisch sind teilweise signifikante Differenzen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien zwischen den verschiedenen Applikationsmethoden feststellbar. Am Herstellungstag konnten in den Hackfleischproben folgende Keimzahlen an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden: In den Hackfleischproben, in die das Lyophilisat eingebracht wurde, konnten Milchsäurebakterien-Keimzahlen von  $7,20 \pm 0,08$  log KbE/g nachgewiesen werden. In den Hackfleischproben, in welche die Schutzkultursuspension eingebracht wurde, konnten Keimzahlen von  $7,27 \pm 0,16$  log KbE/g nachgewiesen werden und in den Hackfleischproben, die mit dem Schutzkultur-Aerosol beaufschlagt wurden, konnten Keimzahlen von  $7,21 \pm 0,05$  log KbE/g nachgewiesen werden. Nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C wurden folgende Keimzahlen ermittelt. In den Hackfleischproben, in die das Lyophilisat eingebracht wurde, konnten Milchsäurebakterien-Keimzahlen von  $7,58 \pm 0,18$  log KbE/g nachgewiesen werden. In den Hackfleischproben, in welche die Schutzkultursuspension eingebracht wurde, konnten Keimzahlen von  $7,70 \pm 0,22$  log KbE/g nachgewiesen werden und in den Hackfleischproben, die mit dem Schutzkultur-Aerosol beaufschlagt wurden, konnten Keimzahlen von  $7,29 \pm 0,06$  log KbE/g nachgewiesen werden. Die Differenz an nachgewiesenen Milchsäurebakterien am 10. Lagerungstag betrug zwischen den Hackfleischproben Lyophilisat und Suspension  $\Delta 0,12$  log KbE/g, zwischen

Lyophilisat und Aerosol  $\Delta 0,29 \log \text{KbE/g}$  und zwischen Suspension und Aerosol  $\Delta 0,41 \log \text{KbE/g}$ .

Bei einem Eintrag von 0,8 g Schutzkultur / kg Hackfleisch sind nur am Herstellungstag und am Lagerungstag 3 teilweise Differenzen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien zwischen den verschiedenen Applikationsmethoden feststellbar. Am Herstellungstag konnten in den Hackfleischproben folgende Keimzahlen an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden: In den Hackfleischproben, in die das Lyophilisat eingebracht wurde, konnten Milchsäurebakterien-Keimzahlen von  $8,29 \pm 0,12 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden. In den Hackfleischproben, in welche die Schutzkultursuspension eingebracht wurde, konnten Keimzahlen von  $8,31 \pm 0,14 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden und in den Hackfleischproben, die mit dem Schutzkultur-Aerosol beaufschlagt wurden, konnten Keimzahlen von  $8,16 \pm 0,05 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden. Nach 10-tägiger Lagerung bei  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  wurden folgende Keimzahlen ermittelt. In den Hackfleischproben, in die das Lyophilisat eingebracht wurde, konnten Milchsäurebakterien-Keimzahlen von  $8,23 \pm 0,06 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden. In den Hackfleischproben, in welche die Schutzkultursuspension eingebracht wurde, konnten Keimzahlen von  $8,29 \pm 0,06 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden und in den Hackfleischproben, die mit dem Schutzkultur-Aerosol beaufschlagt wurden, konnten Keimzahlen von  $8,20 \pm 0,05 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden. Die Differenz an nachgewiesenen Milchsäurebakterien am 10. Lagerungstag betrug zwischen den Hackfleischproben Lyophilisat und Suspension  $\Delta 0,06 \log \text{KbE/g}$ , zwischen Lyophilisat und Aerosol  $\Delta 0,03 \log \text{KbE/g}$  und zwischen Suspension und Aerosol  $\Delta 0,09 \log \text{KbE/g}$ .

Zusammenfassend kann demnach geschlussfolgert werden, dass die unterschiedlichen Eintrags- bzw. Applikationsmethoden nur geringfügige und statistisch nicht signifikante Differenzen bezüglich der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben bewirken. In den weiteren Versuchen wurde deshalb mit der Applikationsmethode Lyophilisat gearbeitet, die auch von HANSEN (2002) für die Herstellung von Brät präferiert wird.

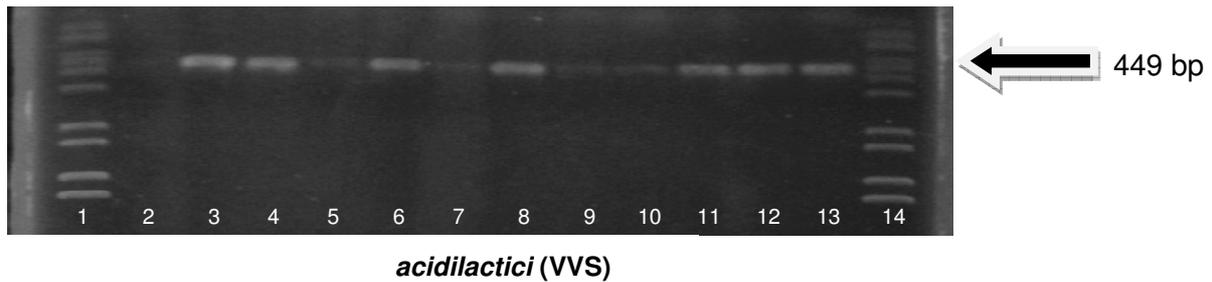
#### **4.2.2 Spezifischer Nachweis von *P. acidilactici* mit dem API Test**

Nachdem die koloniebildenden Einheiten des Milchsäurebakterien-Nachweises ausgezählt worden sind, wurde mit dem API 50 CHL-Test stichprobenartig jede 2. Kolonie überprüft, um zu bestätigen, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien aus den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> der inokulierten Schutzkultur zuzuordnen sind.

Auch bei der Auswertung dieser Teststreifen (Tabelle 37) konnte nachgewiesen werden, dass alle untersuchten Milchsäurebakterien-Kolonien der Schutzkultur zuzuordnen sind (Tabelle 37 im Tabellenanhang). Die nachgewiesenen Reaktionen auf den Teststreifen der untersuchten Proben stimmten zu 99,9 % mit den Reaktionen von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) überein.

#### **4.2.3 Molekularbiologischer Nachweises von *P. acidilactici***

Auch durch diesen molekularbiologischen Nachweis konnte bestätigt werden, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien der Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> der inokulierten Schutzkultur zuzuordnen sind. Bei allen untersuchten Kolonien konnte durch die Polymerase-Kettenreaktion die spezifische D-Laktat-Dehydrogenase-Sequenz (D-LDH-Sequenz) von *P. acidilactici* (DSM 10313) in Form einer Bande nachgewiesen werden.



**Tabelle 10: Beladung der Kavitäten des Agarosegels in VVS 2**

1	Marker	2	H <sub>2</sub> O	6	V 2-3	10	V 2-7	14	Marker
		3	B-LC 20	7	V 2-3	11	V 2-7		
		4	V 2-0	8	V 2-5	12	V 2-10		
		5	V 2-0	9	V 2-5	13	V 2-10		

In Abbildung 6 ist ein Agarosegel des spezifischen Nachweises von *Pediococcus acidilactici* aus dem 2. Vorversuch abgebildet. Die Isolierung der DNS erfolgte wieder an den entsprechenden Lagerungstagen. In Vorversuch 2 wurden, wie in VVS 1, pro Gel insgesamt 10 Kolonien stichprobenartig überprüft (V2 0-10). Die in Tabelle 10 angegebenen Bezeichnungen geben Auskunft über die Beladung der Kavitäten: 1 und 14 wurden mit dem DNS-Marker beladen, 2 mit H<sub>2</sub>O als Negativkontrolle, 3 mit Referenz-DNS von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) und 4 – 13 mit isoliertem Probenmaterial der Hackfleischproben von den jeweiligen Untersuchungstagen in VVS 2, die mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> inokuliert wurden. Wie der Abbildung zu entnehmen ist, waren bei 449 bp in allen Spuren Banden zu erkennen, außer in der Negativkontrolle. Die Banden der Spuren 5, 7, 9 und 10 sind zwar wieder deutlich schwächer ausgeprägt, als die übrigen. Dennoch kann auch nach diesem Versuch davon ausgegangen werden, dass die auf MRS-Agar nachgewiesenen Milchsäurebakterien der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> (*P. acidilactici* DSM 10313) zuzuordnen sind.

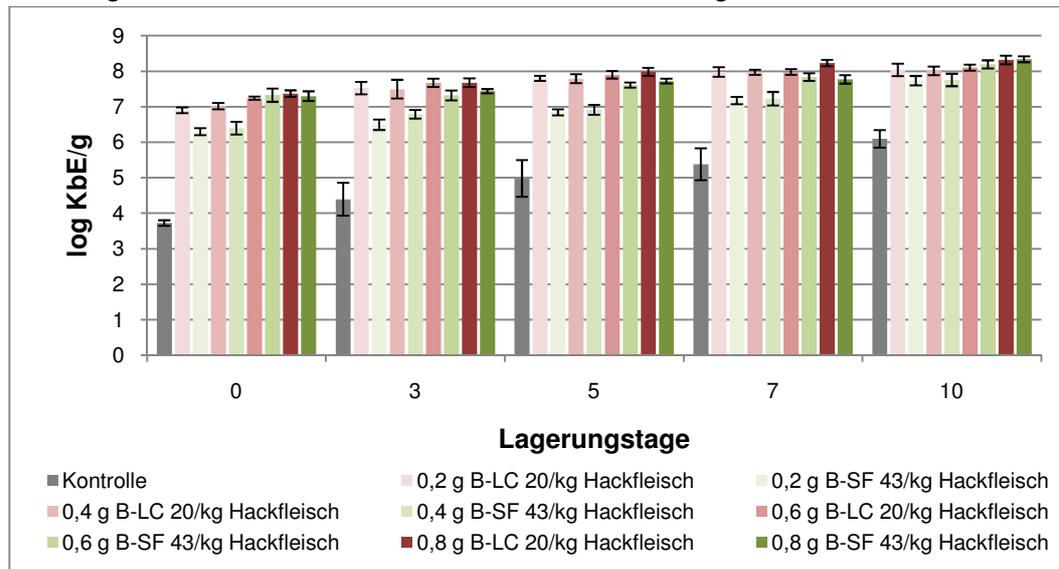
### 4.3 VVS 3 Ermittlung der Schutzkulturkonzentration

#### 4.3.1 Mikrobiologische Ergebnisse

##### 4.3.1.1 Nachweis von Milchsäurebakterien

In Abbildung 7 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an Milchsäurebakterien des Vorversuchs zur Ermittlung der geeigneten Schutzkulturkonzentration während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Milchsäurebakterien (Mittelwert ± SD) auf MRS-Agar dar. Im Rahmen des Oberflächenspatelverfahrens wurden nur solche Kolonien gewertet, die eine für Milchsäurebakterien typische Koloniemorphologie aufwiesen. Die Kolonien der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> wurden zusätzlich stichprobenartig mit API-Tests und durch Polymerase-Kettenreaktion bestätigt, um sicherzustellen, dass es sich bei den nachgewiesenen Milchsäurebakterien um die eingepflichtete Schutzkultur handelt.

Am Herstellungstag wurden 0,2, 0,4, 0,6 bzw. 0,8 g der Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 /kg Hackfleisch in das frisch hergestellte Hackfleisch eingebracht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 14 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 7: VVS 3 Nachweis (n = 4) von Milchsäurebakterien bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleisches mit unterschiedlichen Konzentrationen B-LC 20 bzw. B-SF 43**

Wie der Abbildung 7 zu entnehmen ist, betrug die Keimdicke an nachgewiesenen Milchsäurebakterien am Herstellungstag in der Kontrollprobe 3,83 log KbE/g Hackfleisch. Nach Inokulation von 0,2 g der Schutzkultur B-LC 20 konnten am Herstellungstag 6,78 log KbE/g nachgewiesen werden. Nach Inokulation von 0,2 g B-SF 43/kg Hackfleisch wurden 6,18 log KbE/g an Milchsäurebakterien nachgewiesen. Nach Ablauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +2 °C wurden in der Kontrollprobe 6,46 log KbE/g nachgewiesen. In den Hackfleischproben mit einem Inokulat von 0,2 g B-LC 20/kg wurden nach 10 Tagen 7,78 log KbE/g an Milchsäurebakterien nachgewiesen und in den Hackfleischproben mit 0,2 g B-SF 43/kg konnten nach 10-tägiger Lagerung 8,0 log KbE/g Milchsäurebakterien nachgewiesen werden.

Bei einer Inokulationsmenge von 0,4 g Schutzkultur /kg Hackfleisch wurden am Herstellungstag in den Proben mit B-LC 20 6,88 log KbE/g und in den Proben mit B-SF 43 6,28 log KbE/g an Milchsäurebakterien nachgewiesen. Nach Ablauf der Lagerung konnten in den Proben mit B-LC 20 8,18 log KbE/g und in den Proben mit B-SF 43 8,07 log KbE/g Milchsäurebakterien nachgewiesen werden.

Nach Inokulation von 0,6 g der jeweiligen Schutzkultur/kg Hackfleisch ließen sich in den Proben mit B-LC 20 am Herstellungstag 7,18 log KbE/g und in den Proben mit B-SF 43 6,94 log KbE/g an Milchsäurebakterien nachweisen. Am 10. Tag der Lagerung konnten in den Proben mit B-LC 20 und B-SF 43 jeweils 8,13 log KbE/g an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden.

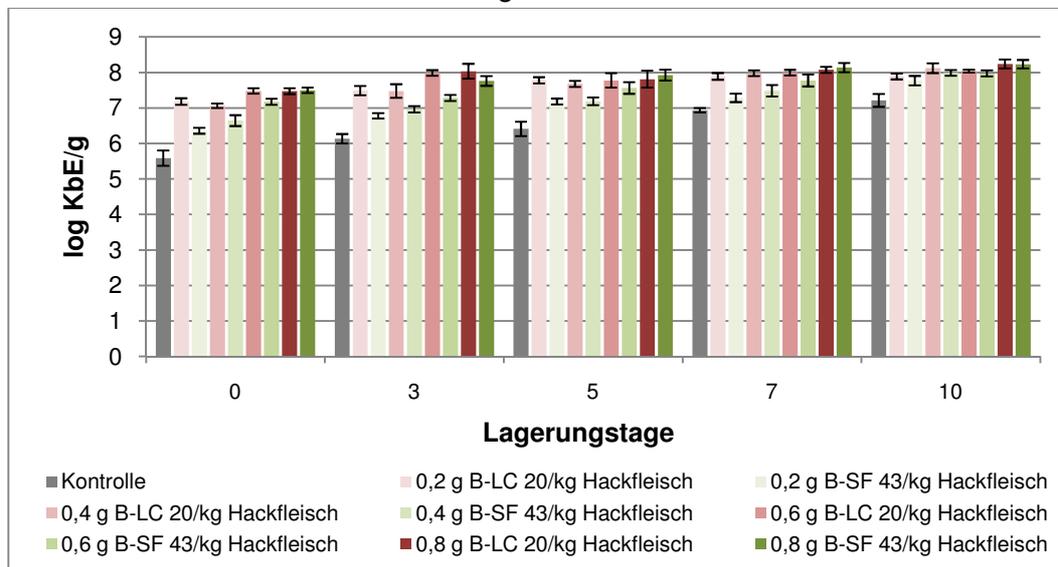
Die Inokulation von 0,8 g der jeweiligen Schutzkulturen bewirkte initiale nachgewiesene Keimzahlen von 7,32 log KbE/g (B-LC 20) bzw. 7,03 log KbE/g (B-SF 43). Nach 10-tägiger Lagerung wurden in den Proben mit B-LC 20 8,24 log KbE/g und in den Proben mit B-SF 43 8,25 log KbE/g an Milchsäurebakterien nachgewiesen.

Nach Ablauf der Lagerungszeit konnten zwischen den Hackfleischproben mit 0,2 g und den Hackfleischproben mit 0,4 bzw. 0,6 g der Schutzkultur B-LC 20 pro kg Hackfleisch statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen an

Milchsäurebakterien ermittelt werden. Bei den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten am Lagerungstag 10 nur zwischen den Proben mit Konzentrationen von 0,2 und 0,8 g/kg statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) ermittelt werden. Unabhängig von der Menge der inokulierten Schutzkultur B-LC 20 konnten nach 10-tägiger Lagerung in allen Proben Milchsäurebakterien in Keimdichten von ca. 8 log KbE/g nachgewiesen werden. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten nach 10-tägiger Lagerung  $\geq 7,74$  log KbE/g an Milchsäurebakterien nachgewiesen werden.

#### 4.3.1.2 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl

In Abbildung 8 wird der Verlauf der mittels Plattengussverfahren erhobenen aeroben mesophilen Gesamtkeimzahlen des Vorversuchs zur Ermittlung der geeigneten Schutzkulturkonzentration während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Gesamtbakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf PC-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 14 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 8: VVS 3 Nachweis (n = 4) der aeroben mesophilen GKZ bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleischs mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43**

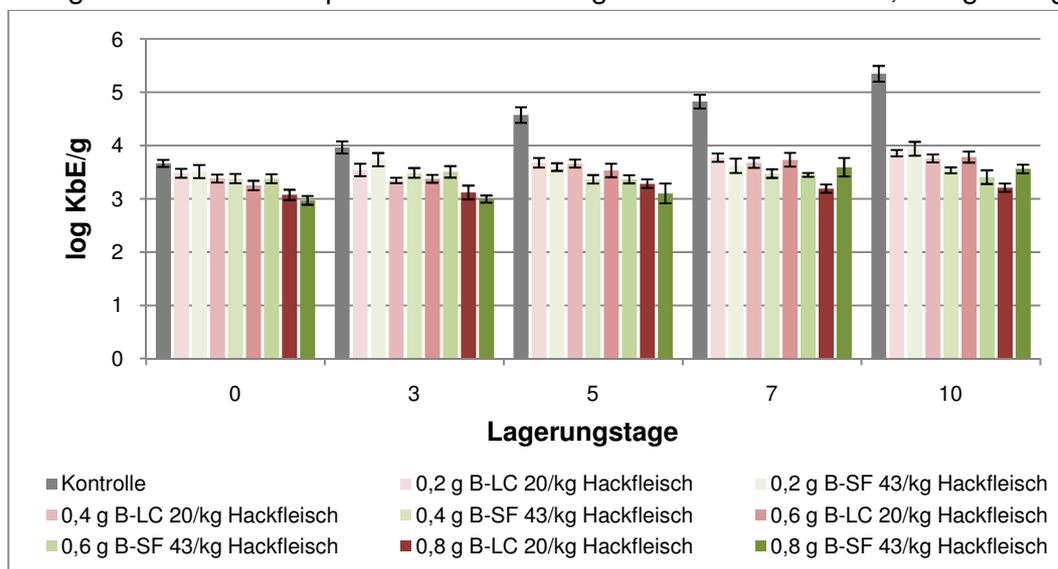
Der Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (GKZ) in den Hackfleischproben erbrachte vergleichbare Ergebnisse, wie der Nachweis der Milchsäurebakterien. Die nachgewiesenen Gesamtbakterien der jeweiligen Hackfleischproben korrelieren mit den jeweilig inokulierten Mengen der Schutzkulturen. Unabhängig von Inokulat und Menge ergaben sich bezüglich des Nachweises der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl zwischen den Proben mit Schutzkulturen und den unbeimpften Kontrollproben statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ). Nach 10-tägiger Lagerung konnten in allen mit Schutzkulturen inokulierten Hackfleischproben  $\geq 7,77$  log KbE/g an Gesamtbakterien nachgewiesen werden. In der Kontrollprobe ohne Schutzkulturen wurde nach 10 Tagen eine Gesamtkeimzahl von 7,42 log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht in den unbeimpften Hackfleischproben einer Vermehrung der Gesamtkeimzahl um  $\Delta 1,84$  log KbE/g.

#### 4.3.1.3 Nachweis von *Enterobacteriaceae*

In Abbildung 9 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen *Enterobacteriaceae* des Vorversuchs zur Ermittlung der geeigneten Schutzkulturkonzentration während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf VRBD-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 14 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Wie der Abbildung 9 zu entnehmen ist, bewirkten die eingesetzten Schutzkulturen, unabhängig von Inokulat und Menge, eine statistisch signifikante Reduzierung ( $p \leq 0,05$ ) der nachgewiesenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben.

Die Keimdichte an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* am Tag der Herstellung betrug in den unbeimpften Kontrollproben im Mittel 3,66 log KbE/g. Nach Ablauf der 10-tägigen Kühlung bei +2 °C wurden in den Kontrollproben 5,35 log KbE/g an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Das entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 1,69$  log KbE/g.



**Abbildung 9: VVS 3 Nachweis (n = 4) der *Enterobacteriaceae* bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleischs mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43**

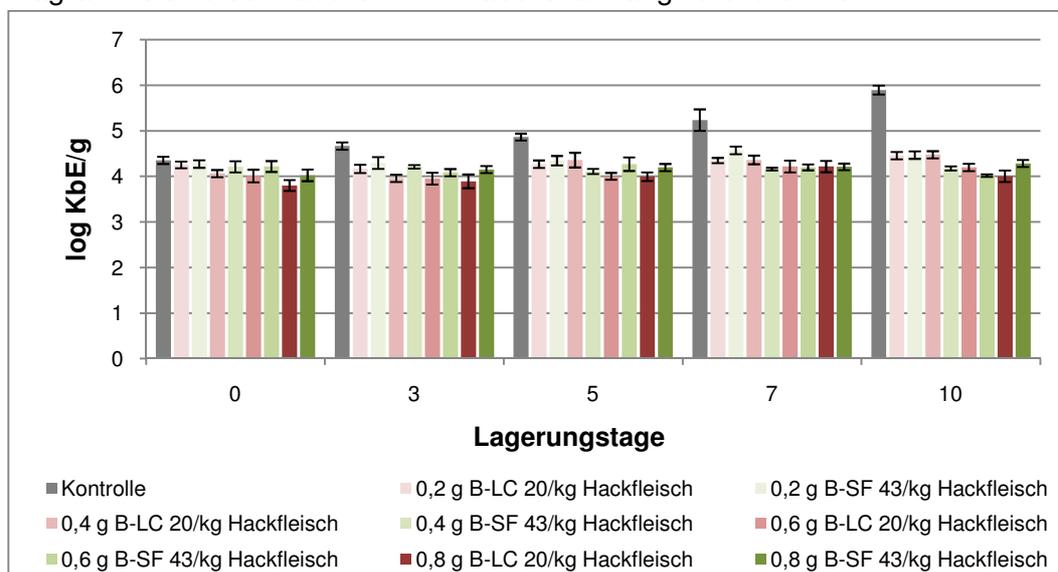
In den Hackfleischproben mit den jeweilig inokulierten Mengen an Schutzkulturen lagen die initialen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* zwischen 3,21 log KbE/g (0,8 g B-LC 20/kg Hackfleisch) und 3,94 log KbE/g (0,2 g B-SF 43/kg Hackfleisch). Nach 10-tägiger Kühlung bei +2 °C wurden in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Keimzahlen von 3,86 log KbE/g (0,2 g/kg), 3,76 log KbE/g (0,4 g/kg), 3,78 log KbE/g (0,6 g/kg) und 3,21 log KbE/g (0,8 g/kg) ermittelt. Die Unterschiede der nachgewiesenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben mit 0,2 g/kg, 0,4 g/kg und 0,6 g/kg der Schutzkultur sind statistisch nicht signifikant ( $p \geq 0,05$ ). Die nachgewiesenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben mit 0,8 g der Schutzkultur pro kg Hackfleisch stellen einen statistisch signifikanten Unterschied zu den 3 anderen, mit B-LC 20 inokulierten, Proben dar ( $p \leq 0,05$ ).

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Tag 10 der Kühlung 3,94 log KbE/g (0,2 g/kg), 3,53 log KbE/g (0,4 g/kg), 3,41 log KbE/g (0,6 g/kg) bzw. 3,56 log KbE/g (0,8 g/kg) *Enterobacteriaceae* nachgewiesen. Die unterschiedlichen Inokulationsmengen der Schutzkultur B-SF 43 bewirkten bezüglich der nachgewiesenen

Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* zwischen den Proben mit 0,2 g/kg und den Proben mit 0,4 g/kg, 0,6 g/kg bzw. 0,8 g/kg statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ). Zwischen den Proben mit 0,4 g/kg, 0,6 g/kg und 0,8 g/kg ließen sich dagegen keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen.

#### 4.3.1.4 Nachweis von *Pseudomonas* ssp.

In Abbildung 10 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen *Pseudomonas* ssp. des Vorversuchs zur Ermittlung der geeigneten Schutzkulturkonzentration während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. (Mittelwert  $\pm$  SD) auf GSP-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 14 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 10: VVS 3 Nachweis (n = 4) der *Pseudomonas* ssp. bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleischs mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43**

Abbildung 10 ist zu entnehmen, dass die eingesetzten Schutzkulturen, unabhängig von Inokulat und Menge, nach 10-tägiger Kühlung bei +2 °C zu einer statistisch signifikanten Reduzierung ( $p \leq 0,05$ ) der nachgewiesenen Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp. in den Hackfleischproben geführt haben.

Die Keimdichte an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. am Tag der Herstellung betrug in den unbeimpften Kontrollproben im Mittel 4,35 log KbE/g. Nach Ablauf der 10-tägigen Kühlung bei +2 °C wurden in den Kontrollproben 5,90 log KbE/g an *Pseudomonas* ssp. nachgewiesen. Das entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 1,55$  log KbE/g.

In den Hackfleischproben mit den jeweilig inokulierten Mengen an Schutzkulturen lagen die initialen Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp. zwischen 3,80 log KbE/g (0,8 g B-LC 20/kg Hackfleisch) und 4,27 log KbE/g (0,2 g B-SF 43/kg Hackfleisch). Nach 10-tägiger Kühlung bei +2 °C wurden in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Keimzahlen von 4,46 log KbE/g (0,2 g/kg), 4,48 log KbE/g (0,4 g/kg), 4,20 log KbE/g (0,6 g/kg) und 4,00 log KbE/g (0,8 g/kg) ermittelt. Das entspricht einer Erhöhung der initialen Keimzahlen um  $\Delta 0,21$  log KbE/g (0,2 g/kg),  $\Delta 0,42$  log KbE/g (0,4 g/kg),  $\Delta 0,19$  log KbE/g (0,6 g/kg) und  $\Delta 0,20$  log KbE/g (0,8 g/kg). Die ermittelten Keimzahlen der Hackfleischproben mit 0,2 bzw. 0,4 g/kg der

Schutzkultur B-LC 20 unterscheiden sich statistisch signifikant ( $p \leq 0,05$ ) von den Proben mit 0,6 und 0,8 g/kg.

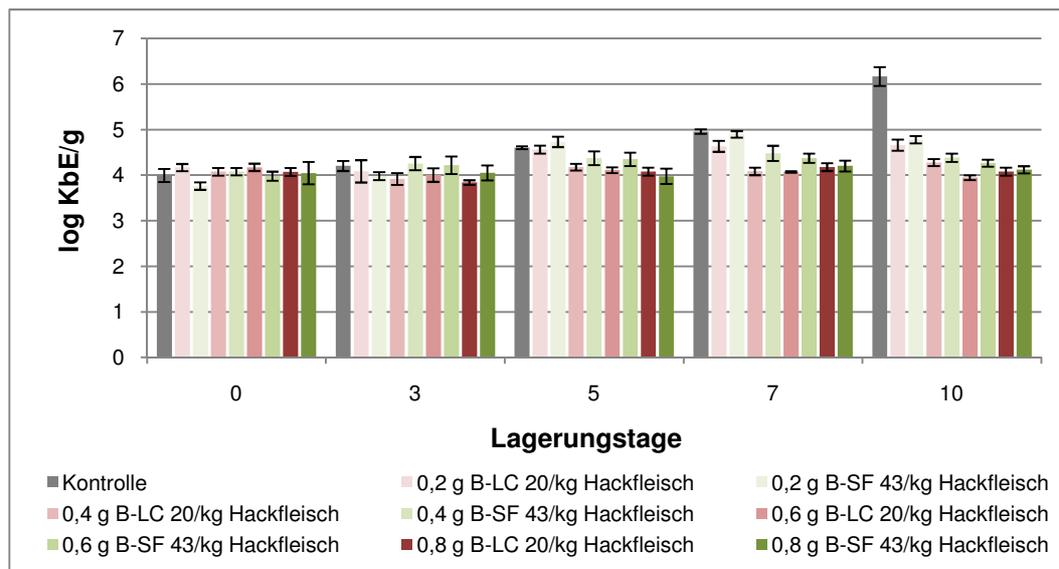
In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Tag 10 der Kühllagerung 4,47 log KbE/g (0,2 g/kg), 4,18 log KbE/g (0,4 g/kg), 4,02 log KbE/g (0,6 g/kg) bzw. 4,29 log KbE/g (0,8 g/kg) *Pseudomonas* ssp. nachgewiesen. In den Proben mit 0,2 und 0,8 g/kg der Schutzkultur erhöhte sich die nachgewiesene Keimzahl um  $\Delta$  0,20 bzw. 0,27 log KbE/g. In den Proben mit 0,4 bzw. 0,6 g/kg der Schutzkultur reduzierte sich die initiale Keimzahl an *Pseudomonas* ssp. um 0,03 bzw. 0,20 log KbE/g. Die unterschiedlichen Inokulationsmengen der Schutzkultur B.SF 43 bewirkten bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp. zwischen den Proben mit 0,2 g/kg und den Proben mit 0,4 g/kg, 0,6 g/kg bzw. 0,8 g/kg statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ). Zwischen den Proben mit 0,4 g/kg, 0,6 g/kg und 0,8 g/kg ließen sich dagegen keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen.

#### 4.3.1.5 Nachweis von *Brochotrix thermosphacta*

In Abbildung 10 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* des Vorversuchs zur Ermittlung der geeigneten Schutzkulturkonzentration während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf SIN-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 14 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Abbildung 11 ist zu entnehmen, dass die eingesetzten Schutzkulturen, unabhängig von Inokulat und Menge, nach 10-tägiger Kühllagerung bei +2 °C zu einer statistisch signifikanten Reduzierung ( $p \leq 0,05$ ) der nachgewiesenen Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* in den Hackfleischproben geführt haben.

Die Keimdichte an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* am Tag der Herstellung betrug in den unbeimpften Kontrollproben im Mittel 4,00 log KbE/g. Nach Ablauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +2 °C wurden in den Kontrollproben 6,17 log KbE/g an *Brochotrix thermosphacta* nachgewiesen. Das entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta$  2,17 log KbE/g.



**Abbildung 11: VVS 3 Nachweis (n = 4) von *Brochotrix thermosphacta* bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleischs mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 und B-SF 43**

In den Hackfleischproben mit den jeweilig inokulierten Mengen an Schutzkulturen lagen die initialen Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* zwischen 3,76 log KbE/g (0,2 g B-SF 43/kg Hackfleisch) und 4,17 log KbE/g (0,2 und 0,6 g B-LC 20/kg Hackfleisch). Nach 10-tägiger Kühlung bei +2 °C wurden in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Keimzahlen von 4,66 log KbE/g (0,2 g/kg), 4,28 log KbE/g (0,4 g/kg), 3,95 log KbE/g (0,6 g/kg) und 4,08 log KbE/g (0,8 g/kg) ermittelt. Das entspricht einer Erhöhung der initialen Keimzahlen um  $\Delta 0,49$  log KbE/g (0,2 g/kg),  $\Delta 0,20$  log KbE/g (0,4 g/kg) und  $\Delta 0,01$  log KbE/g (0,8 g/kg). In der Probe mit 0,6 g/kg reduzierte sich die initiale Keimzahl um  $\Delta 0,22$  log KbE/g (0,8 g/kg). Die ermittelten Keimzahlen der Hackfleischproben mit 0,2 bzw. 0,4 g/kg und 0,6 g/kg der Schutzkultur B-LC 20 unterscheiden sich statistisch signifikant ( $p \leq 0,05$ ) von den Proben mit 0,8 g/kg.

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Tag 10 der Kühlung 4,78 log KbE/g (0,2 g/kg), 4,38 log KbE/g (0,4 g/kg), 4,27 log KbE/g (0,6 g/kg) bzw. 4,12 log KbE/g (0,8 g/kg) *Brochotrix thermosphacta* nachgewiesen. In den Proben mit 0,2 und 0,4 g/kg der Schutzkultur erhöhte sich die nachgewiesene Keimzahl um  $\Delta 0,02$  bzw.  $0,30$  log KbE/g. In den Proben mit 0,4 bzw. 0,8 g/kg der Schutzkultur erhöhte sich die initiale Keimzahl um  $0,29$  bzw.  $0,07$  log KbE/g. Die unterschiedlichen Inokulationsmengen der Schutzkultur B-SF 43 bewirkten bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen zwischen allen Proben statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ).

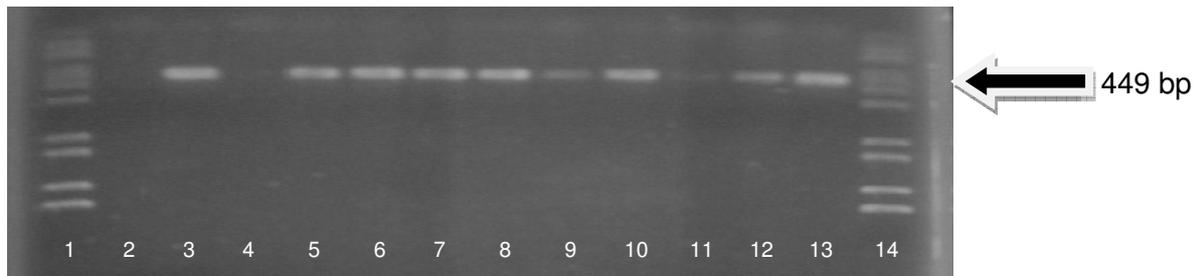
#### 4.3.2 Spezifischer Nachweis von *P. acidilactici* mit dem API Test

Nachdem die koloniebildenden Einheiten des Milchsäurebakterien-Nachweises ausgezählt worden sind, wurde mit dem API 50 CHL-Test stichprobenartig jede 2. Kolonie überprüft, um zu bestätigen, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien aus den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ der inokulierten Schutzkultur zuzuordnen sind.

Auch bei der Auswertung dieser Teststreifen (Tabelle 37) konnte nachgewiesen werden, dass alle untersuchten Milchsäurebakterien-Kolonien der Schutzkultur zuzuordnen sind (Tabelle 37 im Tabellenanhang). Die nachgewiesenen Reaktionen auf den Teststreifen der untersuchten Proben stimmten zu 99,8 % mit den Reaktionen von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) überein.

### 4.3.3 Molekularbiologischer Nachweises von *P. acidilactici*

Der molekularbiologische Nachweis in VVS 3 konnte bestätigen, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien der Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ der inokulierten Schutzkultur zuzuordnen sind. Hierzu wurde an den jeweiligen Untersuchungstagen jede 2. Kolonie mittels Polymerase-Kettenreaktion bestätigt. Bei allen stichprobenartig untersuchten Kolonien konnte durch die Polymerase-Kettenreaktion die spezifische D-Laktat-Dehydrogenase-Sequenz (D-LDH-Sequenz) von *P. acidilactici* (DSM 10313) in Form einer Bande bei 449 bp nachgewiesen werden.



*P. acidilactici* (VVS 3)

**Tabelle 11: Beladung der Kavitäten des Agarosegels in VVS 3**

1	Marker	2	H <sub>2</sub> O	6	V 3-3	10	V 3-7	14	Marker
		3	B-LC 20	7	V 3-3	11	V 3-7		
		4	V 3-0	8	V 3-5	12	V 3-10		
		5	V 3-0	9	V 3-5	13	V 3-10		

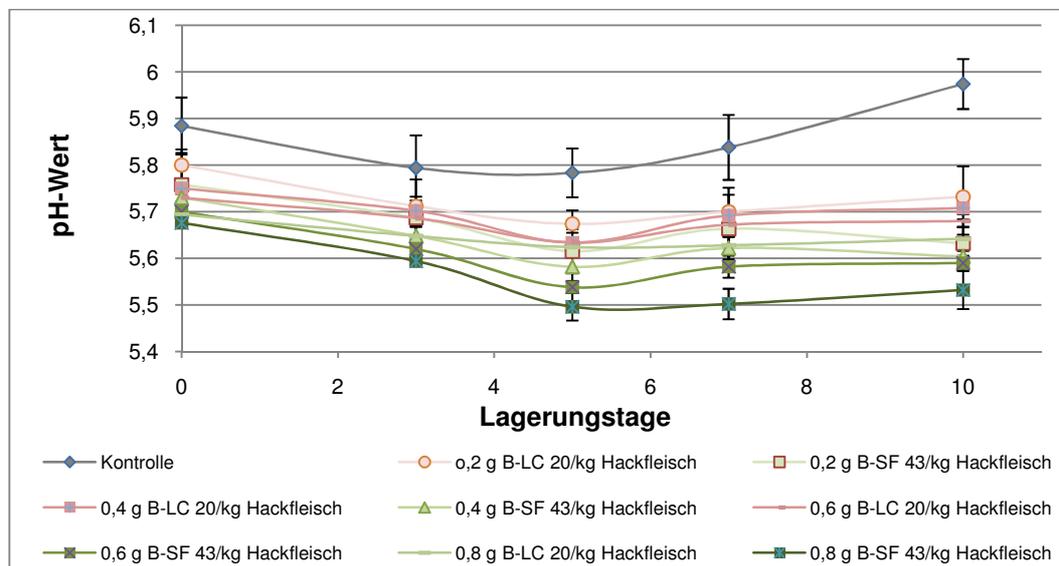
In Abbildung 12 ist ein Agarosegel des spezifischen Nachweises von *Pediococcus acidilactici* aus dem 3. Vorversuch abgebildet. Die Isolierung der DNS erfolgte wieder an den jeweiligen Lagerungstagen. In Vorversuch 3 wurden, wie bei den vorangegangenen Tests, pro Gel insgesamt 10 Kolonien stichprobenartig überprüft (V3 0-10). Die in Tabelle 11 angegebenen Bezeichnungen geben wieder Auskunft über die Beladung der Kavitäten: 1 und 14 wurden mit dem DNS-Marker, 2 mit H<sub>2</sub>O als Negativkontrolle, 3 mit Referenz-DNS von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) und 4 – 13 mit isoliertem Probenmaterial der jeweiligen Untersuchungstage der Hackfleischproben aus VVS 3, die mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ inokuliert wurden. Wie der Abbildung zu entnehmen ist, waren bei 449 bp in allen Spuren Banden zu erkennen, außer in der Negativkontrolle. Die Banden der Spuren 4, 9 und 11 sind wieder deutlich schwächer ausgeprägt, als die übrigen. Dennoch kann auch nach diesem Versuch davon ausgegangen werden, dass die auf MRS-Agar nachgewiesenen Milchsäurebakterien der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (*P. acidilactici* DSM 10313) zuzuordnen sind.

### 4.3.4 Physikalische Untersuchungsergebnisse VVS 3

#### 4.3.4.1 pH-Werte der Hackfleischproben bei verschiedenen Konzentrationen der Schutzkulturen

In Abbildung 13 wird der Verlauf der pH-Werte der Hackfleischproben aus Putenflügelfleisch des Vorversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den gemessenen pH-Wert (Mittelwert  $\pm$  SD) der Proben dar.

An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die pH-Werte der Hackfleischproben mit den jeweiligen Konzentrationen der Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoform™ (B-SF 43) sowie die pH-Werte der unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich ihrer Entwicklung über den Verlauf der Lagerung untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 25 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 13: VVS 3 pH-Werte der Putenhackfleischproben nach Beimpfung mit verschiedenen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 und B-SF 43 bei +2 °C Lagertemperatur (n = 5)**

Bei einer Lagerungstemperatur von +2 °C betrug der pH-Wert der Hackfleischproben ohne Schutzkulturen (Kontrolle) am Herstellungstag im geometrischen Mittel  $5,88 \pm 0,06$ . Am Lagerungstag 3 konnte ein pH-Wert von  $5,79 \pm 0,07$  ermittelt werden. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C reduzierte sich der pH-Wert der Kontrollproben bis zum 5. Lagerungstag auf Werte von  $5,78 \pm 0,05$  und stieg bis zum 10. Lagerungstag wieder auf Werte von  $5,97 \pm 0,05$  an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus ein Anstieg des pH-Wertes bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,09$ .

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) betrug die mittleren pH-Werte am Herstellungstag  $5,80 \pm 0,03$  (0,2 g/kg),  $5,75 \pm 0,01$  (0,4 g/kg),  $5,73 \pm 0,02$  (0,6 g/kg) und  $5,69 \pm 0,01$  (0,8 g/kg). Bis zum Lagerungstag 5 fielen die pH-Werte aller Proben mit B-LC 20 weiter ab und stiegen bis zum Ende der Lagerung wieder auf Werte von  $5,73 \pm 0,07$  (0,2 g/kg),  $5,71 \pm 0,01$  (0,4 g/kg),  $5,68$  (0,6 g/kg) und  $5,64 \pm 0,03$  (0,8 g/kg) an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus eine Reduzierung der pH-Werte bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,07$  (0,2 g/kg),  $\Delta 0,04$  (0,4 g/kg) und  $\Delta 0,05$  (0,6 bzw. 0,8 g/kg). Im Vergleich mit der Kontrollprobe ergeben sich in der Probe mit 0,2 g B-

LC 20/kg Hackfleisch am Lagerungstag 10 Reduzierungen um  $\Delta 0,24$  ( $p \leq 0,05$ ). In der Probe mit 0,4 g/kg Schutzkultur reduzierte sich der pH-Wert gegenüber der Kontrollprobe um  $\Delta 0,26$ , in der Probe mit ,6 g/kg um  $\Delta 0,29$  und in der Probe mit 0,8 g/kg Schutzkultur um  $\Delta 0,33$ . Zwischen der Kontrollprobe und den jeweiligen Proben mit Schutzkulturen konnten somit statistisch signifikante Differenzen bezüglich der pH-Werte festgestellt werden.

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) betragen die mittleren pH-Werte am Herstellungstag  $5,76 \pm 0,07$  (0,2 g/kg),  $5,73 \pm 0,02$  (0,4 g/kg),  $5,70 \pm 0,02$  (0,6 g/kg) und  $5,58 \pm 0,01$  (0,8 g/kg). Auch bei diesen Proben fielen die pH-Werte bis zum 5. Tag der Lagerung weiter ab und stiegen bis zum Ende der Lagerung wieder auf Werte von  $5,63 \pm 0,05$  (0,2 g/kg),  $5,60 \pm 0,02$  (0,4 g/kg),  $5,59 \pm 0,02$  (0,6 g/kg) und  $5,53 \pm 0,04$  (0,8 g/kg) an. Im Vergleich zum Herstellungstag ergibt sich daraus eine Reduzierung der pH-Werte bis zum Lagerungstag 10 um die Differenz von  $\Delta 0,13$  (0,2 und 0,4 g/kg),  $\Delta 0,11$  (0,6 g/kg) und  $\Delta 0,05$  (0,8 g/kg). Im Vergleich mit der Kontrollprobe ergeben sich in der Probe mit 0,2 g B-SF 43/kg Hackfleisch am Lagerungstag 10 Reduzierungen um  $\Delta 0,34$  ( $p \leq 0,05$ ). In der Probe mit 0,4 g/kg Schutzkultur reduzierte sich der pH-Wert gegenüber der Kontrollprobe um  $\Delta 0,37$ , in der Probe mit 0,6 g/kg um  $\Delta 0,38$  und in der Probe mit 0,8 g/kg Schutzkultur um  $\Delta 0,44$ . Zwischen der Kontrollprobe und den jeweiligen Proben mit Schutzkulturen konnten somit statistisch signifikante Differenzen bezüglich der pH-Werte festgestellt werden.

### 4.3.5 Sensorische Untersuchungsergebnisse des VVS 3

#### 4.3.5.1 Ergebnisse der deskriptiven In/Out-Tests

In den Abbildung 14 – 19 sind die sensorischen Untersuchungsergebnisse des deskriptiven In/Out Tests der Hackfleischproben des Vorversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse sind die Antwortmöglichkeiten der Prüfer angegeben, die y-Achse stellt die Häufigkeit der Prüferantworten (%) dar ( $n = 8$ ). Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 34 im Tabellenanhang zu entnehmen.

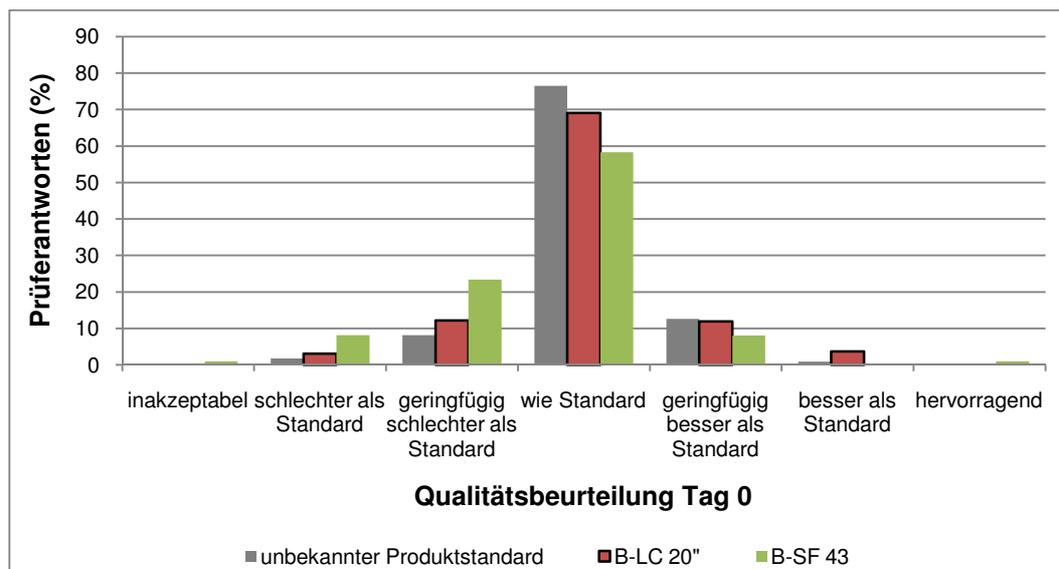


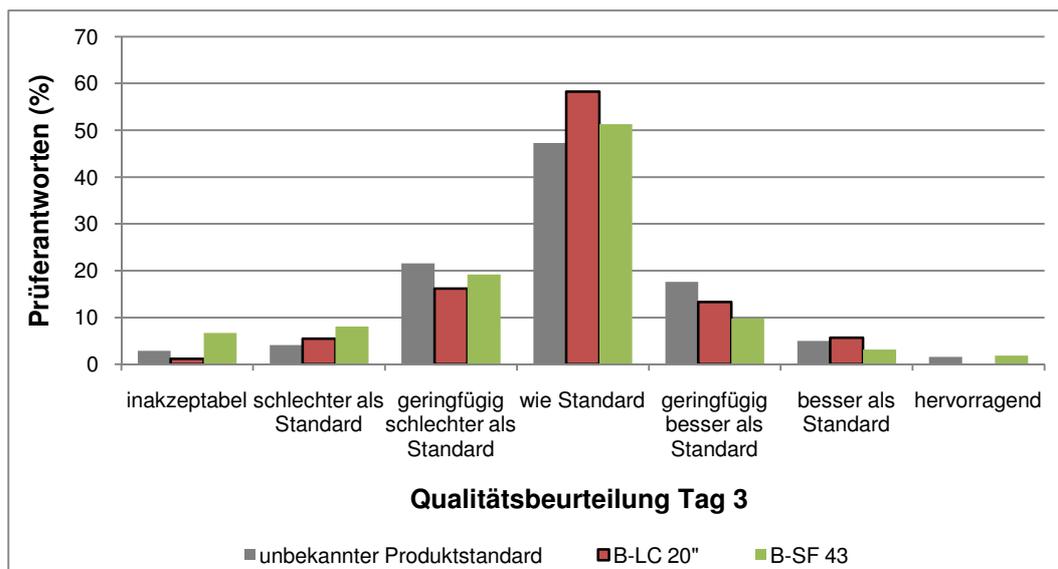
Abbildung 14: VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests an Tag 0 ( $n = 3$ )

In Abbildung 14 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten am Herstellungstag dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der mit B-LC-20 beimpften Proben, im Vergleich zur bekannten Hackfleischprobe (Produktstandard),

zeigen, dass am Herstellungstag 69,05 % der Prüfer keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede zwischen den untersuchten Proben registrierten. 12,20 % der Prüfer befanden die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 geringfügig besser, und 3,72 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 besser als den vorgegebenen Produktstandard. Verglichen mit dem Produktstandard bewerteten 12,20 % der Prüfer die Proben als geringfügig schlechter, 3,13 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20, verglichen mit dem Produktstandard, als schlechter.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-SF-43 beimpften Proben wiesen eine Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 58,29 % auf. Die angrenzenden Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 23,42 % und 8,08 %. Schlechter als den vorgegebenen Produktstandard befanden 8,21 % der Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 und als inakzeptabel, bzw. hervorragend befanden die Proben jeweils 1 % der Prüfer.

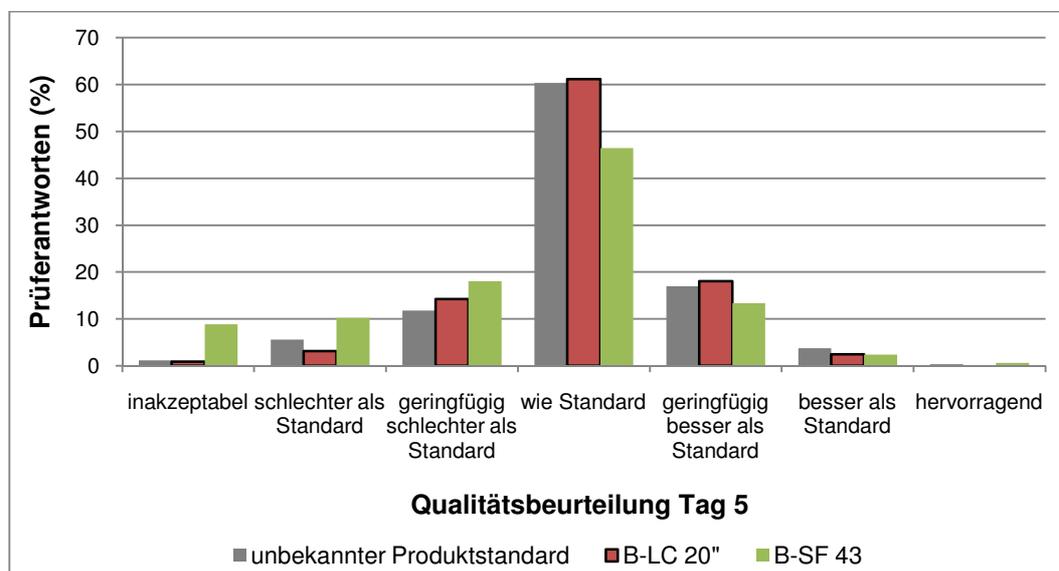
Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung des unbekanntes Produktstandards ergab eine durchschnittliche Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 76,49 %. Die Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 8,18 % bzw. 12,65 % der Prüfbeurteilungen. 1,79 % bzw. 0,89 % der Prüfer bewerteten den unbekanntes Produktstandard schlechter bzw. besser als den vorgegebenen Produktstandard.



**Abbildung 15: VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 3 (n = 3)**

In Abbildung 15 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten am Lagerungstag 3 dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der mit B-LC-20 beimpften Proben, im Vergleich zur bekannten Hackfleischprobe (Produktstandard), zeigen, dass am Herstellungstag 58,23 % der Prüfer keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede zwischen den untersuchten Proben registrierten. 13,29 % der Prüfer befanden die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 geringfügig besser, und 5,65 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 besser als den vorgegebenen Produktstandard. Verglichen mit dem Produktstandard bewerteten 16,17 % der Prüfer die Proben als geringfügig schlechter, 5,46 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20, verglichen mit dem Produktstandard, als schlechter. Als inakzeptabel bewerteten die Proben 1,19 % der Prüfer.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-SF-43 beimpften Proben wiesen eine Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 51,31 % auf. Die angrenzenden Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 19,19 % und 9,74 %. Schlechter bzw. besser als den vorgegebenen Produktstandard befanden 8,10 % bzw. 3,13 % der Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 und als inakzeptabel, bzw. hervorragend befanden die Proben 6,67 % bzw. 1 % der Prüfer. Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung des unbekanntes Produktstandards ergab eine durchschnittliche Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 47,25 %. Die Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 21,56 % bzw. 17,61 % der Prüfbeurteilungen. 2,91 % bzw. 5,00 % der Prüfer bewerteten den unbekanntes Produktstandard schlechter bzw. besser, als den vorgegebenen Produktstandard. Als inakzeptabel bzw. hervorragend bewerteten 2,91 % bzw. 1,57 % der Prüfer den unbekanntes Produktstandard.



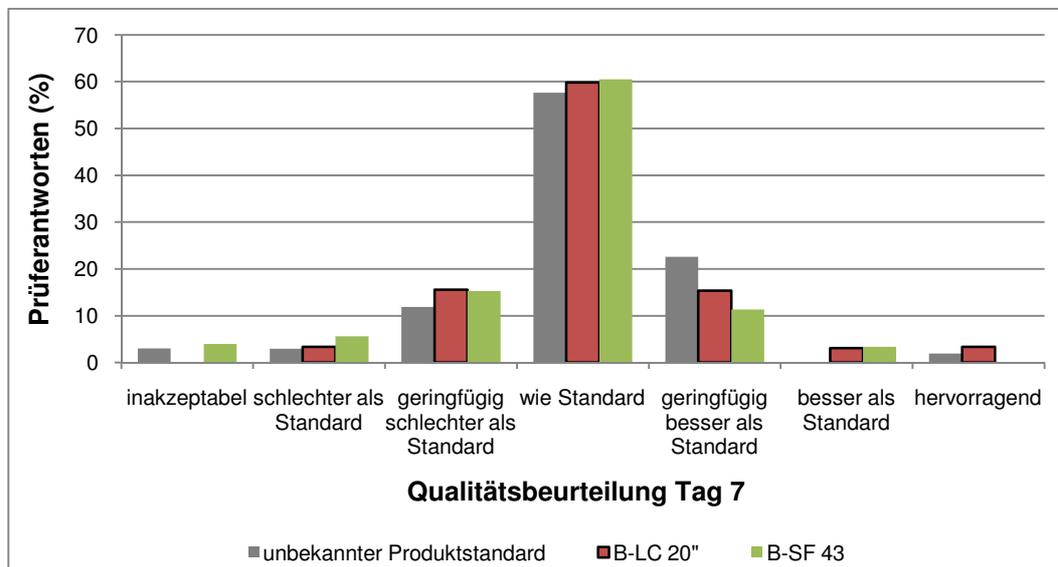
**Abbildung 16: Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 5 (n = 3)**

In Abbildung 16 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten am Lagerungstag 5 dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der mit B-LC-20 beimpften Proben, im Vergleich zur bekannten Hackfleischprobe (Produktstandard), zeigen, dass am Herstellungstag 61,14 % der Prüfer keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede zwischen den untersuchten Proben registrierten. 18,02 % der Prüfer befanden die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 geringfügig besser, und 2,46 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 besser, als den vorgegebenen Produktstandard. Verglichen mit dem Produktstandard bewerteten 14,26 % der Prüfer die Proben als geringfügig schlechter, 3,18 % der Prüfer bewerteten die Proben schlechter als den Produktstandard. 0,93 % der Prüfer bewerteten die Proben als inakzeptabel.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-SF-43 beimpften Proben wiesen eine Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 46,44 % auf. Die angrenzenden Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 18,07 % und 13,35 %. Schlechter bzw. besser als den vorgegebenen Produktstandard befanden 10,24 % bzw. 2,41 % der Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 und als inakzeptabel, bzw. hervorragend befanden die Proben 8,85 % bzw. 0,63 % der Prüfer.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung des unbekanntes Produktstandards ergab eine durchschnittliche Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 60,32 %. Die

Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 11,80 % bzw. 16,95 % der Prüfbeurteilungen. 5,62 % bzw. 3,80 % der Prüfer bewerteten den unbekanntem Produktstandard schlechter bzw. besser, als den vorgegebenen Produktstandard. Als inakzeptabel bzw. hervorragend bewerteten 1,19 % bzw. 0,33 % der Prüfer den unbekanntem Produktstandard.

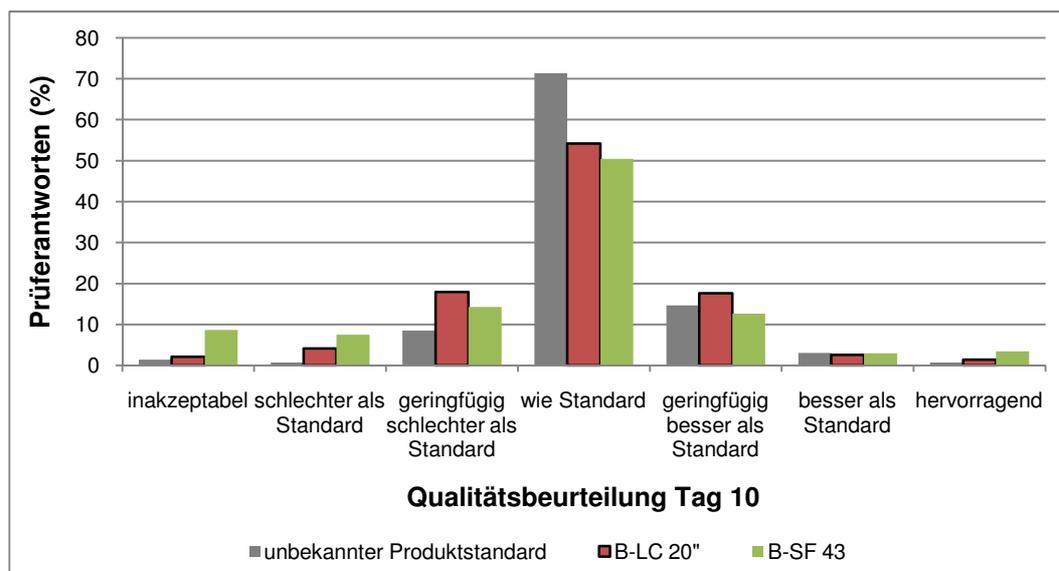


**Abbildung 17: VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 7 (n = 3)**

In Abbildung 17 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten am Lagerungstag 7 dargestellt. 59,84 % der Prüfer registrierten zwischen dem Produktstandard und den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede. 15,38 % der Prüfer befanden die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 geringfügig besser, und 3,07 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 besser, als den vorgegebenen Produktstandard. Verglichen mit dem Produktstandard bewerteten 15,57 % der Prüfer die Proben als geringfügig schlechter, 3,39 % der Prüfer bewerteten die Proben schlechter als den Produktstandard. 3,34 % der Prüfer bewerteten die Proben als hervorragend, als inakzeptabel befand die Hackfleischproben keiner der Prüfer.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-SF-43 beimpften Proben wiesen eine Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 60,47 % auf. Die angrenzenden Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 15,30 % und 11,30 %. Schlechter bzw. besser als den vorgegebenen Produktstandard befanden 5,60 % bzw. 3,39 % der Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 und als inakzeptabel befanden die Proben 3,94 % der Prüfer.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung des unbekanntem Produktstandards ergab eine durchschnittliche Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 57,65 %. Die Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 11,86 % bzw. 22,57 % der Prüfbeurteilungen. 2,95 % der Prüfer bewerteten den unbekanntem Produktstandard schlechter als den vorgegebenen Produktstandard. Als inakzeptabel bzw. hervorragend bewerteten 3,03 % bzw. 1,94 % der Prüfer den unbekanntem Produktstandard.

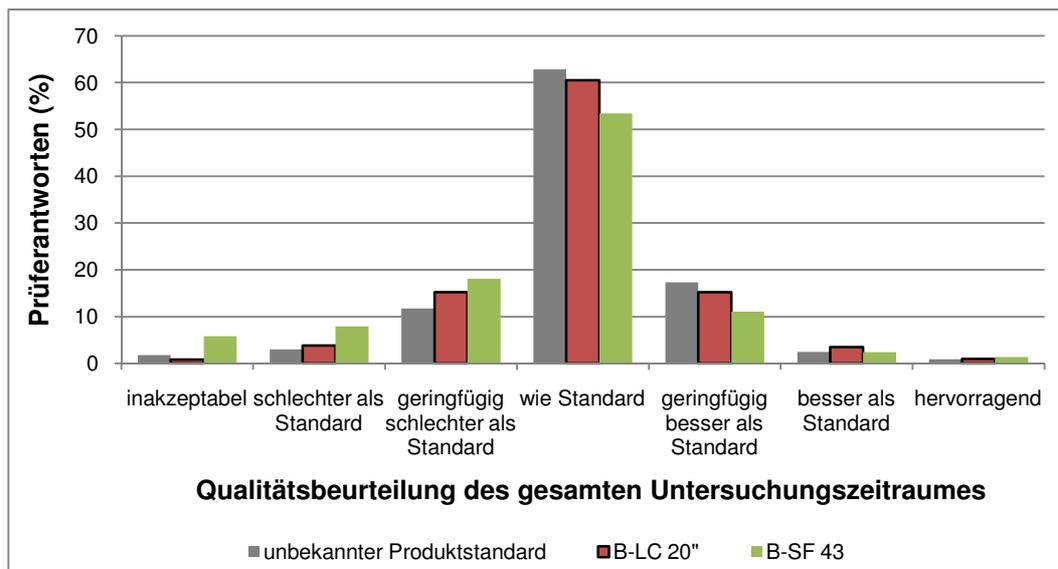


**Abbildung 18: VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 10 (n = 3)**

In Abbildung 18 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten am Lagerungstag 10 dargestellt. 54,21 % der Prüfer registrierten zwischen dem Produktstandard und den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede. 17,61 % der Prüfer befanden die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 geringfügig besser, und 2,62 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 besser, als den vorgegebenen Produktstandard. Verglichen mit dem Produktstandard bewerteten 17,94 % der Prüfer die Proben als geringfügig schlechter, 4,11 % der Prüfer bewerteten die Proben schlechter als den Produktstandard. 1,40 % der Prüfer bewerteten die Proben als hervorragend, als inakzeptabel befanden die Hackfleischproben 2,11 % der Prüfer.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-SF-43 beimpften Proben wiesen eine Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 50,43 % auf. Die angrenzenden Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 14,32 % und 12,66 %. Schlechter bzw. besser als den vorgegebenen Produktstandard befanden 7,48 % bzw. 2,99 % der Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 und als inakzeptabel bzw. hervorragend befanden die Proben 8,71 % bzw. 3,42 der Prüfer.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung des unbekanntes Produktstandards ergab eine durchschnittliche Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 71,31 %. Die Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 8,52 % bzw. 14,67 % der Prüfbeurteilungen. 0,69 % der Prüfer bewerteten den unbekanntes Produktstandard schlechter als den vorgegebenen Produktstandard und 3,05 % als besser. Als inakzeptabel bzw. hervorragend bewerteten 1,39 % bzw. 0,69 % der Prüfer den unbekanntes Produktstandard.



**Abbildung 19: VVS 3 Gesamtergebnis des deskriptiven In/Out-Tests des gesamten Untersuchungszeitraumes (n =3)**

In Abbildung 19 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten des gesamten Untersuchungszeitraumes dargestellt. Insgesamt bewerteten 60,50 % der Prüfer, dass zwischen den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 und dem vorgegebenen Produktstandard keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede erkennbar waren. 15,24 % der Prüfer befanden die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 insgesamt als geringfügig besser, und 3,50 % der Prüfer bewerteten die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 besser, als den vorgegebenen Produktstandard. 0,95 % der Prüfer bewerteten die Proben als hervorragend. Damit bewerteten 80,19 % aller Prüfer, dass die Hackfleischproben dem Standard entsprechen, oder besser sind. 15,23 % der Prüfer bewerteten die Proben als insgesamt geringfügig schlechter als den Standard, 3,85 % der Prüfer bewerteten die Proben schlechter als den Produktstandard und als inakzeptabel befanden die Hackfleischproben 0,85 % der Prüfer.

Die gemittelten Prüfbeurteilungen des gesamten Untersuchungszeitraumes der mit B-SF-43 beimpften Proben wiesen eine Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von 53,39 % auf. Die angrenzenden Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten insgesamt 18,06 % und 11,03 %. Schlechter bzw. besser als den vorgegebenen Produktstandard befanden im Mittel 7,93 % bzw. 2,39 % der Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 und als inakzeptabel bzw. hervorragend befanden die Proben über den Untersuchungszeitraum im Mittel 5,83 % bzw. 1,38 der Prüfer.

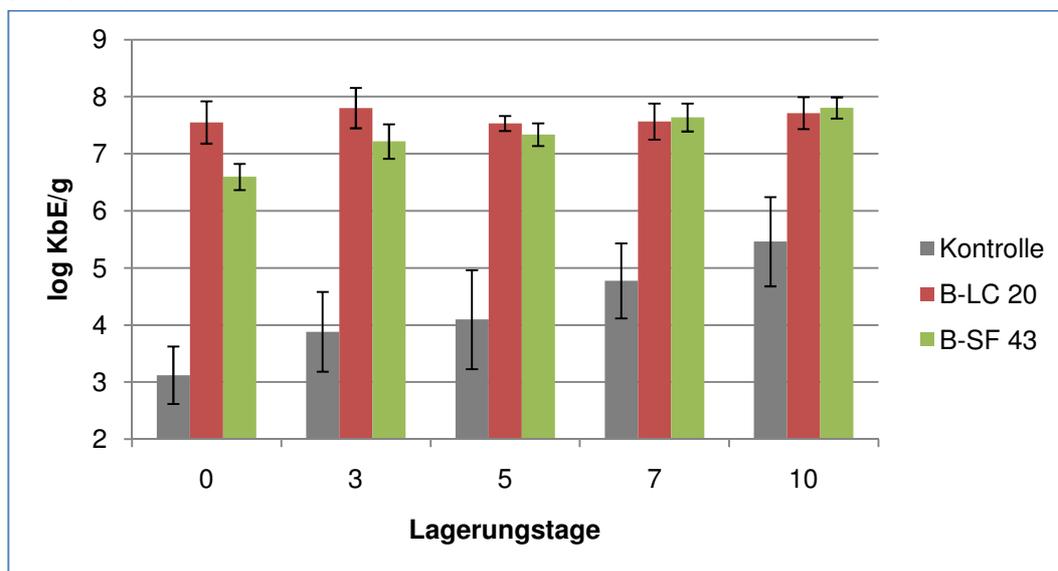
Die Auswertung der Gesamthäufigkeitsverteilung des unbekanntes Produktstandards über den Verlauf des Untersuchungszeitraumes ergab eine durchschnittliche Übereinstimmung mit dem bekannten Produktstandard von insgesamt 62,79 %. Die Kategorien „geringfügig schlechter als Standard“ und „geringfügig besser als Standard“ erzielten 11,76 % bzw. 17,33 % der gemittelten Prüfbeurteilungen. 3,05 % der Prüfer bewerteten den unbekanntes Produktstandard schlechter als den vorgegebenen Produktstandard und 2,45 % als besser. Als insgesamt inakzeptabel bzw. hervorragend bewerteten 1,77 % bzw. 0,94 % der Prüfer den unbekanntes Produktstandard.

## 4.4 Hauptversuche mit Hackfleisch aus Putenflügelfleisch

### 4.4.1 Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

#### 4.4.1.1 Nachweis von Milchsäurebakterien

In Abbildung 20 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an Milchsäurebakterien während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. In das Hackfleisch der Proben B-LC 20 und B-SF 43 wurden jeweils 0,25 g der entsprechenden Schutzkulturen eingebracht. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Milchsäurebakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf MRS-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 15 im Tabellenanhang zu entnehmen.

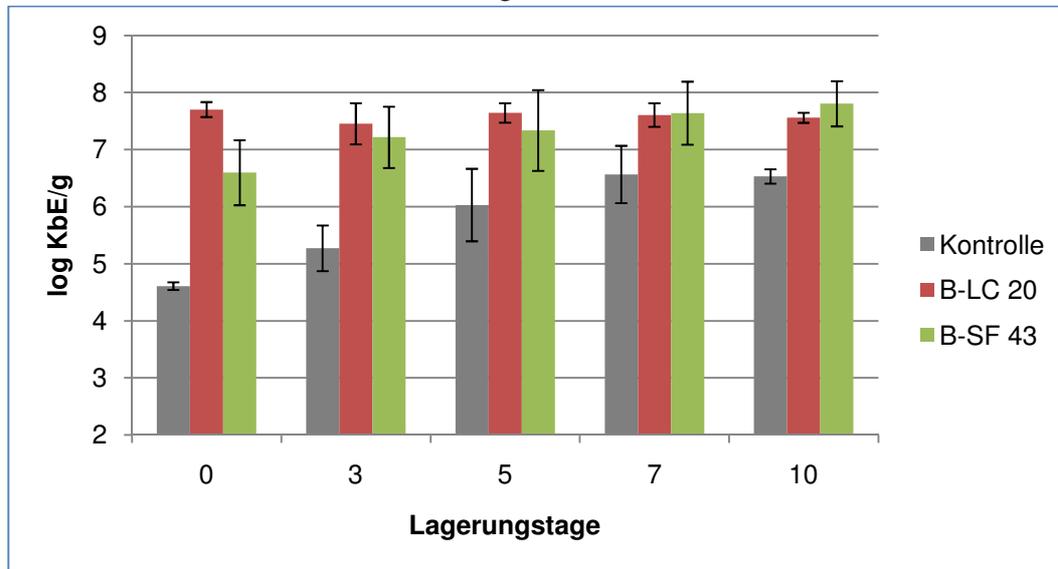


**Abbildung 20: HVS 1 Nachweis von Milchsäurebakterien (n = 5)**

Wie der Abbildung 20 zu entnehmen ist, bewirkt die Beimpfung der Hackfleischproben mit 0,25 g der jeweiligen Schutzkulturen pro kg Putenhackfleisch bereits am Herstellungstag eine statistisch signifikante Erhöhung der Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben. Im Vergleich zur Kontrollprobe ( $3,12 \pm 0,50$  log KbE/g) konnten in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 am Herstellungstag Keimzahlen von  $7,55 \pm 0,37$  bzw.  $6,60 \pm 0,23$  log KbE/g ermittelt werden. Während die Keimzahl der Milchsäurebakterien in den Kontrollproben über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bis auf Werte von  $5,46 \pm 0,78$  log KbE/g kontinuierlich anstieg, stagnierte die Keimzahl der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20. Am 10. Lagerungstag konnten in diesen Proben  $7,71 \pm 0,28$  log KbE/g Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 0,15$  log KbE/g. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Ende der Lagerungszeit Keimzahlen in Höhe von  $7,80 \pm 0,19$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht einer Erhöhung der Keimzahl an nachgewiesenen Milchsäurebakterien um  $\Delta 1,20$  log KbE/g. Zwischen der Kontrollprobe und den mit Schutzkulturen beimpften Proben konnten zu jedem Lagerungszeitpunkt statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen Milchsäurebakterien festgestellt werden.

#### 4.4.1.2 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (GKZ)

In Abbildung 40 wird der Verlauf der mittels Plattengussverfahren erhobenen aeroben mesophilen Gesamtkeimzahlen während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Gesamtbakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf PC-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 15 im Tabellenanhang zu entnehmen.



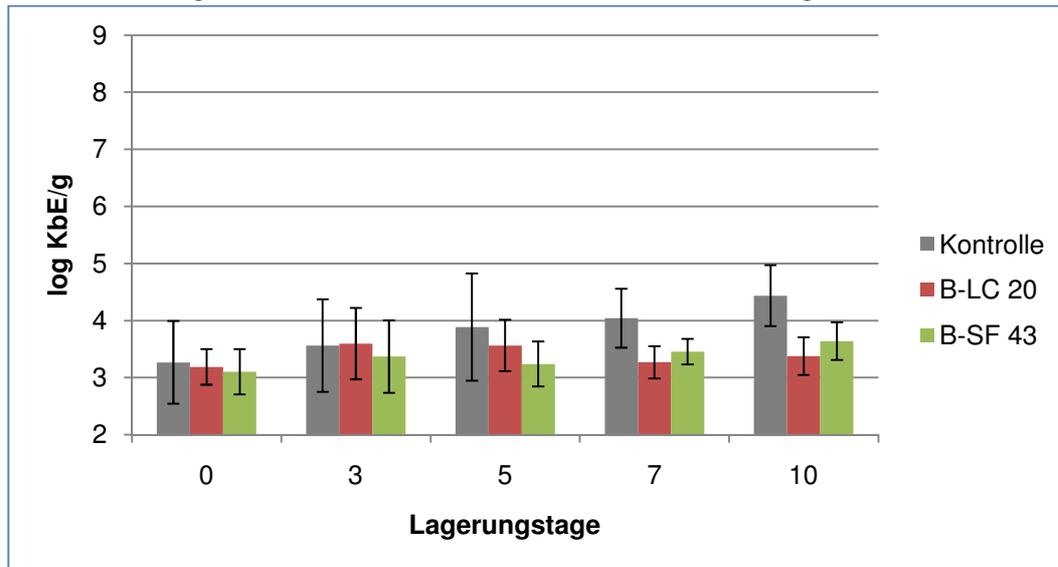
**Abbildung 21: HVS 1 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (n = 5)**

Wie der Abbildung 21 zu entnehmen ist, bewirkt die Beimpfung der Hackfleischproben mit den jeweiligen Schutzkulturen bereits am Herstellungstag eine statistisch signifikante Erhöhung der Gesamtkeimzahl in den Proben. Im Vergleich zur Kontrollprobe ( $4,61 \pm 0,07$  log KbE/g) konnten in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 am Herstellungstag Keimzahlen von  $7,70 \pm 0,13$  bzw.  $6,55 \pm 0,57$  log KbE/g ermittelt werden. Während die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl in den Kontrollproben über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bis auf Werte von  $6,53 \pm 0,13$  log KbE/g kontinuierlich anstieg, stagnierte die Keimzahl in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20. Am 10. Lagerungstag konnten in diesen Proben Keimzahlen von  $7,56 \pm 0,09$  log KbE/g nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 0,14$  log KbE/g. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Ende der Lagerungszeit Keimzahlen in Höhe von  $7,51 \pm 0,40$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 0,96$  log KbE/g. Zwischen der Kontrollprobe und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten zu jedem Lagerungszeitpunkt statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl festgestellt werden. Zwischen den Keimzahlen der Kontrollproben und der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten hingegen zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Differenzen ( $p \geq 0,05$ ) festgestellt werden.

#### 4.4.1.3 Nachweis von *Enterobacteriaceae*

In Abbildung 22 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von

nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf VRBD-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 15 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 22: HVS 1 Nachweis von *Enterobacteriaceae* (n = 5)**

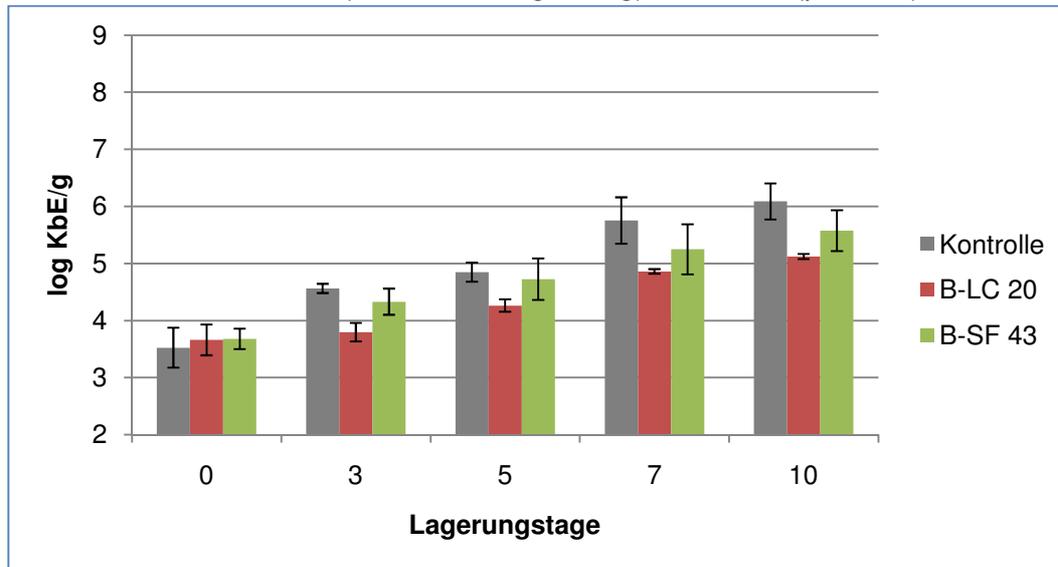
In Abbildung 22 ist zu erkennen, dass sich die Keimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung der Hackfleischproben von einem anfangs einheitlichen Niveau (Kontrolle:  $3,27 \pm 0,73$  log KbE/g; B-LC 20:  $3,19 \pm 0,31$  log KbE/g und B-SF 43:  $3,10 \pm 0,40$  log KbE/g) unterschiedlich entwickelt haben. Bereits nach 5 Tagen lassen sich deutliche Unterschiede der Keimzahlen in den verschiedenen Proben feststellen. Zwischen der Kontrollprobe und der Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 konnte an Tag 5 eine Differenz an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* von  $\Delta 0,33$  log KbE/g festgestellt werden. Zwischen der Kontrollprobe und der Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten an Tag 5 Differenzen von  $\Delta 0,65$  log KbE/g ermittelt werden. Nach 10-tägiger Kühllagerung bei  $+2$  °C konnten in den Kontrollproben durchschnittlich  $4,44 \pm 0,53$  log KbE/g *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden am 10. Tag der Lagerung Keimzahlen in Höhe von  $3,38 \pm 0,33$  log KbE/g bzw.  $3,64 \pm 0,33$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht Reduzierungen der Keimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* um 1,06 bzw. um 0,8 log KbE/g. Statistisch signifikante Unterschiede konnten jedoch zu keinem Untersuchungszeitpunkt festgestellt werden.

#### 4.4.1.4 Nachweis von *Pseudomonas* ssp.

In Abbildung 23 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp. während der 10-tägigen Lagerungszeit bei  $+2$  °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. (Mittelwert  $\pm$  SD) auf GSP-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 15 im Tabellenanhang zu entnehmen.

In Abbildung 23 ist ebenfalls zu erkennen, dass sich die Keimzahlen an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung der Hackfleischproben von einem anfangs relativ einheitlichen Niveau (Kontrolle:  $3,52 \pm 0,35$  log KbE/g; B-LC 20:  $3,66 \pm 0,27$  log KbE/g und B-SF 43:  $3,68 \pm 0,18$  log KbE/g) unterschiedlich entwickelt haben. Bereits nach 3 Tagen lassen sich statistisch signifikante Unterschiede zwischen den

Keimzahlen der Kontrollprobe ( $4,56 \pm 0,08 \log \text{KbE/g}$ ) und denen der Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-LC 20 ( $3,80 \pm 0,16 \log \text{KbE/g}$ ) feststellen ( $p \leq 0,05$ ).



**Abbildung 23: HVS 1 Nachweis von *Pseudomonas* ssp. (n = 5)**

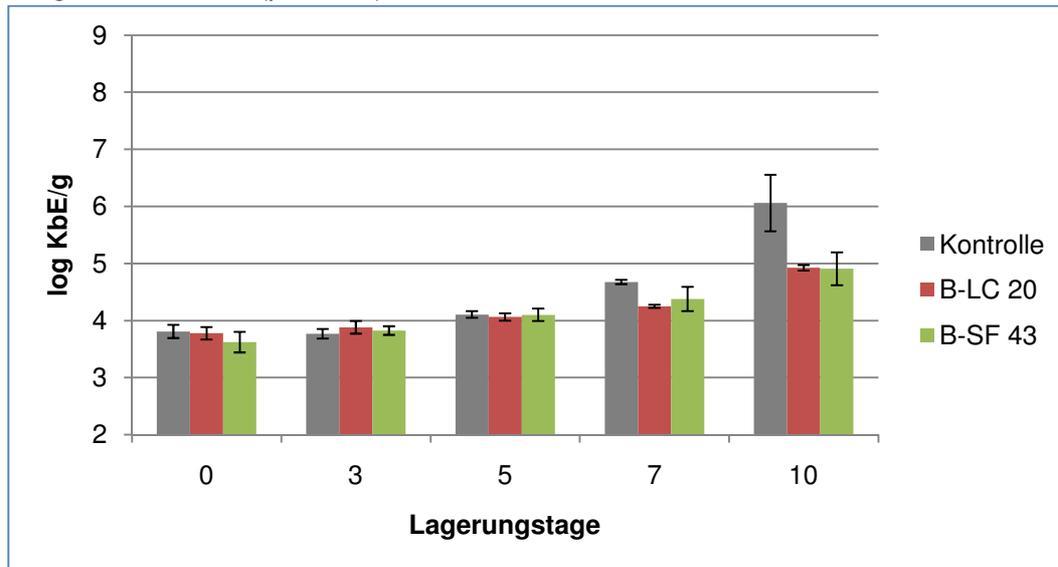
An Tag 5 konnte zwischen der Kontrollprobe und der Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 eine Differenz an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. von  $\Delta 0,59 \log \text{KbE/g}$  ( $p \leq 0,05$ ) festgestellt werden. Zwischen der Kontrollprobe und der Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten an Tag 5 Differenzen von  $\Delta 0,13 \log \text{KbE/g}$  ( $p \geq 0,05$ ) ermittelt werden. Nach 10-tägiger Kühllagerung bei  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  konnten in den Kontrollproben durchschnittlich  $6,09 \pm 0,32 \log \text{KbE/g}$  *Pseudomonas* ssp. nachgewiesen werden. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden am 10. Tag der Lagerung Keimzahlen in Höhe von  $5,12 \pm 0,05 \log \text{KbE/g}$  bzw.  $5,58 \pm 0,36 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen. Dies entspricht gegenüber den Kontrollproben Reduzierungen der Keimzahlen an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. um  $0,97 \log \text{KbE/g}$  ( $p \leq 0,05$ ) bzw. um  $0,51 \log \text{KbE/g}$ .

#### 4.4.1.5 Nachweis von *Brochotrix thermosphacta*

In Abbildung 24 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* während der 10-tägigen Lagerungszeit bei  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf SIN-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 15 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Abbildung 24 ist zu entnehmen, dass die Entwicklung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* aller untersuchten Hackfleischproben in den ersten 5 Tagen der 10-tägigen Kühllagerung einen relativ einheitlichen Verlauf aufweist. Die initialen Keimzahlen der Kontrollproben liegen bei Werten von  $3,81 \pm 0,12 \log \text{KbE/g}$ . Die Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 und B-SF 43 liegen am Herstellungstag bei  $3,78 \pm 0,11 \log \text{KbE/g}$  bzw.  $3,62 \pm 0,18 \log \text{KbE/g}$ . Nach 5 Lagerungstagen bei  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  konnten in den Kontrollproben durchschnittliche Keimzahlen von  $4,10 \pm 0,06$  und in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 durchschnittliche Keimzahlen von  $4,06 \pm 0,07$  bzw.  $4,10 \pm 0,11 \log \text{KbE/g}$  nachgewiesen werden. An Tag 7 der Lagerung konnten bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen zwischen den Kontrollproben ( $4,68 \pm 0,04 \log \text{KbE/g}$ ) und den Proben mit den jeweiligen

Schutzkulturen ( $4,25 \pm 0,03$  bzw.  $4,38 \pm 0,21$  log KbE/g) statistisch signifikante Differenzen festgestellt werden ( $p \leq 0,05$ ).



**Abbildung 24: HVS 1 Nachweis von *Brochotrix thermosphacta* (n = 5)**

Nach 10-tägiger Kühllagerung bei +2 °C konnten in den Kontrollproben durchschnittlich  $6,06 \pm 0,49$  log KbE/g *Brochotrix thermosphacta* nachgewiesen werden. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden am 10. Tag der Lagerung Keimzahlen in Höhe von  $4,92 \pm 0,05$  log KbE/g bzw.  $4,91 \pm 0,29$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht gegenüber den Kontrollproben Reduzierungen der Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* um  $1,14$  log KbE/g bzw. um  $1,15$  log KbE/g ( $p \geq 0,05$ ).

## 4.4.2 Physikalische Untersuchungsergebnisse

### 4.4.2.1 Ergebnisse der $a_w$ -Wertmessungen

In Abbildung 25 wird der Verlauf der pH-Werte der Hackfleischproben des 1. Hauptversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den gemessenen  $a_w$ -Wert (Mittelwert  $\pm$  SD) der Proben dar.

An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die  $a_w$ -Werte der Hackfleischproben mit den jeweiligen Konzentrationen der Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) sowie die  $a_w$ -Werte der unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich ihrer Entwicklung über den Verlauf der Lagerung untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 26 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Wie in der Abbildung 25 zu erkennen ist, bewirkt die Beimpfung des Hackfleisches mit den jeweiligen Schutzkulturen keine statistisch signifikanten Differenzen ( $p \geq 0,05$ ) zwischen den einzelnen Proben. Der  $a_w$ -Wert am Herstellungstag betrug in den Kontrollproben und den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 jeweils  $0,99 \pm 0,004$ . In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 wurden am Herstellungstag gemittelte  $a_w$ -Werte von  $0,98 \pm 0,005$  gemessen. Im Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung der Proben bei +2 °C sanken die Werte in allen untersuchten Proben bis zum 5. Lagerungstag leicht ab und stiegen bis zum Ende der Lagerung auf gemittelte Werte von  $0,99 \pm 0,004$  bzw.  $0,005$  (Kontrolle bzw. B-LC 20) und  $0,98 \pm 0,005$  (B-SF 43).

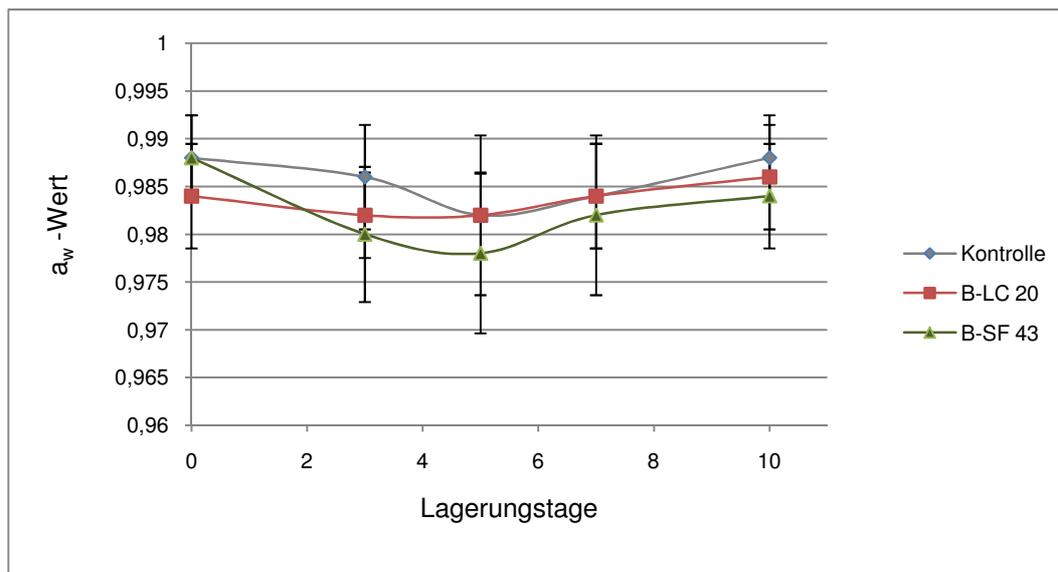


Abbildung 25: Ergebnisse der  $a_w$ -Wertmessungen in HVS 1

#### 4.4.2.2 Ergebnisse der pH-Wertmessungen

In Abbildung 26 wird der Verlauf der pH-Werte der Hackfleischproben des 1. Hauptversuches während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den gemessenen pH-Wert (Mittelwert  $\pm$  SD) der Proben dar. An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die pH-Werte der Hackfleischproben mit den jeweiligen Konzentrationen der Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoform<sup>TM</sup> (B-SF 43) sowie die pH-Werte der unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich ihrer Entwicklung über den Verlauf der Lagerung untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 26 im Tabellenanhang zu entnehmen.

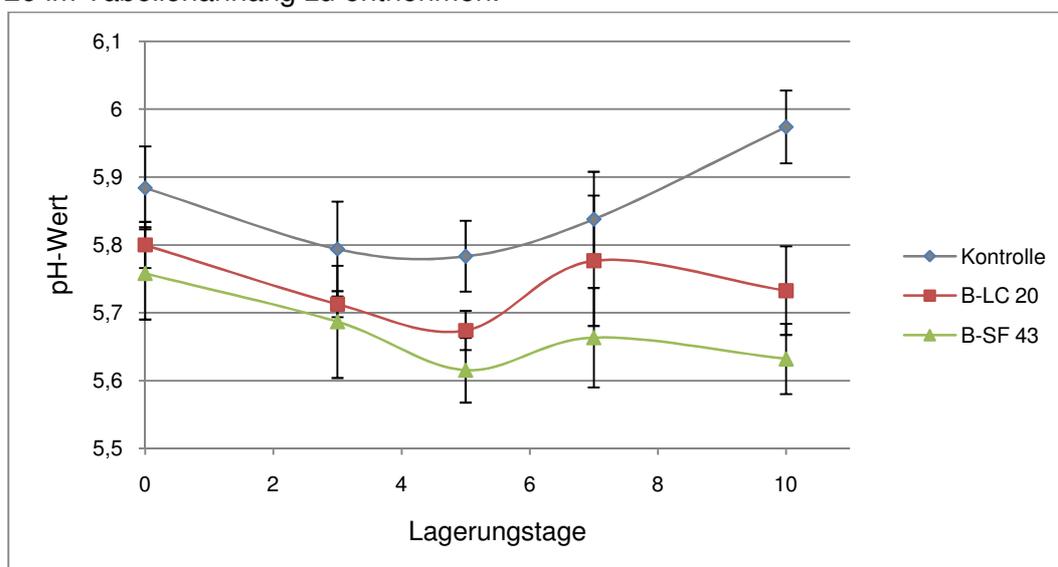


Abbildung 26: Ergebnisse der pH-Wertmessungen in HVS 1

In Abbildung 26 ist zu erkennen, dass der pH-Wert der Kontrollproben, verglichen mit den Proben, welche die jeweiligen Schutzkulturen enthalten, einen abweichenden Verlauf nimmt. Bereits am Herstellungstag ( $5,88 \pm 0,06$ ) können hier Differenzen zu den Proben mit B-LC 20 ( $5,80 \pm 0,03$ ) und den Proben mit B-SF 43 ( $5,76 \pm 0,07$ ) festgestellt werden. Bis zum 5.

Lagerungstag sinken in allen untersuchten Hackfleischproben die pH-Werte kontinuierlich ab und erreichen gemittelte Werte von  $5,78 \pm 0,07$  (Kontrolle) bzw.  $5,67 \pm 0,03$  (B-LC 20) und  $5,62 \pm 0,05$  (B-SF 43). Bis zum 10. Tag der Lagerung steigen die pH-Werte in den Kontrollproben wieder auf gemittelte Werte von  $5,97 \pm 0,05$  an und liegen damit um  $\Delta 0,09$  über dem initialen pH-Wert. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 und B-SF 43 steigen die pH-Werte bis zum 7. Tag der Lagerung auf gemittelte Werte von  $5,78 \pm 0,10$  bzw.  $5,66 \pm 0,07$ . Bis zum 10. Tag der Lagerung reduzieren sich diese pH-Werte wieder um  $0,05$  bzw.  $0,03$  auf finale pH-Werte von  $5,73 \pm 0,07$  in den Proben mit B-LC 20, bzw. auf  $5,63 \pm 0,05$  in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 reduzierte sich der pH-Wert über den Verlauf der Lagerung um  $\Delta 0,07$ . In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 reduzierte sich der pH-Wert insgesamt um  $\Delta 0,13$ . Am 10. Lagerungstag ergeben sich bezüglich der ermittelten Werte somit statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Werten der Kontrollproben und den pH-Werten der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 ( $\Delta 0,24$ ) bzw. denn Werten der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 ( $\Delta 0,34$ ).

### 4.4.3 Sensorische Untersuchungsergebnisse

#### 4.4.3.1 Ergebnisse des In/Out-Tests

In den Abbildung 27–32 sind die sensorischen Untersuchungsergebnisse des In/Out Tests der Hackfleischproben des 1. Hauptversuches (HVS 1) während der 10-tägigen Lagerungszeit bei  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  dargestellt. Auf der x-Achse sind die Antwortmöglichkeiten der Prüfer angegeben, die y-Achse stellt die Häufigkeit der Prüferantworten (%)  $\pm$  Standardabweichung ( $\pm$  SD) dar ( $n = 10$ ). Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 33 im Tabellenanhang zu entnehmen.

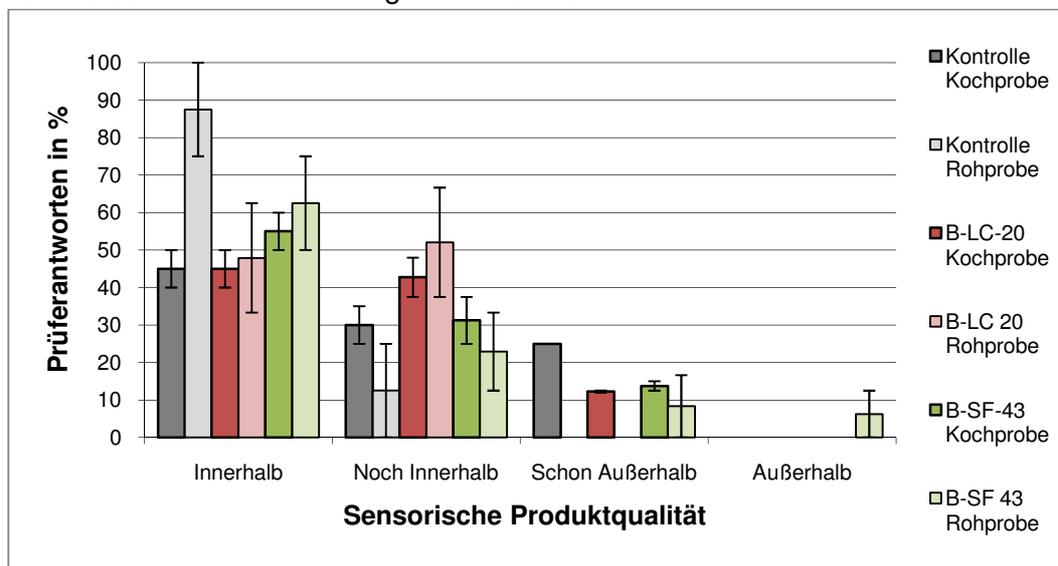
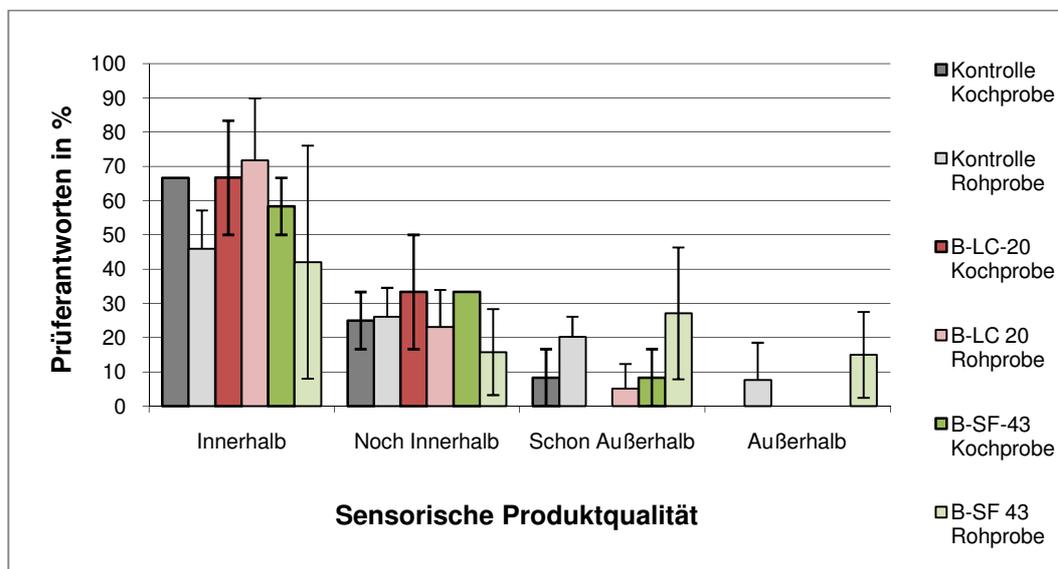


Abbildung 27: HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 0 ( $n = 3$ )

In Abbildung 27 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der sensorischen Produktqualität am Herstellungstag dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich des gekochten Produktstandards zeigt, dass insgesamt 75,00 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben, davon befanden 45,00 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben als „innerhalb des Standards“ und 30,00 % befanden die Kochproben als „noch innerhalb des Standards“. 25,00 % der Prüfer gaben an, dass die

Qualität der Kochproben schon außerhalb der Produktspezifikation („schon außerhalb des Standards“) liegt. Als „außerhalb des Standards“ bewertete kein Prüfer die gekochten Hackfleischproben am Herstellungstag. Die rohen Hackfleischproben bewerteten insgesamt 100 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 87,50 % der Nennungen auf die Kategorie „innerhalb des Standards“ fallen und 12,50 % auf die Kategorie „noch innerhalb des Standards“.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung der gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 ergab, dass insgesamt 86,25 % der Prüfer die Qualität der gekochten Hackfleischproben am Herstellungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben. Die Nennungen der Prüfer verteilen sich auf 55,00 % „innerhalb des Standards“ und 31,25 % „noch innerhalb des Standards“. Die rohen Hackfleischproben bewerteten 62,50 % der Prüfer mit „innerhalb des Standards“ und 22,92 % der Prüfer mit „noch innerhalb des Standards“. 13,75 % der Prüfer gaben an, dass sich die Qualität der Kochproben schon außerhalb der Produktspezifikation („schon außerhalb des Standards“) befindet, bezüglich der rohen Proben gaben dies 8,33 % aller Prüfer an. Als „außerhalb des Standards“ bewerteten die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 6,25 % der Prüfer.

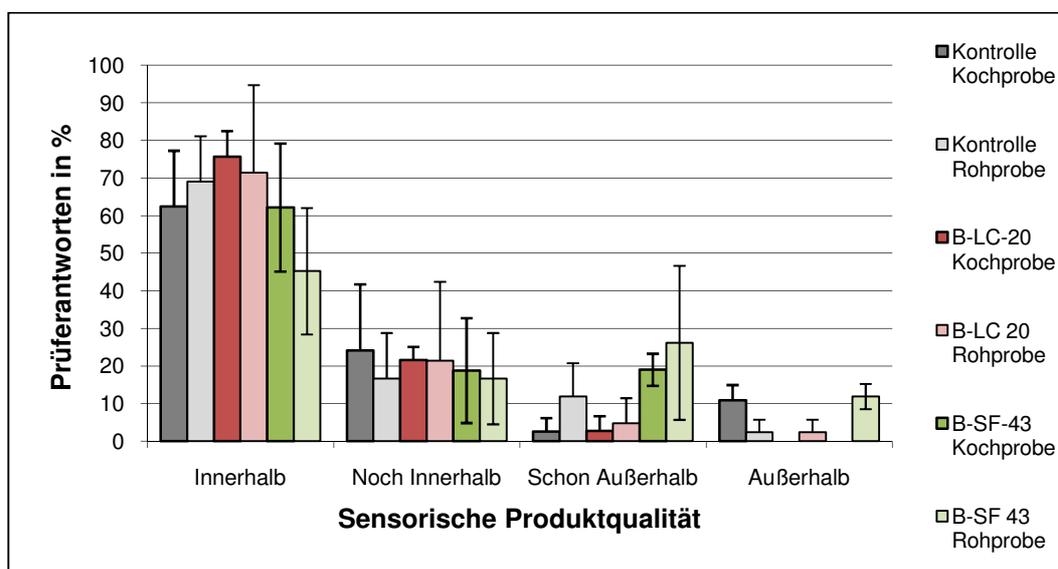


**Abbildung 28: HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 3 (n = 3)**

In Abbildung 28 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der sensorischen Produktqualität am Lagerungstag 3 dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich des Produktstandards zeigt, dass insgesamt 91,66 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben, davon befanden 66,66 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben als „innerhalb des Standards“ und 25,00 % befanden die Kochproben als „noch innerhalb Standards“. 8,33 % der Prüfer gaben an, dass die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ liegt. Als „außerhalb des Standards“ bewertete kein Prüfer die gekochten Hackfleischproben am Lagerungstag 3. Die rohen Hackfleischproben bewerteten insgesamt 72,05 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 45,95 % der Nennungen auf die Kategorie „innerhalb des Standards“ fallen und 26,10 % auf die Kategorie „noch innerhalb des Standards“. Als „schon außerhalb des Standards“ bewerteten 20,18 % der Prüfer die rohen Hackfleischproben. „Außerhalb des Standards“ befanden die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 am 3. Lagerungstag 7,67 % aller Prüfer.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-LC 20 beimpften Proben zeigen, dass 66,67 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten und 71,71 % aller Prüfer die sensorische Qualität der rohen Hackfleischprobe als der Produktspezifikation entsprechend bewertet („innerhalb des Standards“) haben. Im Vergleich mit der Bewertung des rohen Produktstandards ergibt sich eine statistisch signifikante Differenz ( $p \leq 0,05$ ) zur Prüferbewertung für die rohe Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-LC 20. Die sensorische Produktqualität der gekochten Hackfleischproben befanden 33,33 % der Prüfer „noch innerhalb des Standards“, bezüglich der rohen Probe gaben dies 23,11 % der Prüfer an. Damit befanden die Qualität des gekochten Hackfleisches am Lagerungstag 3 alle Prüfer (100 %) der Produktspezifikation entsprechend und 94,82 % aller Prüfer gaben dies bezüglich der rohen Hackfleischprobe an. 5,10 % der Prüfer bewerteten die rohe Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-LC 20 mit „schon außerhalb des Standards“.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung der gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 ergab, dass 58,33 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe und 42,06 % die sensorische Qualität der rohen Hackfleischprobe als der Produktspezifikation entsprechend bewertet („innerhalb des Standards“) haben. 33,33 % der Prüfer befanden, dass die sensorische Produktqualität der gekochten Hackfleischproben „noch innerhalb des Standards“ liegt. Bezüglich der rohen Hackfleischprobe gaben dies 15,79 % der Prüfer an. 8,33 % der Prüfer gaben an, dass sich die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ befindet. Bezüglich der rohen Hackfleischproben gaben dies 27,08 % aller Prüfer an. Als „außerhalb des Standards“ bewerteten die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 14,99 % der Prüfer.



**Abbildung 29: HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 5 (n = 3)**

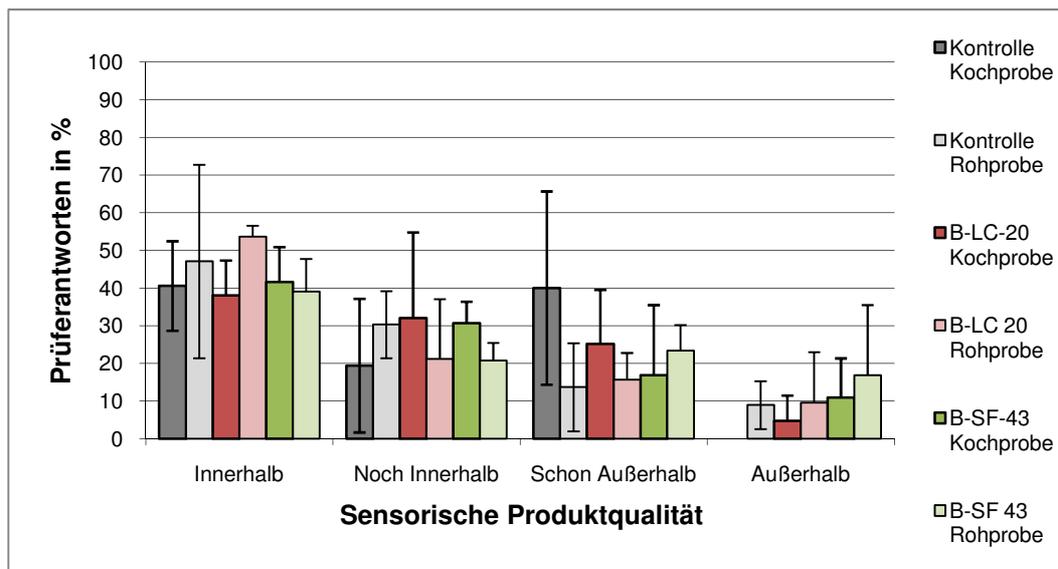
In Abbildung 29 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der sensorischen Produktqualität an Tag 5 der Lagerung dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich des gekochten Produktstandards zeigt, dass insgesamt 86,53 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischproben als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben, davon befanden 62,39 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben als „innerhalb des Standards“ und 24,14 % befanden die Kochproben als „noch innerhalb des Standards“. 2,56 % der Prüfer gaben an, dass die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ liegt. Als „außerhalb des Standards“ bewerteten 10,89 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben am 5.

Lagerungstag. Die rohen Hackfleischproben bewerteten insgesamt 85,70 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 69,04 % der Nennungen auf die Kategorie „innerhalb des Standards“ fallen und 16,66 % auf die Kategorie „noch innerhalb des Standards“.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-LC 20 beimpften Proben zeigen, dass 75,64 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischproben als „innerhalb des Standards“ bewertet haben. 21,58 % der Prüfer befanden, dass die sensorische Produktqualität der gekochten Hackfleischproben „noch innerhalb des Standards“ liegt. Damit haben 97,22 % der Prüfer die Produktqualität des gekochten Hackfleisches am Herstellungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet. Die rohen Hackfleischproben bewerteten insgesamt 92,85 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 71,42 % der Nennungen auf „innerhalb des Standards“ fielen und 21,43 % auf „noch innerhalb des Standards“. 2,78 % der Prüfer gaben an, dass sich die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ befindet, für die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 gaben dies 4,76 % der Prüfer an. Als „außerhalb des Standards“ bewerteten am 5. Lagerungstag 2,38 % der Prüfer die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung der gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 ergab, dass insgesamt 80,97 % der Prüfer die Qualität der gekochten Hackfleischproben am 5. Lagerungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben. Die Nennungen der Prüfer verteilen sich auf 62,17 % „innerhalb des Standards“ und 18,80 % „noch innerhalb des Standards“. 19,01 % der Prüfer gaben an, dass sich die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ befindet. Im Vergleich mit dem gekochten Produktstandard ergibt sich aus der Differenz der Nennungen eine statistische Signifikanz ( $p \leq 0,05$ ). Als „außerhalb des Standards“ bewertete kein Prüfer die gekochten Hackfleischproben am Herstellungstag. Die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 bewerteten am 5. Untersuchungstag insgesamt 61,89 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 45,23 % der Nennungen in der Kategorie „innerhalb des Standards“ angegeben waren. 26,19 % der Prüfer befanden die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 am Lagerungstag 5 als „schon außerhalb des Standards“ und 11,90 % der Prüfer befanden die Proben als „außerhalb des Standards“.

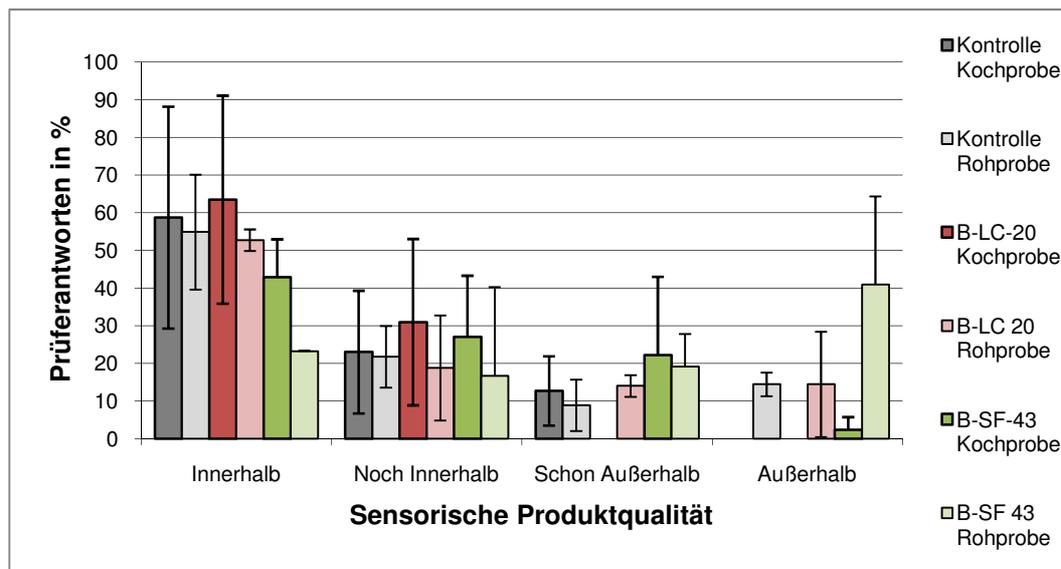
In Abbildung 30 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der sensorischen Produktqualität an Tag 7 der Lagerung dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich des gekochten Produktstandards zeigt, dass nur insgesamt 59,97 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben, davon befanden 40,56 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben als „innerhalb des Standards“ und 19,41 % befanden die Kochproben als „noch innerhalb Standards“. 40,01 % der Prüfer gaben an, dass die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ liegt. Die rohen Hackfleischproben bewerteten dagegen insgesamt 77,38 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 47,07 % der Nennungen auf die Kategorie „innerhalb des Standards“ fallen und 30,31 % auf die Kategorie „noch innerhalb des Standards“. 13,69 % der Prüfer befanden die rohen Hackfleischproben als „schon außerhalb des Standards“ und 8,93 % der Prüfer befanden die Proben am 7. Lagerungstag als „außerhalb des Standards“.



**Abbildung 30: HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 7 (n = 3)**

Die Prüfbeurteilungen der mit B-LC 20 beimpften Proben zeigen, dass 38,00 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe „innerhalb des Standards“ bewertet haben. 32,05 % der Prüfer befanden, dass die sensorische Produktqualität der gekochten Hackfleischproben „noch innerhalb des Standards“ liegt. Damit haben 54,77 % der Prüfer die Produktqualität des gekochten Hackfleisches am Herstellungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet. Die rohen Hackfleischproben bewerteten insgesamt 74,81 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 53,66 % der Nennungen auf „innerhalb des Standards“ fielen und 21,15 % auf „noch innerhalb des Standards“. 25,18 % der Prüfer gaben an, dass sich die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ befindet, für die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 gaben dies 15,66 % der Prüfer an. Als „außerhalb des Standards“ bewerteten am 7. Lagerungstag 9,52 % der Prüfer die rohen und 4,76 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung der gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 ergab, dass insgesamt 72,25 % der Prüfer die Qualität der gekochten Hackfleischproben am 7. Lagerungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben. Die Nennungen der Prüfer verteilen sich auf 41,57 % „innerhalb des Standards“ und 30,68 % „noch innerhalb des Standards“. 16,85 % der Prüfer gaben an, dass sich die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ befindet und 10,90 % der Prüfer befanden die gekochten Hackfleischproben am 7. Lagerungstag als („außerhalb des Standards“). Die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 bewerteten am 7. Untersuchungstag insgesamt nur 59,79 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 39,01 % der Nennungen in der Kategorie „innerhalb des Standards“ angegeben waren. 23,35 % der Prüfer befanden die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 am Lagerungstag 7 als „schon außerhalb des Standards“ und 16,85 % der Prüfer bewerteten die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 mit „außerhalb des Standards“.



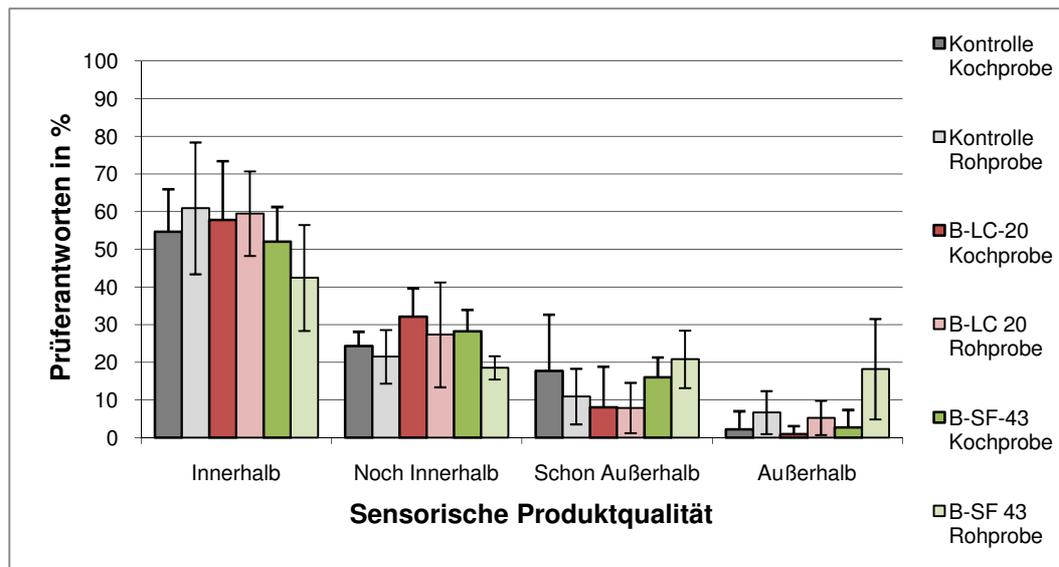
**Abbildung 31: HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 10 (n = 3)**

In Abbildung 31 ist die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich der sensorischen Produktqualität an Untersuchungstag 10 dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten bezüglich des gekochten Produktstandards zeigt, dass insgesamt 69,84 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe als der Produktspezifikation entsprechend empfunden haben, davon befanden 42,86 % der Prüfer die gekochten Hackfleischproben als „innerhalb des Standards“ und 26,98 % befanden die Kochproben als „noch innerhalb Standards“. 22,22 % der Prüfer gaben an, dass die Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ liegt und 2,38 % der Prüfer befanden die gekochten Hackfleischproben an Tag 10 als „außerhalb des Standards“. Die rohen Hackfleischproben bewerteten dagegen insgesamt 76,66 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 54,87 % der Nennungen auf die Kategorie „innerhalb des Standards“ fallen und 21,79 % auf die Kategorie „noch innerhalb des Standards“. 9,89 % der Prüfer befanden die rohen Hackfleischproben als „schon außerhalb des Standards“ und 14,44 % der Prüfer befanden die Proben am 10. Lagerungstag als „außerhalb des Standards“.

Die Prüfbeurteilungen der mit B-LC 20 beimpften Proben zeigen, dass 63,49 % der Prüfer die sensorische Qualität der gekochten Hackfleischprobe als „innerhalb des Standards“ bewertet haben. 30,95 % der Prüfer befanden, dass die sensorische Produktqualität der gekochten Hackfleischproben „noch innerhalb des Standards“ liegt. Damit haben alle Prüfer die Produktqualität des gekochten Hackfleisches am Herstellungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet. Die rohen Hackfleischproben bewerteten insgesamt 71,53 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 52,73 % der Nennungen auf „innerhalb des Standards“ fielen und 18,80 % auf „noch innerhalb des Standards“. Für die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 gaben 14,01 % der Prüfer an, dass sie „schon außerhalb des Standards“ liegen. Als „außerhalb des Standards“ bewerteten am 10. Lagerungstag 14,44 % der Prüfer die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20.

Die Auswertung der Häufigkeitsverteilung der gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 ergab, dass insgesamt 69,84 % der Prüfer die Qualität der gekochten Hackfleischproben am 10. Lagerungstag als der Produktspezifikation entsprechend bewertet haben. Die Nennungen der Prüfer verteilen sich auf 42,86 % „innerhalb des Standards“ und 26,98 % „noch innerhalb des Standards“. 22,22 % der Prüfer gaben an, dass sich die

Qualität der Kochproben „schon außerhalb des Standards“ befindet und 2,38 % der Prüfer befanden die gekochten Hackfleischproben am 10. Lagerungstag als „außerhalb des Standards“. Die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 bewerteten am 10. Untersuchungstag insgesamt nur 39,91 % der Prüfer als der Produktspezifikation entsprechend, wobei 23,24 % der Nennungen in der Kategorie „innerhalb des Standards“ angegeben waren. 19,14 % der Prüfer befanden die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 am Lagerungstag 10 als „schon außerhalb des Standards“ und 40,94 % der Prüfer befanden die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 als „außerhalb des Standards“.



**Abbildung 32: HVS 1 Gesamtbewertung der sensorischen Produktqualität aller Prüfzeitpunkte**

Insgesamt lässt sich in Abbildung 32 erkennen, dass trotz augenscheinlicher Unterschiede zwischen den Proben an den einzelnen Lagerungstagen, keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen dem Probenstandard und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen zu beobachten waren.

Allerdings waren die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 am 10. Untersuchungstag, bezogen auf die Bewertung durch die Prüfer und im Hinblick auf die sensorische Produktqualität, sehr auffällig, da über 60 % der Prüfer das Hackfleisch als nicht mehr dem Standard entsprechend beurteilt haben. Aufgrund dieser Bewertung ergibt sich für die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 in der Zusammenfassung aller Untersuchungszeitpunkte eine Gesamteinschätzung der Prüfer, die mit ca. 40 % aller Prüferantworten als „außerhalb des Standards“ bewertet wurde.

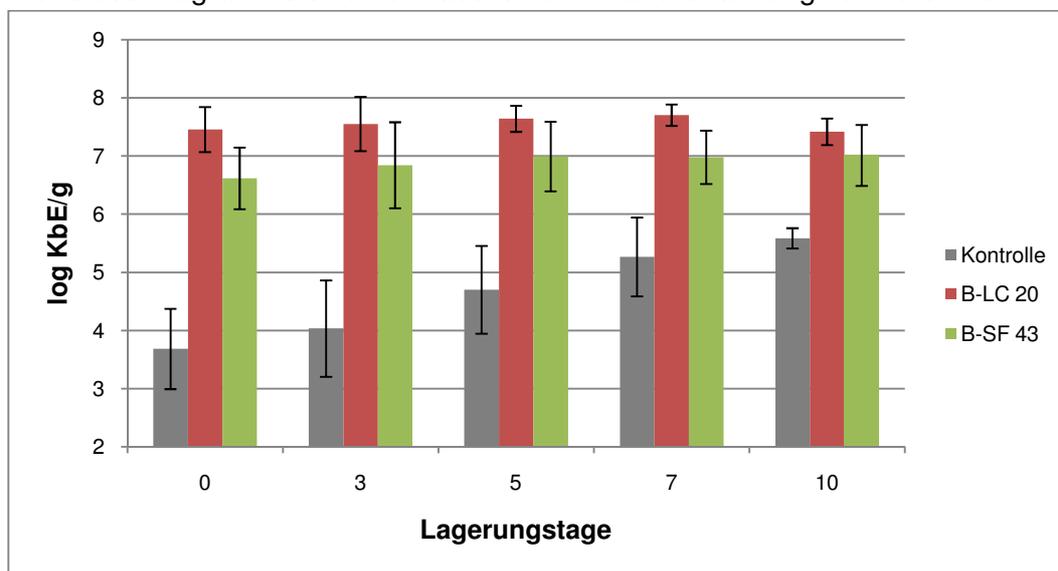
## 4.5 Hauptversuche mit Hackfleisch aus Putenkeulenfleisch

### 4.5.1 Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

#### 4.5.1.1 Nachweis von Milchsäurebakterien

In den Versuchen des 2. Hauptversuches wurde zur Herstellung des Hackfleisches Putenoberkeulenfleisch verwendet.

In Abbildung 33 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an Milchsäurebakterien während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Milchsäurebakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf MRS-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 16 im Tabellenanhang zu entnehmen.

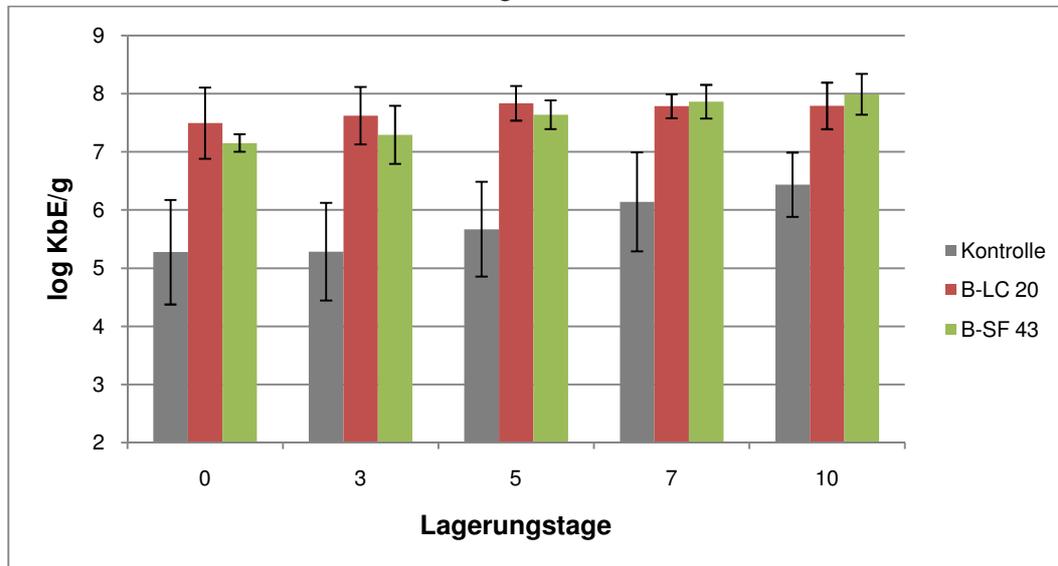


**Abbildung 33: HVS 2 Nachweis von Milchsäurebakterien (n = 5)**

Wie der Abbildung 33 zu entnehmen ist, bewirkt die Inokulation der jeweiligen Schutzkulturen in den Hackfleischproben bereits am Herstellungstag eine statistisch signifikante Erhöhung der Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben. Im Vergleich zur Kontrollprobe ( $3,68 \pm 0,69$  log KbE/g) konnten in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 am Herstellungstag Keimzahlen von  $7,46 \pm 0,39$  bzw.  $6,62 \pm 0,53$  log KbE/g ermittelt werden. Während die Keimzahl der Milchsäurebakterien in den Kontrollproben über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bis auf Werte von  $5,459 \pm 0,18$  log KbE/g kontinuierlich anstieg, stagnierte die Keimzahl der nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20. Am 10. Lagerungstag konnten in diesen Proben  $7,42 \pm 0,23$  log KbE/g Milchsäurebakterien nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 0,04$  log KbE/g. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Ende der Lagerungszeit Keimzahlen in Höhe von  $7,01 \pm 0,52$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht einer Erhöhung der Keimzahl an nachgewiesenen Milchsäurebakterien um  $\Delta 0,39$  log KbE/g. Zwischen der Kontrollprobe und den mit B-LC 20 beimpften Proben konnten zu jedem Lagerungszeitpunkt statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen Milchsäurebakterien festgestellt werden.

#### 4.5.1.2 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (GKZ)

In Abbildung 34 wird der Verlauf der mittels Plattengussverfahren erhobenen aeroben mesophilen Gesamtkeimzahlen während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Gesamtbakterien (Mittelwert  $\pm$  SD) auf PC-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 16 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 34: HVS 2 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (n = 5)**

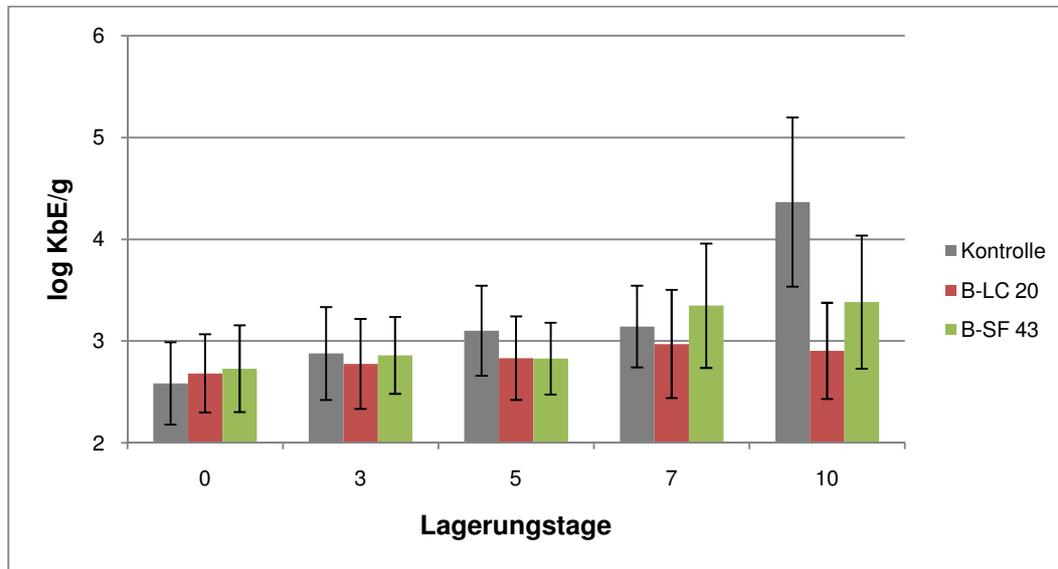
Wie der Abbildung 34 zu entnehmen ist, bewirkt die Beimpfung der Hackfleischproben mit den jeweiligen Schutzkulturen, wie beim Nachweis der Milchsäurebakterien, bereits am Herstellungstag eine statistisch signifikante Erhöhung der Gesamtkeimzahl in den Proben. Im Vergleich zur Kontrollprobe ( $5,28 \pm 0,90$  log KbE/g) konnten in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 am Herstellungstag Keimzahlen von  $7,50 \pm 0,61$  bzw.  $7,15 \pm 0,15$  log KbE/g ermittelt werden. Während die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl in den Kontrollproben über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bis auf Werte von  $6,44 \pm 0,55$  log KbE/g kontinuierlich anstieg, stagnierte die Keimzahl in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20. Am 10. Lagerungstag konnten in diesen Proben Keimzahlen von  $7,79 \pm 0,40$  log KbE/g nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 0,29$  log KbE/g. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Ende der Lagerungszeit Keimzahlen in Höhe von  $7,99 \pm 0,35$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht einer Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 0,84$  log KbE/g. Zwischen der Kontrollprobe und den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten zu jedem Lagerungszeitpunkt statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl festgestellt werden. Zwischen den Keimzahlen der Kontrollproben und der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten hingegen nur am Lagerungstag 5 und 7 statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) festgestellt werden.

#### 4.5.1.3 Nachweis von *Enterobacteriaceae*

In Abbildung 35 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von

nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf VRBD-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 16 im Tabellenanhang zu entnehmen.

In Abbildung 35 ist zu erkennen, dass sich die Keimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung der Hackfleischproben von einem anfangs verhältnismäßig einheitlichem und niedrigem Niveau (Kontrolle:  $2,58 \pm 0,40$  log KbE/g; B-LC 20:  $2,68 \pm 0,38$  log KbE/g und B-SF 43:  $2,73 \pm 0,40$  log KbE/g) unterschiedlich entwickelt haben.



**Abbildung 35: HVS 2 Nachweis von *Enterobacteriaceae* (n = 5)**

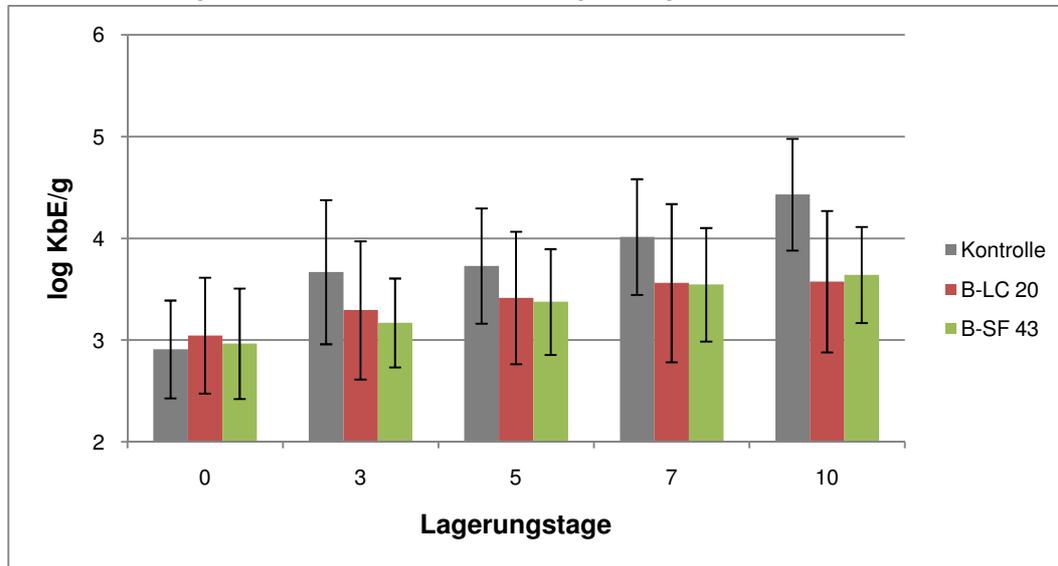
Nach 5 Tagen lassen sich deutliche Unterschiede der Keimzahlen in den verschiedenen Proben feststellen. Zwischen der Kontrollprobe und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen konnte an Tag 5 eine Differenz an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* von  $\Delta 0,27$  log KbE/g festgestellt werden. Nach 10-tägiger Kühllagerung bei  $+2$  °C konnten in den Kontrollproben durchschnittlich  $4,37 \pm 0,83$  log KbE/g *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden am 10. Tag der Lagerung Keimzahlen in Höhe von  $2,90 \pm 0,47$  log KbE/g bzw.  $3,38 \pm 0,65$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht im Vergleich mit der Kontrollprobe Reduzierungen der Keimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* um 1,47 bzw. um 0,99 log KbE/g. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Proben konnten zu keinem Untersuchungszeitpunkt festgestellt werden.

#### 4.5.1.4 Nachweis von *Pseudomonas* ssp.

In Abbildung 36 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp. während der 10-tägigen Lagerungszeit bei  $+2$  °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. (Mittelwert  $\pm$  SD) auf GSP-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 16 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Abbildung 36 lässt ebenfalls erkennen, dass sich die Keimzahlen an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung der Hackfleischproben von einem anfangs relativ einheitlichem Niveau (Kontrolle:  $2,91 \pm 0,48$  log KbE/g; B-LC 20:  $3,05 \pm 0,57$  log KbE/g und B-SF 43:  $2,97 \pm 0,54$  log KbE/g) unterschiedlich entwickelt haben. Bereits nach 3 Tagen lassen sich auffällige Unterschiede zwischen den Keimzahlen der

Kontrollprobe ( $3,67 \pm 0,71$  log KbE/g) und denen der Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 ( $3,29 \pm 0,68$  log KbE/g) bzw. B-SF 43 ( $3,17 \pm 0,44$  log KbE/g) feststellen. An Tag 5 konnte zwischen der Kontrollprobe und der Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 eine Differenz an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. von  $\Delta 0,31$  log KbE/g festgestellt werden. Zwischen der Kontrollprobe und der Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten an Tag 5 Differenzen von  $\Delta 0,35$  log KbE/g ermittelt werden.

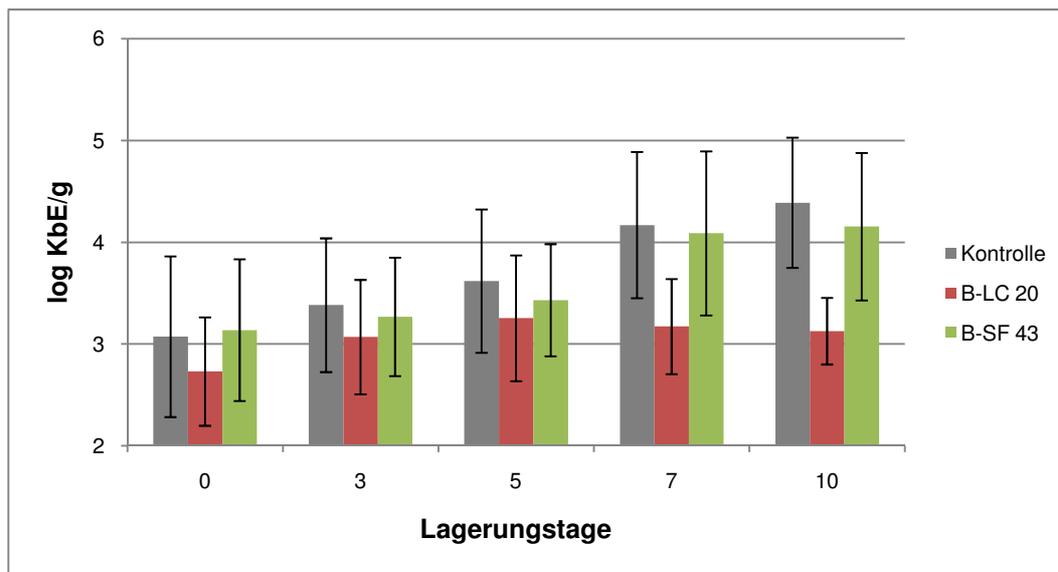


**Abbildung 36: HVS 2 Nachweis von *Pseudomonas* ssp. (n = 5)**

Nach 10-tägiger Kühllagerung bei +2 °C konnten in den Kontrollproben durchschnittlich  $4,43 \pm 0,55$  log KbE/g *Pseudomonas* ssp. nachgewiesen werden. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden am 10. Tag der Lagerung Keimzahlen in Höhe von  $3,58 \pm 0,70$  log KbE/g bzw.  $3,64 \pm 0,47$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht gegenüber den Kontrollproben Reduzierungen der Keimzahlen an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. um  $0,85$  log KbE/g bzw. um  $0,79$  log KbE/g. Statistisch signifikante Differenzen zwischen den Kontrollproben und den mit den jeweiligen Schutzkulturen beimpften Proben konnten zu keinem Untersuchungszeitpunkt festgestellt werden ( $p \geq 0,05$ ).

#### 4.5.1.5 Nachweis von *Brochotrix thermosphacta*

In Abbildung 37 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf SIN-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 16 im Tabellenanhang zu entnehmen.



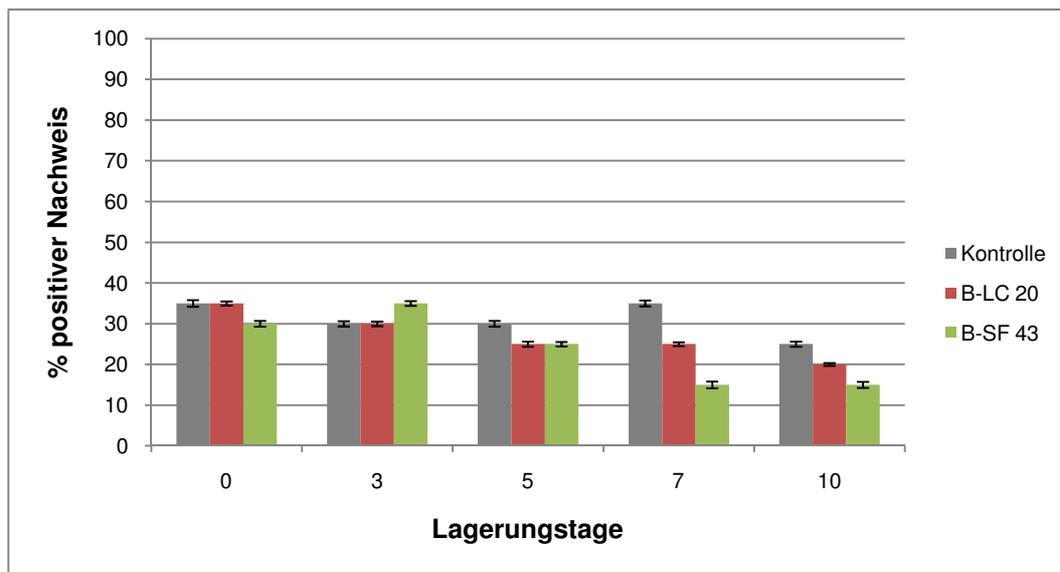
**Abbildung 37: HVS 2 Nachweis von *Brochotrix thermosphacta* (n = 5)**

Abbildung 37 ist zu entnehmen, dass die initialen Keimzahlen der Kontrollproben bei Werten von  $3,07 \pm 0,79$  log KbE/g liegen. Die Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 und B-SF 43 liegen am Herstellungstag bei  $2,73 \pm 0,53$  log KbE/g bzw.  $3,14 \pm 0,70$  log KbE/g. Nach 5 Lagerungstagen bei +2 °C konnten in den Kontrollproben durchschnittliche Keimzahlen von  $3,62 \pm 0,70$  und in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 durchschnittliche Keimzahlen von  $3,25 \pm 0,62$  bzw.  $3,43 \pm 0,55$  log KbE/g nachgewiesen werden. An Tag 7 der Lagerung konnten bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen zwischen den Kontrollproben ( $4,68 \pm 0,04$  log KbE/g) und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen ( $4,25 \pm 0,03$  bzw.  $4,38 \pm 0,21$  log KbE/g) Differenzen von  $\Delta 0,43$  bzw.  $\Delta 0,30$  log KbE/g festgestellt werden ( $p \geq 0,05$ ). Nach 10-tägiger Kühlung konnten in den Kontrollproben durchschnittlich  $4,39 \pm 0,64$  log KbE/g *Brochotrix thermosphacta* nachgewiesen werden. In den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden am 10. Tag der Lagerung Keimzahlen in Höhe von  $3,13 \pm 0,33$  log KbE/g bzw.  $4,15 \pm 0,72$  log KbE/g nachgewiesen. Dies entspricht gegenüber den Kontrollproben Reduzierungen der Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* um  $\Delta 1,26$  log KbE/g bzw. um  $\Delta 0,24$  log KbE/g ( $p \geq 0,05$ ).

#### 4.5.1.6 Qualitativer Nachweis von *Listeria* ssp.

In Abbildung 38 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen qualitativen Nachweise an *Listeria* ssp. während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt die Anzahl der Positivnachweise nachgewiesener *Listeria* ssp. (Mittelwert  $\pm$  SD %) auf OCLA-Agar dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 17 im Tabellenanhang zu entnehmen.

In Abbildung 38 ist zu erkennen, dass in den Kontrollproben und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 am Herstellungstag 35 % der untersuchten Proben positiv auf das Vorhandensein von *Listeria* ssp. getestet wurden. Bei den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden am Herstellungstag 30 % aller untersuchten Proben positiv auf das Vorkommen von *Listeria* ssp. getestet.

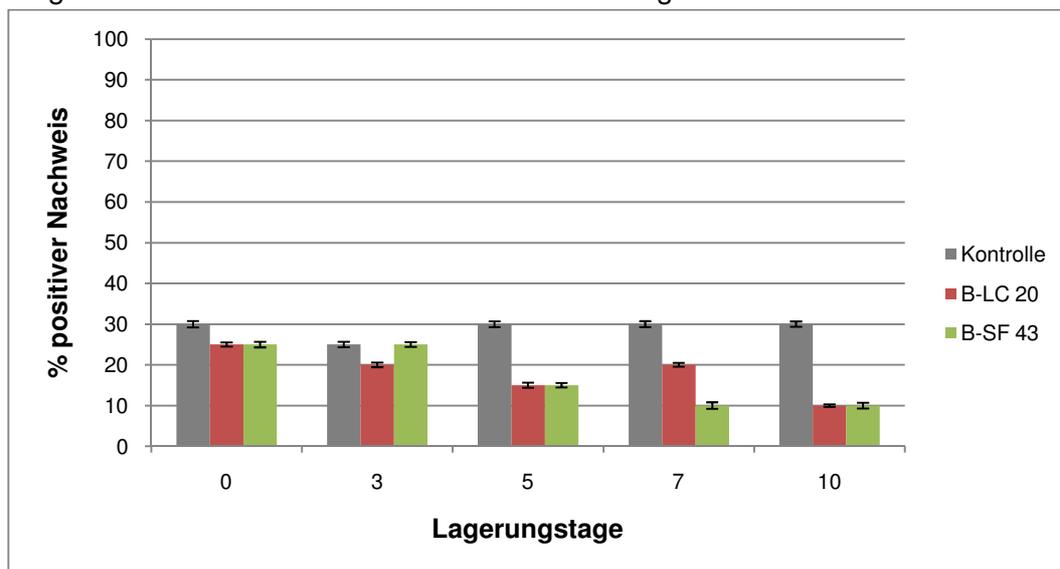


**Abbildung 38: HVS 2 qualitativer Nachweis von *Listeria* spp. (n = 5)**

Über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +2 °C konnte in allen untersuchten Proben eine Reduzierung der Anzahl an Positivproben beobachtet werden. Nach 10 Tagen wurden in der Kontrollprobe noch 25 % Positivbefunde festgestellt, in den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wurden 20 % bzw. 15 % aller untersuchten Proben positiv auf *Listeria* spp. getestet. Dies entspricht Differenzen zwischen der Kontrollprobe und den Proben mit B-LC 20 bzw. B-SF 43 von 5 bzw. 10 %. Statistische Signifikanzen ( $p \leq 0,05$ ) konnten für beide Schutzkulturen nur am Lagerungstag 7 ermittelt werden.

#### 4.5.1.7 Qualitativer Nachweis von *Campylobacter* spp.

In Abbildung 39 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen qualitativen Nachweise an *Campylobacter* spp. während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt die Anzahl der Positivnachweise an nachgewiesenen *Campylobacter* spp. (Mittelwert  $\pm$  SD %) auf *Campylobacter* Selektivnährboden CCDA (blutfrei) dar. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 17 im Tabellenanhang zu entnehmen.

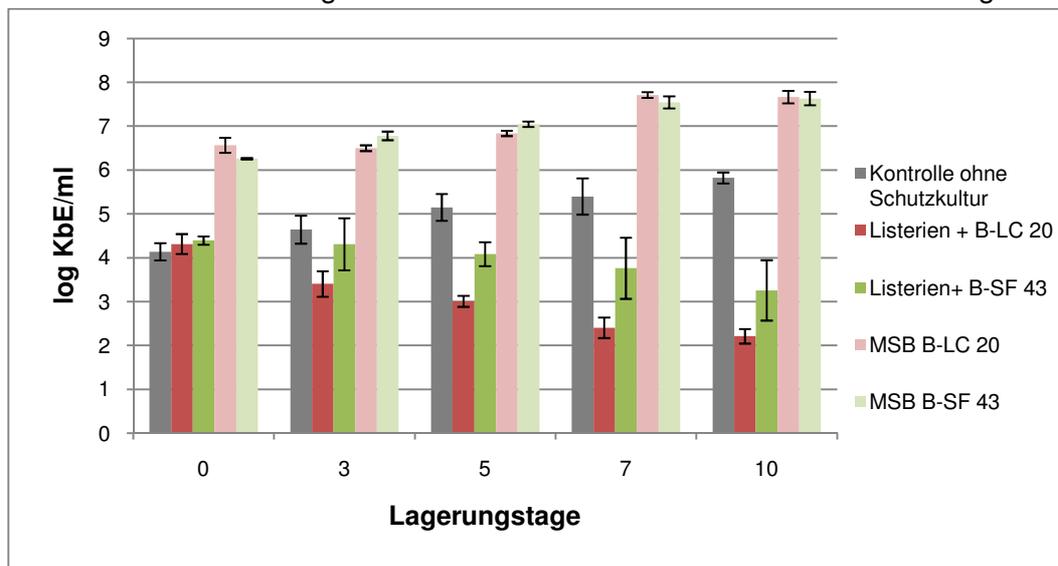


**Abbildung 39: HVS 2 qualitativer Nachweis von *Campylobacter* spp. (n = 5)**

Abbildung 39 lässt erkennen, dass 30 % aller untersuchter Kontrollproben und jeweils 25 % der Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 und B-SF 43 am Herstellungstag positiv auf das Vorhandensein von *Campylobacter* ssp. getestet wurden. Über den Verlauf der 10-tägigen Kühlagerung bei +2 °C konnte in den untersuchten Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen eine Reduzierung der Anzahl an Positivproben um 15 % beobachtet werden, wohingegen in der Kontrollprobe auch am 10. Tage des Untersuchungszeitraumes noch 30 % Positivbefunde für *Campylobacter* ssp. festzustellen waren. Dies entspricht bezüglich der prozentualen Positivbefunde nach Ablauf des Untersuchungszeitraumes Differenzen zwischen der Kontrollprobe und den Proben mit B-LC 20 und B-SF 43 von jeweils 20 %. Statistische Signifikanzen ( $p \leq 0,05$ ) konnten für die Schutzkultur B-LC 20 ab dem 5. Untersuchungstag und für die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 nur an Untersuchungstag 7 ermittelt werden.

#### 4.5.1.8 Quantitativer Nachweis von *Listeria monocytogenes* nach Inokulation

In Abbildung 40 und 41 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an inokulierten *Listeria* ssp. während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml bzw. KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Listeria* ssp. (Mittelwert  $\pm$  SD) auf OCLA-Agar, und den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml bzw. KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Schutzkulturen (B-LC 20 und B-SF 43) in KbE/g Hackfleisch auf MRS-Agar dar. Die einzelnen Werte der Diagramme sind Tabelle 18 und 19 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 40: HVS 2 quantitativer Nachweis von inokulierten *Listeria monocytogenes* und Milchsäurebakterien in BHI-Bouillon (n = 5)**

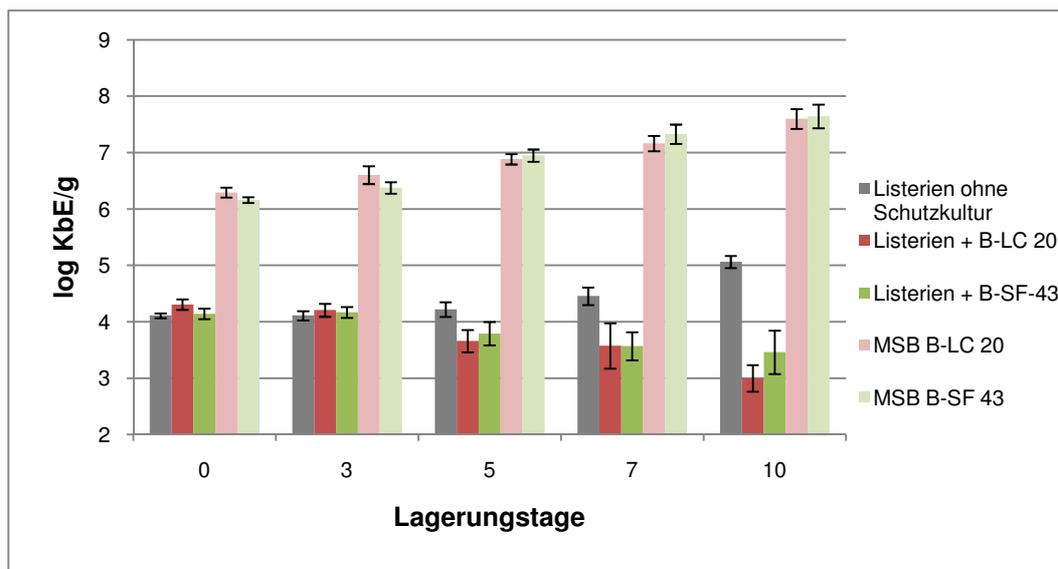
In Abbildung 40 ist zu erkennen, dass an Tag 0 in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen im mathematischen Mittel  $4,14 \pm 0,20$  log KbE/ml an *Listeria* ssp. nachgewiesen wurden. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden an Tag 0 *Listeria* ssp. in Keimdichten von  $4,31 \pm 0,23$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $4,39 \pm 0,09$  log KbE/ml (B-SF 43), sowie Milchsäurebakterien in Keimdichten von  $6,57 \pm 0,17$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $6,26 \pm 0,02$  log KbE/ml (B-SF 43) nachgewiesen, nachdem diese in Konzentrationen von  $10^4$  KbE/ml (*Listeria monocytogenes*) bzw. in Konzentrationen von  $10^6$  KbE/ml der jeweiligen Schutzkultur in die BHI-Bouillon inokuliert wurden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen erhöhten sich über den

Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +2 °C auf Werte von  $7,66 \pm 0,14$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $7,63 \pm 0,15$  log KbE/ml (B-SF 43).

Die Keimzahlen an nachgewiesenen *Listeria* ssp. in den Kontrollproben erhöhten sich über den Verlauf der Lagerung bei +2 °C auf finale Werte von  $5,82 \pm 0,13$  log KbE/ml. Dies entspricht, verglichen mit der initialen Keimzahl, einer Differenz von  $\Delta 1,68$  log KbE/ml.

In den Proben, die mit *Listeria monocytogenes* und den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnte eine Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Listeria* ssp. beobachtet werden. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Listeria* ssp. in Höhe von  $2,21 \pm 0,17$  log KbE/ml nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl an Tag 0 ergibt sich daraus eine Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 2,1$  log KbE/ml. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Listeria* ssp. von  $\Delta 3,61$  log KbE/ml ( $p \leq 0,05$ ).

In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Listeria* ssp. in Höhe von  $3,26 \pm 0,69$  log KbE/ml nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Tag 0 ergibt sich daraus eine Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 1,1$  log KbE/ml. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Listeria* ssp. von  $\Delta 2,56$  log KbE/ml ( $p \leq 0,05$ ).



**Abbildung 41: HVS 2 quantitativer Nachweis von *Listeria monocytogenes* und Milchsäurebakterien in Geflügelhackfleisch (n = 5)**

In Abbildung 41 ist zu erkennen, dass am Tag der Hackfleischherstellung in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen im mathematischen Mittel  $4,31 \pm 0,06$  log KbE/g an *Listeria* ssp. nachgewiesen wurden. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden am Herstellungstag *Listeria* ssp. in Keimdichten von  $4,31 \pm 0,09$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $4,14 \pm 0,09$  log KbE/g (B-SF 43), sowie Milchsäurebakterien in Keimdichten von  $6,29 \pm 0,09$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $6,16 \pm 0,05$  log KbE/g (B-SF 43) nachgewiesen, nachdem diese in Konzentrationen von ca.  $10^4$  KbE/g (*Listeria monocytogenes*) bzw. in Konzentrationen von ca.  $10^6$  KbE/g der jeweiligen Schutzkultur in das frisch hergestellte Hackfleisch inokuliert wurden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen, erhöhten sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei +2 °C auf Werte von  $7,60 \pm 0,18$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $7,64 \pm 0,21$  log KbE/g (B-SF 43).

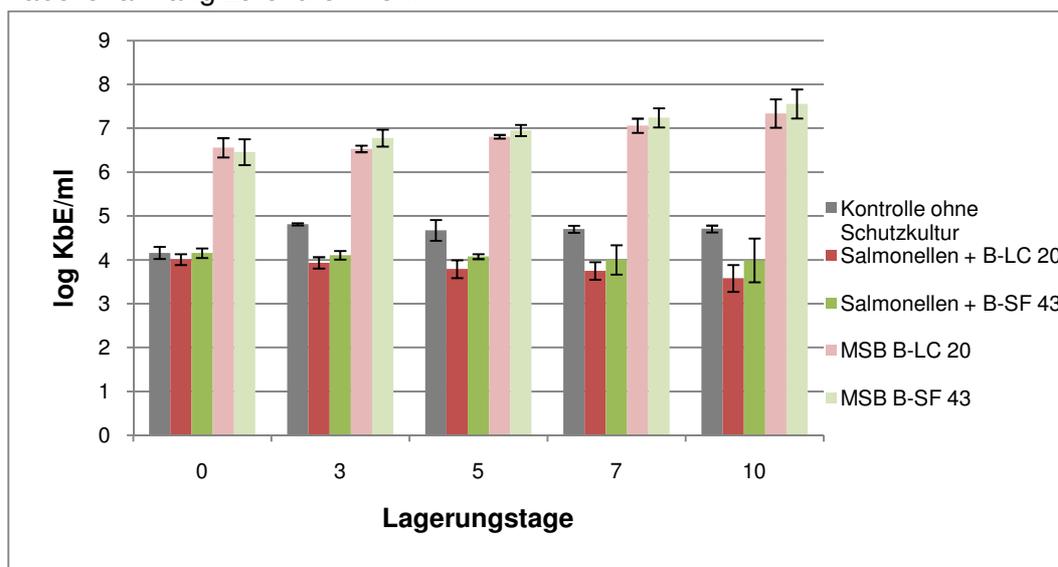
Die Keimzahlen an nachgewiesenen *Listeria* ssp. in den Kontrollproben erhöhten sich über den Verlauf der Lagerung bei +2 °C auf finale Werte von  $5,10 \pm 0,08$  log KbE/g. Dies entspricht, verglichen mit der initialen Keimzahl, einer Erhöhung um  $\Delta 0,79$  log KbE/g.

In den Hackfleischproben, die mit *Listeria monocytogenes* und den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden konnte eine Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Listeria* ssp. beobachtet werden. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten an Untersuchungstag 10 noch *Listeria* ssp. in Höhe von  $3,00 \pm 0,23$  log KbE/g nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Herstellungstag ergibt sich daraus eine Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 1,31$  log KbE/g. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Listeria* ssp. von  $\Delta 2,10$  log KbE/g ( $p \leq 0,05$ ).

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Listeria* ssp. in Höhe von  $3,46 \pm 0,39$  log KbE/g nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Herstellungstag ergibt sich daraus eine Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 0,68$  log KbE/g. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen an Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Listeria* ssp. von  $\Delta 1,64$  log KbE/ml ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4.5.1.9 Quantitativer Nachweis von *Salmonella enterica* nach Inokulation

In den Abbildung 42 und 43 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an inokulierten *Salmonella enterica* während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml bzw. KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen *Salmonella enterica* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf Rambach- und XLD-Agar, und den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml bzw. KbE/g Hackfleisch) von nachgewiesenen Schutzkulturen (B-LC 20 und B-SF 43) auf MRS-Agar dar. Die einzelnen Werte der Diagramme sind den Tabelle 19 und 20 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 42: HVS 2 quantitativer Nachweis von *Salmonella enterica* und Milchsäurebakterien in BHI Bouillon (n = 5)**

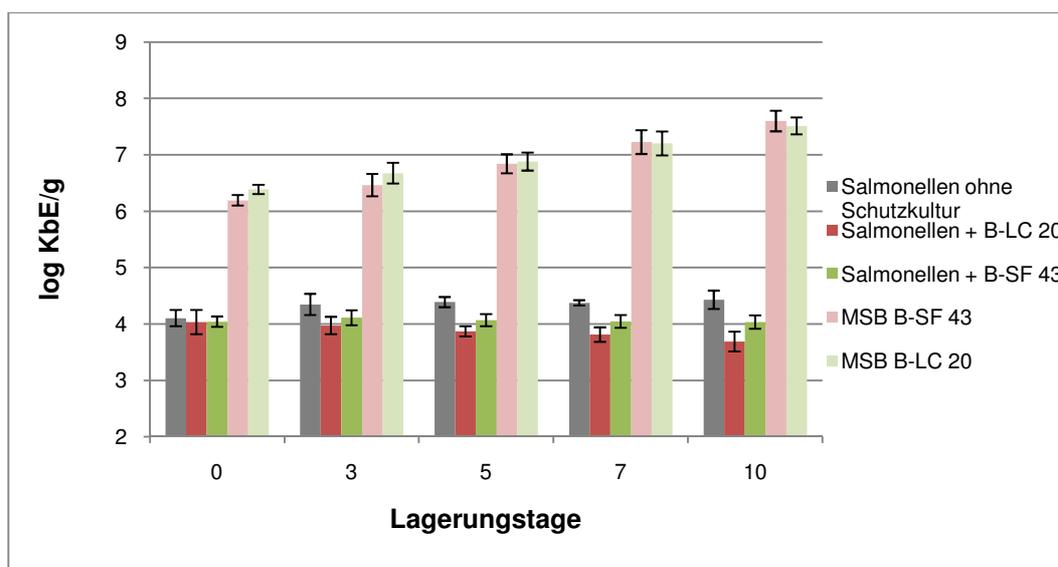
Wie in der Abbildung 42 zu erkennen ist, wurden in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen an Tag 0 im mathematischen Mittel  $4,16 \pm 0,14$  log KbE/ml an *Salmonella* ssp. nachgewiesen. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden an Tag 0

*Salmonella* ssp. in Keimdichten von  $4,01 \pm 0,12$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $4,16 \pm 0,11$  log KbE/ml (B-SF 43), sowie Milchsäurebakterien in Keimdichten von  $6,56 \pm 0,22$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $6,46 \pm 0,30$  log KbE/ml (B-SF 43) nachgewiesen, nachdem diese in Konzentrationen von ca.  $10^4$  KbE/ml (*Salmonella enterica*) bzw. in Konzentrationen von ca.  $10^6$  KbE/ml der jeweiligen Schutzkultur in die BHI-Boullion inokuliert wurden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen erhöhten sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühlung bei +2 °C auf Werte von  $7,66 \pm 0,14$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $7,63 \pm 0,15$  log KbE/ml (B-SF 43).

Die Keimzahl an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. in den Kontrollproben erhöhten sich über den Verlauf der Lagerung bei +2 °C auf mittlere finale Werte von  $4,71 \pm 0,08$  log KbE/ml. Dies entspricht, verglichen mit der initialen Keimzahl, einer Differenz von  $\Delta 0,55$  log KbE/ml.

In den Proben, die mit *Salmonella enterica* und den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnte eine Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. beobachtet werden. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Salmonella* ssp. in Höhe von  $3,58 \pm 0,31$  log KbE/ml nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl an Tag 0 ergibt sich daraus eine Reduzierung um  $\Delta 0,43$  log KbE/ml. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine Differenz an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. von  $\Delta 1,13$  log KbE/ml. Statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Keimzahlen der Kontrollproben und den Keimzahlen der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 ließen sich ab dem 3. Untersuchungstag feststellen.

In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten an Untersuchungstag 10 noch *Salmonella* ssp. in Höhe von  $3,99 \pm 0,50$  log KbE/ml nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Tag 0 ergibt sich daraus eine Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 0,17$  log KbE/ml. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine Differenz an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. von  $\Delta 0,72$  log KbE/ml. Statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen in den Kontrollproben und den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten ab dem 3. Lagerungstag festgestellt werden.



**Abbildung 43: HVS 2 quantitativer Nachweis von *Salmonella enterica* und Milchsäurebakterien in Geflügelhackfleisch (n = 5)**

In Abbildung 43 ist zu erkennen, dass am Tag der Hackfleischherstellung in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen im mathematischen Mittel  $4,08 \pm 0,31$  log KbE/g an *Salmonella* ssp. nachgewiesen wurden. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden am Herstellungstag *Salmonella* ssp. in Keimdichten von  $4,04 \pm 0,21$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $4,04 \pm 0,09$  log KbE/g (B-SF 43), sowie Milchsäurebakterien in Keimdichten von  $6,39 \pm 0,08$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $6,19 \pm 0,09$  log KbE/g (B-SF 43) nachgewiesen, nachdem diese in Konzentrationen von ca.  $10^4$  KbE/g (*Salmonella enterica*) bzw. in Konzentrationen von ca.  $10^6$  KbE/g der jeweiligen Schutzkultur in das frisch hergestellte Hackfleisch inokuliert wurden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen erhöhten sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühlung bei +2 °C auf Werte von  $7,51 \pm 0,15$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $7,60 \pm 0,18$  log KbE/g (B-SF 43).

Die Keimzahlen an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. in den Kontrollproben erhöhten sich über den Verlauf der Lagerung bei +2 °C auf finale Werte von  $4,40 \pm 0,25$  log KbE/g. Dies entspricht, verglichen mit der initialen Keimzahl, einer Erhöhung um  $\Delta 0,32$  log KbE/g.

In den Hackfleischproben, die mit *Salmonella enterica* und den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden konnte eine Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. beobachtet werden. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Salmonella* ssp. in Höhe von  $3,69 \pm 0,18$  log KbE/g nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Herstellungstag ergibt sich daraus eine Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 0,35$  log KbE/g. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. von  $\Delta 0,71$  log KbE/g ( $p \leq 0,05$ ).

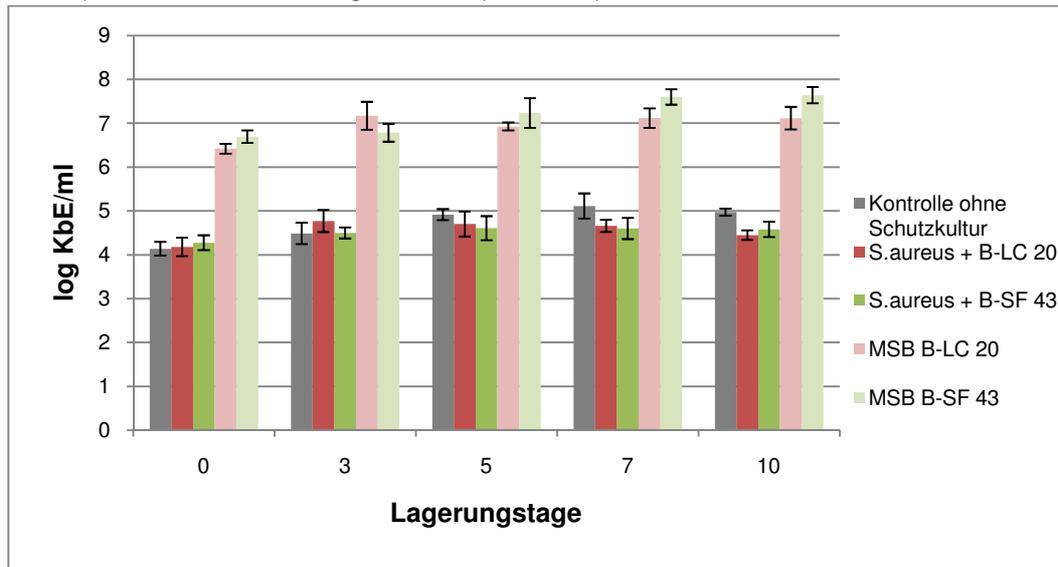
In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Salmonella* ssp. in Höhe von  $4,03 \pm 0,12$  log KbE/g nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Herstellungstag ergibt sich daraus eine Stagnation mit einer leichten Reduzierung der Keimzahl um  $\Delta 0,01$  log KbE/g. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Salmonella* ssp. von  $\Delta 0,37$  log KbE/ml ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4.5.1.10 Quantitativer Nachweis von *Staphylococcus aureus* nach Inokulation

In den Abbildung 44 und 45 wird der Verlauf der mittels Oberflächenspatelverfahren erhobenen Keimzahlen an inokulierten *Staphylococcus aureus* während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten von nachgewiesenen *Staphylococcus aureus* (Mittelwert  $\pm$  SD) auf BP-Agar, sowie den Logarithmus (lg) der koloniebildenden Einheiten von nachgewiesenen Schutzkulturen (KbE/ml bzw. KbE/g Hackfleisch) dar. Die einzelnen Werte der Diagramme sind den Tabelle 20 und 21 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Wie in der Abbildung 44 zu erkennen ist, wurden in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen an Tag 0 im mathematischen Mittel  $4,14 \pm 0,16$  log KbE/ml an *Staph. aureus* nachgewiesen. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden an Tag 0 *Staph. aureus* in Keimdichten von  $4,18 \pm 0,21$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $4,28 \pm 0,17$  log KbE/ml (B-SF 43), sowie Milchsäurebakterien in Keimdichten von  $6,42 \pm 0,11$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $6,69 \pm 0,14$  log KbE/ml (B-SF 43) nachgewiesen, nachdem diese in Konzentrationen von ca.  $10^4$  KbE/ml (*Staph. aureus*) bzw. in Konzentrationen von ca.  $10^6$  KbE/ml der jeweiligen Schutzkultur in die BHI-Boullion inokuliert wurden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen, erhöhten sich über

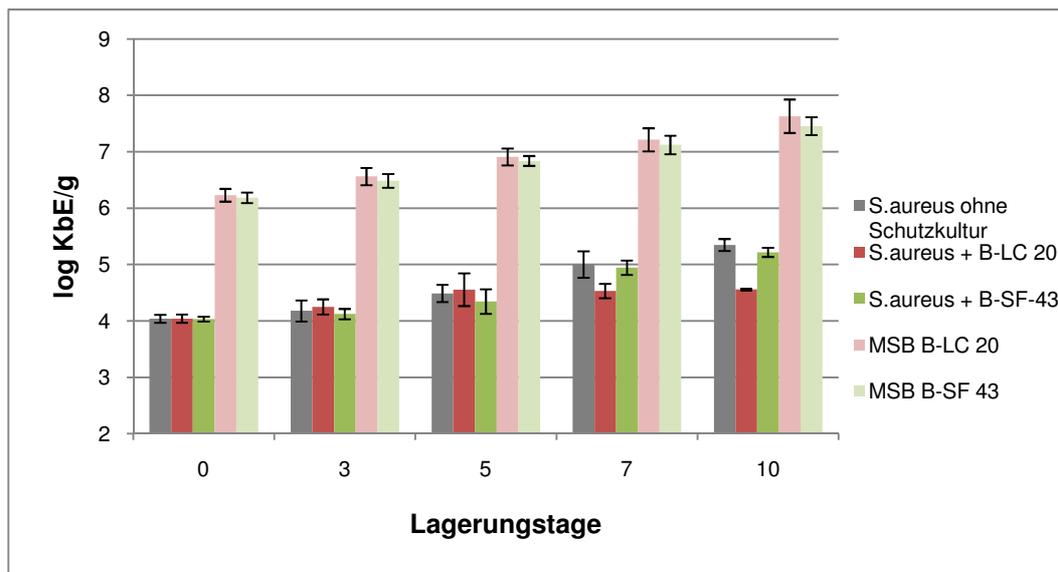
den Verlauf der 10-tägigen Kühlung bei +2 °C auf Werte von  $7,11 \pm 0,26$  log KbE/ml (B-LC 20) bzw.  $7,64 \pm 0,19$  log KbE/ml (B-SF 43).



**Abbildung 44: HVS 2 quantitativer Nachweis von *Staphylococcus aureus* und Milchsäurebakterien in BHI-Bouillon (n = 5)**

Die Keimzahl an nachgewiesenen *Staph. aureus* in den Kontrollproben erhöhten sich über den Verlauf der Lagerung bei +2 °C auf mittlere finale Werte von  $4,97 \pm 0,08$  log KbE/ml. Dies entspricht, verglichen mit der initialen Keimzahl, einer Differenz von  $\Delta 0,83$  log KbE/ml. In den Proben, die mit *Staphylococcus aureus* und den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnte keine Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Staph. aureus* beobachtet werden. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Staph. aureus* in Höhe von  $4,45 \pm 0,11$  log KbE/ml nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl an Tag 0 ergibt sich daraus eine Erhöhung um  $\Delta 0,27$  log KbE/ml. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine Differenz an nachgewiesenen *Staph. aureus* von  $\Delta 0,52$  log KbE/ml. Statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen den Keimzahlen der Kontrollproben und den Keimzahlen der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 ließen sich nur am Untersuchungstag 10 feststellen.

In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten an Untersuchungstag 10 noch *Staph. aureus* in Höhe von  $4,58 \pm 0,18$  log KbE/ml nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Tag 0 ergibt sich daraus eine Erhöhung um  $\Delta 0,30$  log KbE/ml. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen an Lagerungstag 10 eine Differenz an nachgewiesenen *Staph. aureus* von  $\Delta 0,39$  log KbE/ml. Statistisch signifikante Differenzen ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der nachgewiesenen Keimzahlen in den Kontrollproben und den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten nur an den Untersuchungstagen 5 und 10 festgestellt werden.



**Abbildung 45: HVS 2 quantitativer Nachweis von *Staphylococcus aureus* und Milchsäurebakterien in Geflügelhackfleisch (n = 5)**

In Abbildung 45 ist zu erkennen, dass am Tag der Hackfleischherstellung in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen im mathematischen Mittel  $3,97 \pm 0,02$  log KbE/g an *Staph. aureus* nachgewiesen wurden. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden am Herstellungstag *Staph. aureus* in Keimdichten von  $4,04 \pm 0,07$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $4,03 \pm 0,04$  log KbE/g (B-SF 43), sowie Milchsäurebakterien in Keimdichten von  $6,23 \pm 0,11$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $6,19 \pm 0,09$  log KbE/g (B-SF 43) nachgewiesen, nachdem diese in Konzentrationen von ca.  $10^4$  KbE/g (*Staphylococcus aureus*) bzw. in Konzentrationen von ca.  $10^6$  KbE/g der jeweiligen Schutzkultur in das frisch hergestellte Hackfleisch inokuliert wurden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen erhöhten sich über den Verlauf der 10-tägigen Kühlung bei  $+2$  °C auf Werte von  $7,63 \pm 0,30$  log KbE/g (B-LC 20) bzw.  $7,45 \pm 0,16$  log KbE/g (B-SF 43).

Die Keimzahlen an nachgewiesenen *Staph. aureus* in den Kontrollproben erhöhten sich über den Verlauf der Lagerung bei  $+2$  °C auf finale Werte von  $5,57 \pm 0,19$  log KbE/g. Dies entspricht, verglichen mit der initialen Keimzahl, einer Erhöhung um  $\Delta 1,60$  log KbE/g Hackfleisch.

In den Hackfleischproben, die mit *Staphylococcus aureus* und den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnte wieder keine Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Staph. aureus* beobachtet werden. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Staph. aureus* in Höhe von  $4,56 \pm 0,02$  log KbE/g nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Herstellungstag ergibt sich daraus eine Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 0,52$  log KbE/g. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch signifikante Differenz an nachgewiesenen *Staph. aureus* von  $\Delta 1,01$  log KbE/g ( $p \leq 0,05$ ).

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten am Untersuchungstag 10 noch *Staph. aureus* in Höhe von  $5,22 \pm 0,08$  log KbE/g nachgewiesen werden. Verglichen mit der Keimzahl am Herstellungstag ergibt sich daraus eine Erhöhung der Keimzahl um  $\Delta 1,19$  log KbE/g. Verglichen mit der Kontrollprobe ergibt sich bezüglich der Keimzahlen am Lagerungstag 10 eine statistisch nicht signifikante Differenz an nachgewiesenen *Staph. aureus* von  $\Delta 0,35$  log KbE/ml ( $p \geq 0,05$ ).

#### 4.5.1.11 Quantitativer Nachweis von *Campylobacter jejuni* nach Inokulation

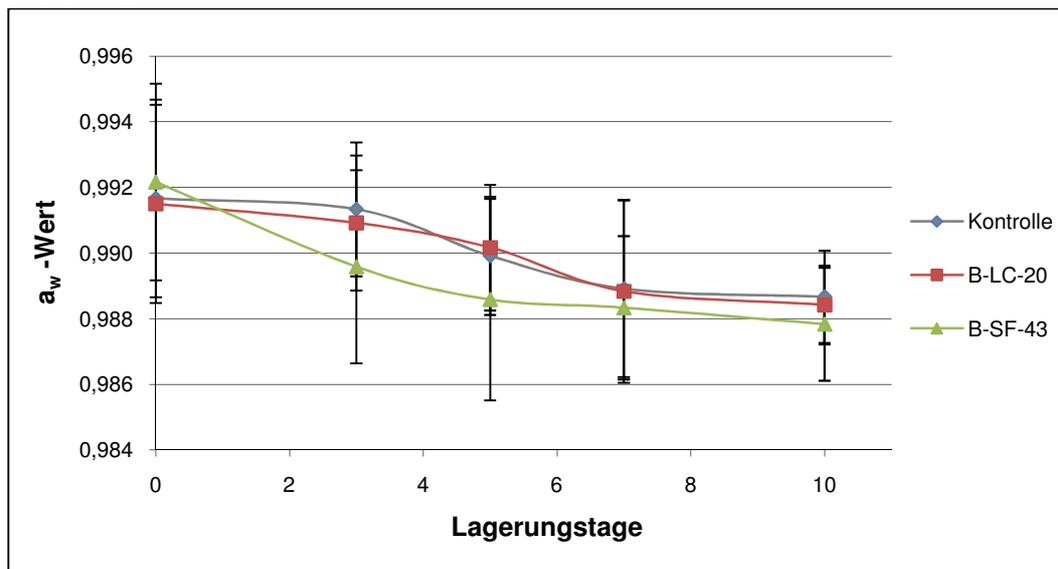
Die Ergebnisse der quantitativen Nachweise von inokulierten *Campylobacter jejunii* sind in dieser Arbeit nicht graphisch dargestellt, da die Ergebnisse der qualitativen Nachweise nicht bestätigt werden konnten. Zu keinem Untersuchungszeitpunkt der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C konnten im Rahmen dieser Arbeit *Campylobacter* ssp. in den Hackfleischproben nachgewiesen werden. Mögliche Ursachen hierfür werden im Abschnitt 5.3.1.7 diskutiert.

### 4.5.2 Physikalische Untersuchungsergebnisse

#### 4.5.2.1 Ergebnisse der $a_w$ -Wertmessungen

In Abbildung 46 wird der Verlauf der  $a_w$ -Werte der Hackfleischproben des 2. Hauptversuchs während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den gemessenen  $a_w$ -Wert (Mittelwert  $\pm$  SD) der Proben dar.

An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die  $a_w$ -Werte der Hackfleischproben mit den jeweiligen Konzentrationen der Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) sowie die  $a_w$ -Werte der unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich ihrer Entwicklung über den Verlauf der Lagerung untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 27 im Tabellenanhang zu entnehmen.



**Abbildung 46: Ergebnisse der  $a_w$ -Wertmessungen in HVS 2 (n = 5)**

Wie in der Abbildung 46 zu erkennen ist, bewirkt die Beimpfung des Hackfleisches mit den jeweiligen Schutzkulturen keine statistisch signifikanten Differenzen ( $p \geq 0,05$ ) zwischen den einzelnen Proben. Der  $a_w$ -Wert am Herstellungstag betrug in allen untersuchten Proben jeweils  $0,99 \pm 0,003$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung der Proben bei +2 °C sanken die Werte in allen untersuchten Proben unwesentlich um ca. 0,003 ab.

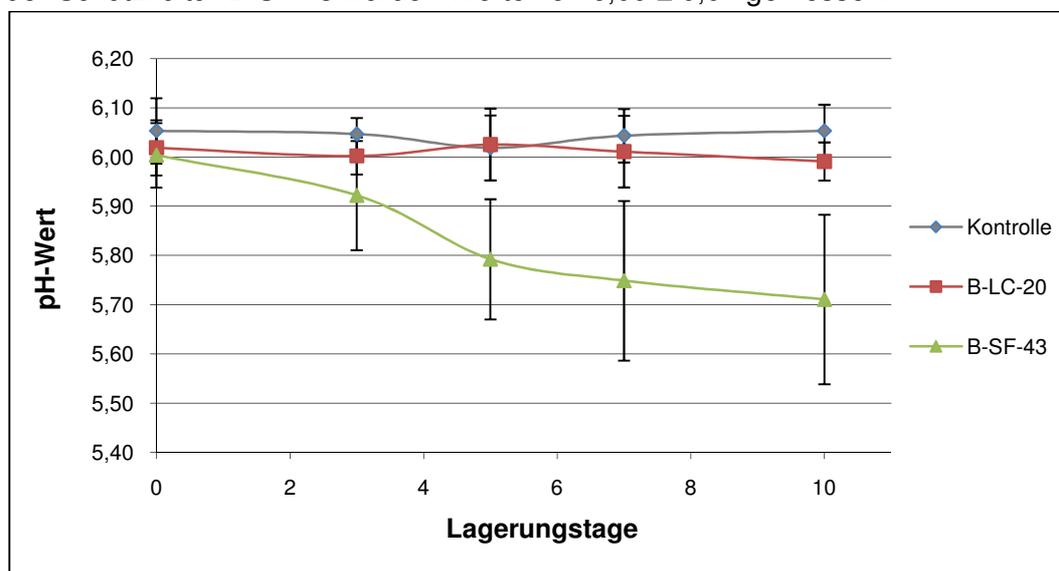
#### 4.5.2.2 Ergebnisse der pH-Wertmessungen

In Abbildung 47 wird der Verlauf der pH-Werte der Hackfleischproben des 2. Hauptversuches während der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-

Achse ist die Untersuchungszeit in Tagen angegeben, die y-Achse stellt den gemessenen pH-Wert (Mittelwert  $\pm$  SD) der Proben dar.

An jedem Untersuchungstag und in jeder Charge wurden die pH-Werte der Hackfleischproben mit den jeweiligen Konzentrationen der Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ (B-LC 20) und B-SF 43 Bactoferm™ (B-SF 43) sowie die pH-Werte der unbeimpften Hackfleischproben (Kontrolle) bezüglich ihrer Entwicklung über den Verlauf der Lagerung untersucht. Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 27 im Tabellenanhang zu entnehmen.

In Abbildung 47 ist zu erkennen, dass die pH-Werte der Kontrollproben und der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20, verglichen mit den Proben, welche die Schutzkultur B-SF 43 enthalten, einen abweichenden Verlauf nimmt. Am Herstellungstag wurden in den Kontrollproben gemittelte pH-Werte von  $6,06 \pm 0,07$  festgestellt. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 wurden gemittelte Werte von  $6,02 \pm 0,06$  erfasst und in den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden Werte von  $6,00 \pm 0,07$  gemessen.



**Abbildung 47: Ergebnisse der pH-Wertmessungen in HVS 2 (n = 5)**

Während die pH-Werte der Kontrollproben und der Proben mit B-LC 20 bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes relativ konstant auf dem anfänglichen Niveau bleiben ( $6,05 \pm 0,05$  bzw.  $5,99 \pm 0,04$ ), ist bei den Proben mit der Schutzkultur B.SF 43 ein deutlicher, kontinuierlich verlaufender Abfall des pH-Wertes zu erkennen. An Untersuchungstag 5 konnte bereits eine Reduzierung des pH-Wertes um  $\Delta 0,21$  beobachtet werden und bis zum Ende des Lagerungszeitraumes von 10 Tagen reduzierte sich der pH-Wert in den Proben auf  $5,71 \pm 0,17$ . Dies entspricht einer statistisch signifikanten Differenz ( $p \leq 0,05$ ) zur Kontrollprobe von  $\Delta 0,34$ . Im Vergleich dazu konnte an Tag 10 zwischen den Werten der Kontrollprobe und den Werten der Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 nur eine Differenz von  $\Delta 0,06$  ermittelt werden ( $p \leq 0,05$ ).

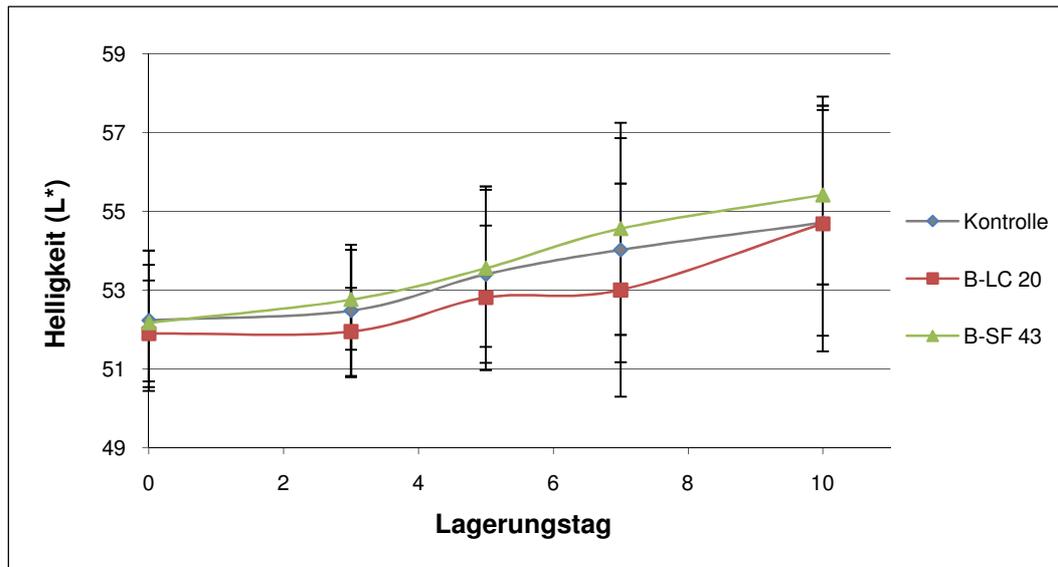
#### 4.5.2.3 Ergebnisse der instrumentellen Farbmessung

In Abbildung 48 ist der Verlauf der Helligkeitswerte ( $L^*$ -Werte) der unterschiedlichen Hackfleischproben des 2. Hauptversuches aufgezeigt. Auf der x-Achse ist der Untersuchungszeitraum in Untersuchungstagen angegeben, auf der y-Achse ist der dimensionslose Wert für den gemessenen Farbton Helligkeit ( $L^*$ -Wert) aufgetragen. Die einzelnen Punkte geben die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $\pm$  SD) aus den einzelnen

Proben an den einzelnen Tagen wieder (n=5). Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 29 im Tabellenanhang zu entnehmen.

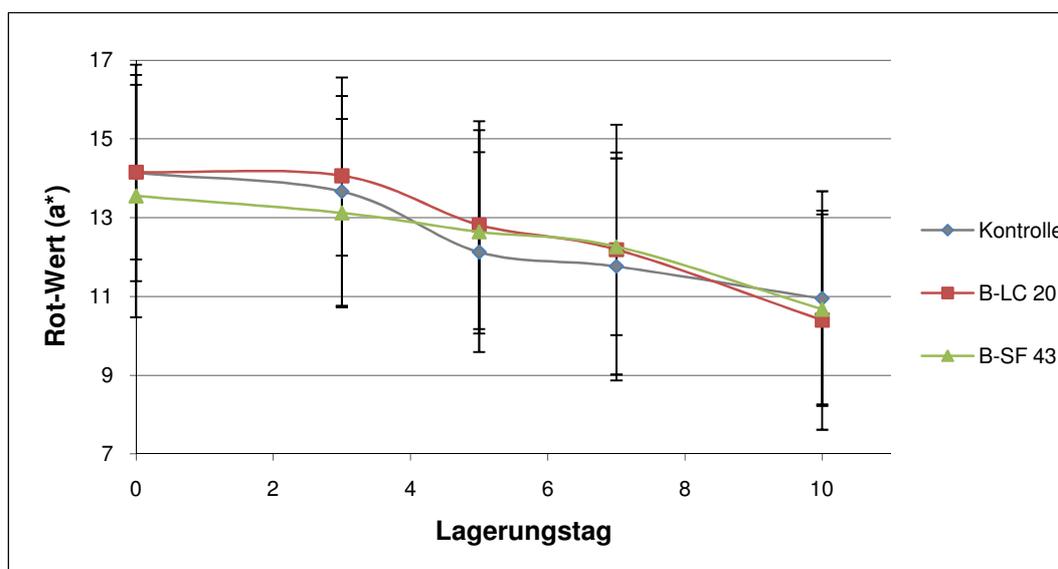
Die Helligkeitswerte in der Kontrollprobe und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen unterscheiden sich über den Lagerungsverlauf trotz erkennbarer Schwankungen zwischen den einzelnen Untersuchungstagen nur gering voneinander.

Die gemittelten L\*-Werte der Kontrollproben lagen am Herstellungstag bei  $52,23 \pm 1,78$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Kühlagerung bei  $+2\text{ °C}$  konnte ein kontinuierlicher, leichter Anstieg der Werte auf  $54,71 \pm 2,86$  beobachtet werden. Die Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wiesen am Herstellungstag L\*-Werte von  $51,89 \pm 1,35$  bzw.  $52,17 \pm 1,48$  auf.



**Abbildung 48: L\*-Werte der Instrumentellen Farbmessung in HVS 2**

Bis zum Ende der Lagerung stiegen diese Werte auf  $54,68 \pm 3,23$  bzw.  $55,42 \pm 2,27$ . Auch wenn zwischen den Werten der Kontrollproben und den Werten der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 am Ende der Lagerungszeit leichte Differenzen ersichtlich sind, so waren diese zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant.

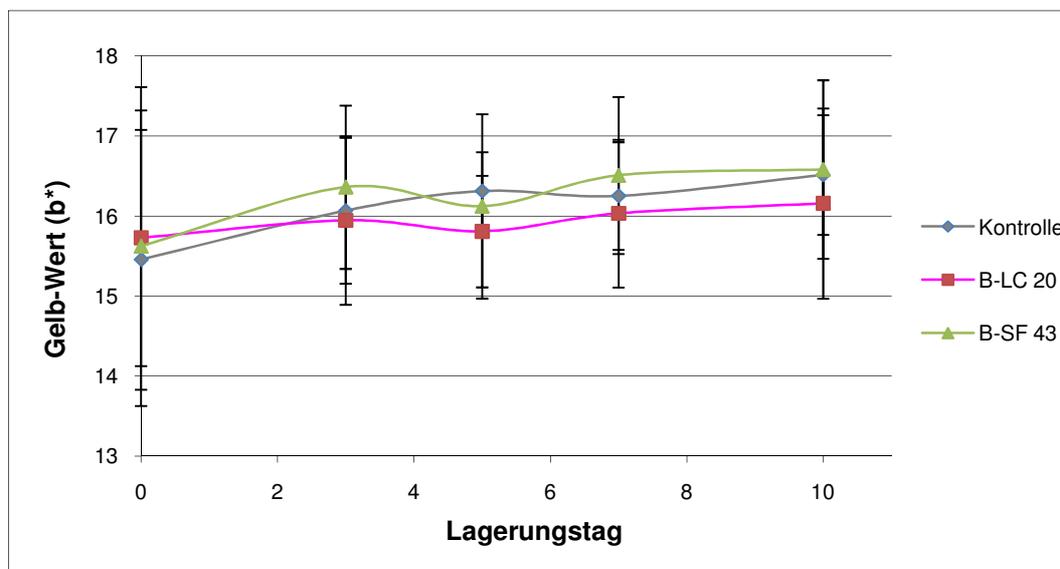


**Abbildung 49: a\*-Werte der Instrumentellen Farbmessung in HVS 2**

In Abbildung 49 ist der Verlauf der Rot-Werte ( $a^*$ -Werte) der verschiedenen Hackfleischproben des 2. Hauptversuches aufgezeigt. Auf der x-Achse ist die Zeit in Untersuchungstagen angegeben, auf der y-Achse ist der dimensionslose  $a^*$ -Wert aufgetragen. Die einzelnen Punkte geben die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $\pm$  SD) aus den einzelnen Proben an den einzelnen Tagen wieder ( $n=5$ ). Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 29 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Auch die Rot-Werte ( $a^*$ -Werte) der Kontrollproben und der Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen unterscheiden sich über den Lagerungsverlauf trotz erkennbarer Schwankungen zwischen den einzelnen Untersuchungstagen nur gering voneinander. Die gemittelten  $a^*$ -Werte der Kontrollproben lagen am Herstellungstag bei  $14,13 \pm 2,75$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei  $+2\text{ °C}$  konnte ein kontinuierlicher, leichter Abfall der Werte auf  $10,95 \pm 2,72$  beobachtet werden.

Die Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wiesen am Herstellungstag  $a^*$ -Werte von  $14,16 \pm 2,21$  bzw.  $13,55 \pm 3,07$  auf. Bis zum Ende der Lagerung stiegen diese Werte auf  $10,40 \pm 2,78$  bzw.  $10,67 \pm 2,41$ . Die Werte der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 weisen am Ende der Lagerungszeit leichte Differenzen zu den beiden anderen Proben auf, diese sind jedoch statistisch nicht signifikant. Lediglich an Untersuchungstag 5 konnten bezüglich der  $a^*$ -Werte zwischen den Kontrollproben und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) festgestellt werden.



**Abbildung 50: b\*-Werte Instrumentelle Farbmessung HVS 2**

In Abbildung 50 ist der Verlauf der Gelb-Werte ( $b^*$ -Werte) der unterschiedlichen Hackfleischproben des 2. Hauptversuchs aufgezeigt. Auf der x-Achse sind wiederum die Untersuchungstage angegeben, auf der y-Achse ist der dimensionslose  $b^*$ -Wert aufgetragen. Die einzelnen Punkte geben die Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $\pm$  SD) aus den einzelnen Proben an den einzelnen Tagen wieder ( $n=5$ ). Die einzelnen Werte des Diagramms sind der Tabelle 29 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Auch die Gelb-Werte ( $b^*$ -Werte) der Kontrollproben und der Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen unterscheiden sich über den Lagerungsverlauf trotz erkennbarer Schwankungen zwischen den einzelnen Untersuchungstagen nicht statistisch signifikant voneinander. Die gemittelten  $b^*$ -Werte der Kontrollproben lagen am Herstellungstag bei  $15,46 \pm 1,62$ . Über den Verlauf der 10-tägigen Kühllagerung bei  $+2\text{ °C}$  konnte ein kontinuierlicher, leichter Anstieg der Werte auf  $16,51 \pm 0,75$  beobachtet werden. Die

Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 wiesen am Herstellungstag  $b^*$ -Werte von  $15,73 \pm 1,60$  bzw.  $15,62 \pm 1,99$  auf. Bis zum Ende der Lagerung stiegen diese Werte auf  $16,16 \pm 1,19$  bzw.  $16,58 \pm 1,12$ . Die  $b^*$ -Werte der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 fallen, verglichen mit den Werten der beiden anderen Proben, am Ende der Lagerungszeit zwar etwas niedriger aus, aber auch die Differenzen dieser Werte waren zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant.

### 4.5.3 Sensorische Untersuchungsergebnisse

#### 4.5.3.1 Ergebnisse der Rangordnungsprüfungen

Die in dieser Arbeit durchgeführten Rangordnungsprüfungen wurden im Sinne der ISO-Norm 8587 als hedonische Prüfungen durchgeführt, in denen die Prüfer bezüglich der sensorischen Gesamtqualität der zu untersuchenden Hackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch ihre Präferenzen in einem Ranking angeben sollten. Bei der sensorischen Beurteilung der Proben sollten die Attribute „Aussehen in der Verpackung“, „Geruch“, „Farbe“, Geschmack“ und „Textur“ von den Prüfern berücksichtigt werden.

Aufgrund der formulierten Nullhypothese, dass „zwischen den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen und den Kontrollproben kein Unterschied erwartet“ wird, erfolgte die statistische Auswertung der Rangordnungsprüfung mit dem Friedmann-Test. Nach der Berechnung der Rangsummen und der statistischen Berechnung der Signifikanz, erfolgte ein zusätzlicher Paarvergleich der Proben, um nachzuweisen, dass zwischen den einzelnen Hackfleischproben, gemäß der formulierten Nullhypothese, keine statistisch signifikanten Unterschiede existieren.

In den Abbildung 51–56 sind die sensorischen Untersuchungsergebnisse der Rangordnungsprüfung der Hackfleischproben des 2. Hauptversuches während der 10-tägigen Lagerungszeit bei  $+2\text{ °C}$  dargestellt. Auf der x-Achse sind die in der Prüfung untersuchten Proben angegeben, die y-Achse stellt die gemittelten Probenränge  $\pm$  Standardabweichung ( $\pm$  SD) dar. Die einzelnen Werte der Diagramme sowie die approximierten kritischen Werte sind den Tabelle 32 und 33 bzw. 35 im Tabellenanhang zu entnehmen.

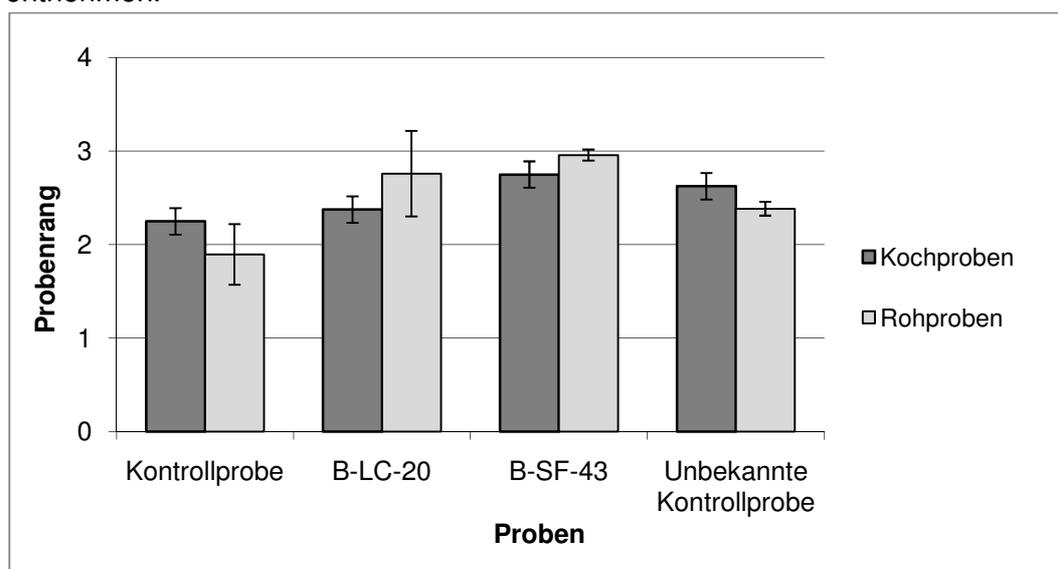


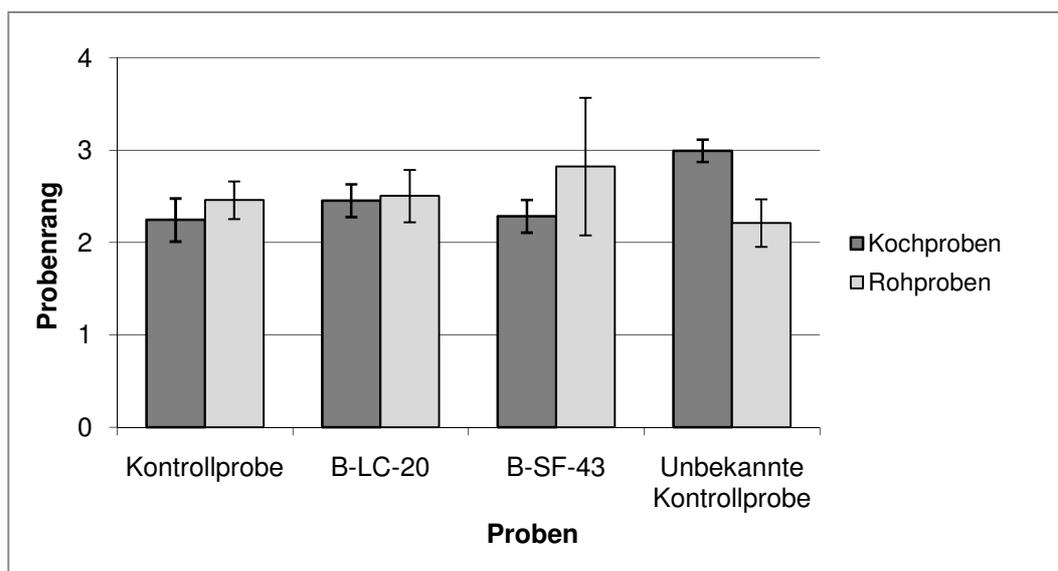
Abbildung 51: HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 0 (n = 3)

In Abbildung 51 ist die Auswertung der Rangordnungsprüfung am Herstellungstag der Hackfleischproben dargestellt. Die Graphik zeigt, dass die rohen Hackfleischproben zu Beginn des Untersuchungszeitraumes unterschiedliche Rangsummen aufweisen. Die Kontrollprobe (Produktstandard) wurde an Tag 0 von den Prüfern ( $n = 7$ ) präferiert und erzielte im Mittel den kleinsten Probenrang (1,9). Die unbekannte rohe Kontrollprobe erzielte die zweithöchste Präferenz (Rangmittel 2,4) bei den Prüfpersonen. Die Präferenzen der rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 (Rangmittel 2,8) bzw. B-SF 43 (Rangmittel 3,0) waren geringer, als die der beiden Produktstandards.

Der berechnete  $F$ -Wert von 2,52 war am Untersuchungstag 0 deutlich kleiner, als der approximierte kritische  $F$ -Wert von 7,62. Somit bestehen zwischen den rohen Hackfleischproben am Herstellungstag allgemein keine signifikanten Unterschiede. Der Paarvergleich der einzelnen Proben und die daraus resultierenden Einzelsignifikanzen ergaben, dass zwischen der bekannten und der unbekanntem Kontrollprobe keine signifikanten Unterschiede existierten, da die Differenz der Einzelproben kleiner als der berechnete kritische Wert gewesen ist. Zwischen den rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43 und der Kontrollprobe konnten dagegen statistisch signifikante Unterschiede ermittelt werden, da die Differenzen zur rohen Kontrollprobe größer waren, als der errechnete kritische Wert.

Die gekochten Hackfleischproben belegten am Herstellungstag sehr einheitliche Probenränge. Die Prüfer ( $n = 8$ ) präferierten die gekochte Kontrollprobe (Produktstandard) mit einem Rangmittel von 2,3. Das nächst höhere Rangmittel belegte die gekochte Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-LC 20 (2,4), vor der unbekanntem Kontrollprobe (2,6) und der gekochten Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 (2,8).

Der berechnete  $F$ -Wert der Friedmann-Statistik (0,75) für die gekochten Proben war am Untersuchungstag 0 deutlich kleiner, als der approximierte kritische  $F$ -Wert von 7,81. Somit bestanden zwischen den gekochten Hackfleischproben allgemein keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der Paarvergleich der einzelnen Proben und die daraus resultierenden Einzelsignifikanzen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den beurteilten Proben, da die Differenzen zur Kontrollprobe kleiner sind, als der errechnete kritische Wert.

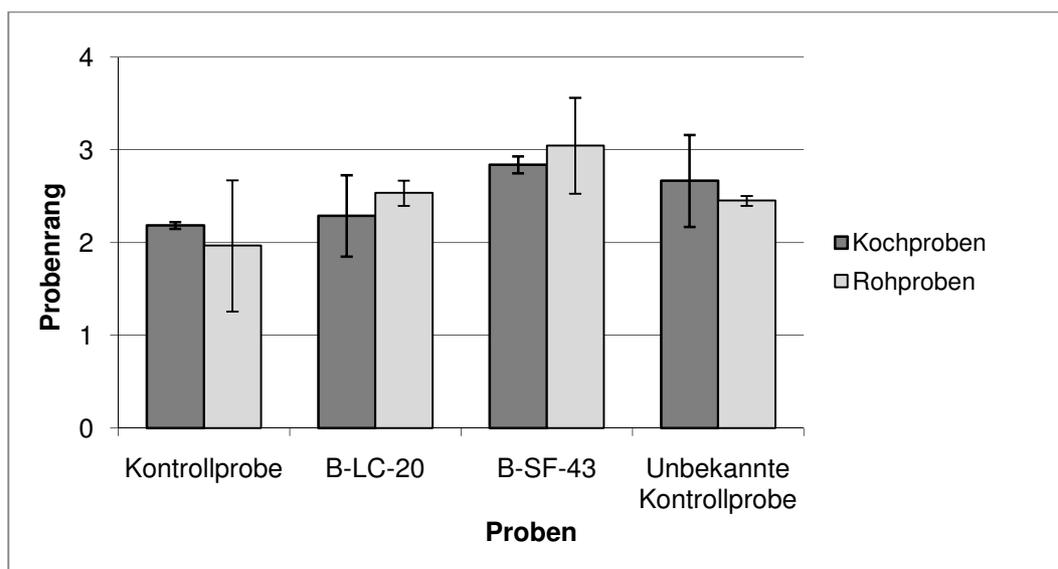


**Abbildung 52: HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 3 ( $n = 3$ )**

Die ermittelten Probenränge für den Untersuchungstag 3 erscheinen in der Abbildung 52 sehr einheitlich. Bezüglich der rohen Hackfleischproben wurde von den Prüfern ( $n = 8$ ) die unbekannte Kontrollprobe mit einem Rangmittel von 2,2 vor der bekannten Kontrollprobe (Rangmittel 2,5) präferiert. Die mit den Schutzkulturen B-LC 20 (Rangmittel 2,5) und B-SF-43 (Rangmittel 2,8) beimpften Hackfleischproben erzielten wieder etwas höhere Probenränge, als die beiden Produktstandards.

Die Auswertung der Friedmann'schen Statistik ergab einen  $F$ -Wert von 3,71, der deutlich kleiner ist, als der approximierte kritische  $F$ -Wert von 7,65. Der Friedmann-Statistik zufolge ergaben sich für den Untersuchungstag 3 keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden rohen Produktstandards. Auch zwischen dem rohen Produktstandard und der rohen Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-LC 20 ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede ermitteln. Die rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 wiesen dagegen signifikante Unterschiede gegenüber der bekannten Kontrollprobe auf. Der für die Probe B-SF 43 ermittelte Probenrang verbesserte sich zwar gegenüber dem Untersuchungstag 0, die Unterschiede blieben jedoch statistisch signifikant.

Auch die ermittelten Probenränge der gekochten Hackfleischproben waren am Untersuchungstag 3 sehr einheitlich. Bei den gekochten Proben wurde die bekannte Kontrollprobe (Rangmittel 2,25) von den Prüfern ( $n = 6$ ) vor den Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-SF 43 (Rangmittel 2,29) und B-LC 20 (Rangmittel 2,5) präferiert. Die unbekannte Kontrollprobe (Rangmittel 3,0), wurde von den Prüfern am geringsten präferiert. Der berechnete  $F$ -Wert der Friedmann'schen Statistik von 1,29 ist deutlich kleiner, als der approximierte kritische  $F$ -Wert von 7,60. Demnach ergab die berechnete Friedmann-Statistik für die gekochten Proben an Untersuchungstag 3 keine allgemeinen signifikanten Unterschiede zwischen den Hackfleischproben. Der Paarvergleich und die Betrachtung der Einzelsignifikanzen ergaben zwischen der bekannten gekochten Kontrollprobe und den gekochten Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20, bzw. B-SF 43 keine statistisch signifikanten Unterschiede. Zwischen der unbekanntem gekochten Kontrollprobe und der gekochten Kontrollprobe konnten dagegen signifikante Unterschiede ermittelt werden.



**Abbildung 53: HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 5 ( $n = 3$ )**

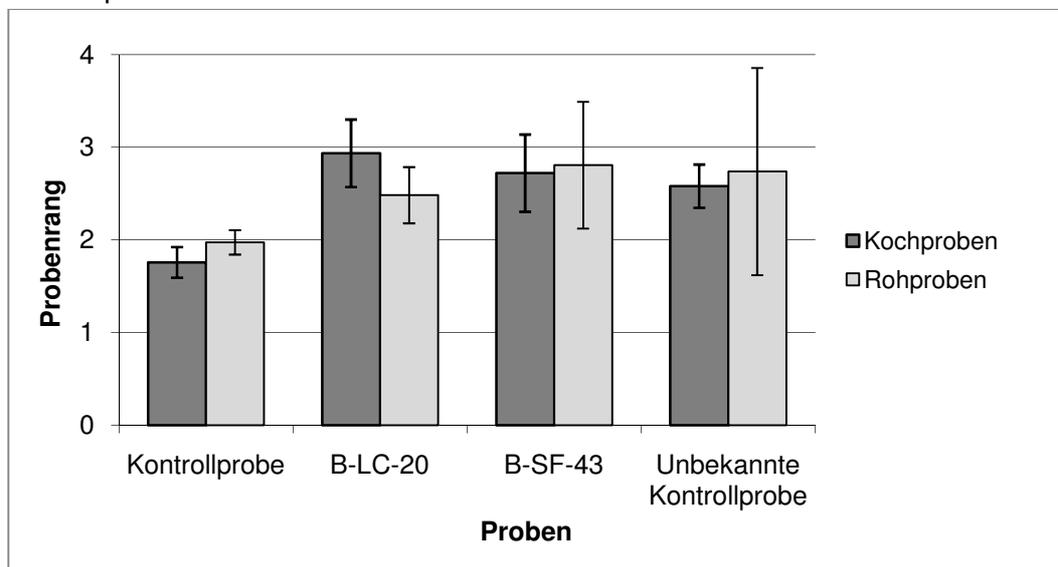
In Abbildung 53 ist die Auswertung der Rangordnungsprüfung am 5. Untersuchungstag dargestellt. Die bekannte rohe Kontrollprobe (Rangmittel 2,0) erzielte die höchste Präferenz

der beurteilten Proben. Deutliche höhere Rangmittel wurden für die unbekannte rohe Kontrollprobe (2,5) und die rohe Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 (2,5) errechnet. Den höchsten Probenrang und damit die geringste Präferenz der Prüfpersonen ( $n = 11$ ) erhielt die rohe Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-SF 43 (3,0).

Die Berechnung der Friedmann-Statistik ergab für den Untersuchungstag 5 einen  $F$ -Wert von 15,64, der deutlich über dem approximierten kritischen  $F$ -Wert von 7,81 lag, so dass signifikante Unterschiede zwischen den rohen Hackfleischproben bestanden. Die Berechnung der Einzelsignifikanzen im Paarvergleich ergab, dass zwischen dem unbekanntem rohen Standard sowie den rohen Hackfleischproben mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 statistisch signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrollprobe bestanden. Aufgrund der großen Differenz zur Kontrollprobe war die Ausprägung der einzelnen Signifikanzen im Paarvergleich der rohen Hackfleischproben und der mit der Schutzkultur B-SF43 beimpften Proben am höchsten.

Die gekochte Kontrollprobe (Rangmittel 2,2) wurde von den Prüfern ( $n = 10$ ) vor der gekochten Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 (Rangmittel 2,3) und der unbekanntem gekochten Kontrollprobe (Rangmittel 2,7) präferiert. Die Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 erhielt von den Prüfern den höchsten Probenrang (Rangmittel 2,8).

Der berechnete  $F$ -Wert der Friedmann-Statistik von 17,90 lag deutlich über dem approximierten kritischen  $F$ -Wert von 7,81. Demnach bestanden zwischen den gekochten Hackfleischproben signifikante Unterschiede. Der Paarvergleich der Proben und die Betrachtung der Einzelsignifikanzen ergaben, dass zwischen der gekochten Kontrollprobe und der gekochten Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 keine signifikanten Unterschiede existierten. Die unbekannte gekochte Kontrollprobe und die gekochte Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 wiesen dagegen signifikante Unterschiede zur gekochten Kontrollprobe auf.



**Abbildung 54: HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 7 ( $n = 3$ )**

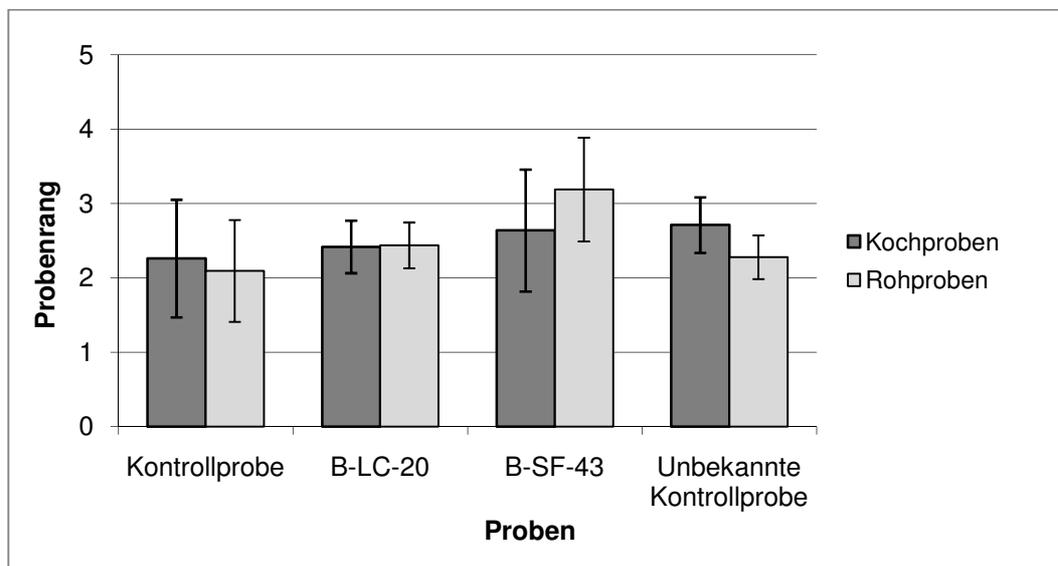
Die Probenränge der rohen Hackfleischproben wiesen an Untersuchungstag 7 (Abbildung 54) unterschiedliche Präferenzen auf. Die bekannte Kontrollprobe (Rangmittel 2,0) wurde von den Prüfern ( $n = 9$ ) präferiert. Die nächst höheren Rangmittel wurden für die rohen Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 (2,5) und den unbekanntem Produktstandard (2,7) errechnet. Die rohe Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 erhielt von den Prüfern den höchsten Probenrang (Rangmittel 2,8). Die ermittelten Probenränge der rohen

Hackfleischproben sind vergleichbar mit denen von Untersuchungstag 5. Zwischen den beiden Untersuchungstagen ließen sich keine sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede bzw. Abweichungen beobachten.

Der berechnete *F*-Wert der Friedmann-Statistik (12,80) war am Untersuchungstag 7 deutlich größer, als der approximierte kritische *F*-Wert von 7,81. Demnach ließen sich zwischen den rohen Hackfleischproben signifikante Unterschiede aufweisen. Der Paarvergleich der Proben und die Ermittlung der Einzelsignifikanzen zwischen den einzelnen rohen Hackfleischproben ergaben, dass zwischen der rohen Kontrollprobe und den übrigen rohen Proben (B-LC 20, B-SF 43 und unbekannte Kontrollprobe) signifikante Unterschiede existierten. Auch an Untersuchungstag 7 war die Differenz zwischen der rohen Kontrollprobe und der rohen Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 größten.

Bei den gekochten Proben wurde von den Prüfern ( $n = 8$ ) die Kontrollprobe (Rangmittel 1,8) vor der unbekanntem Kontrollprobe (Rangmittel 2,6) und der Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 (Rangmittel 2,7) präferiert. Den höchsten Probenrang vergaben die Prüfpersonen an die Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 (Rangmittel 2,9).

Der für die gekochten Proben berechnete *F*-Wert der Friedmann-Statistik von 15,50 erwies sich am Untersuchungstag 7 deutlich größer als der approximierte kritische *F*-Wert von 7,65. Somit bestanden zwischen den Proben statistisch signifikante Unterschiede. Der Paarvergleich und die Ermittlung der Einzelsignifikanzen zwischen den einzelnen Hackfleischproben ergaben, dass zwischen der gekochten Kontrollprobe und den anderen gekochten Proben (B-LC 20, B-SF 43 und unbekanntem Kontrollprobe) signifikante Unterschiede bestehen.



**Abbildung 55: HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 10 ( $n = 3$ )**

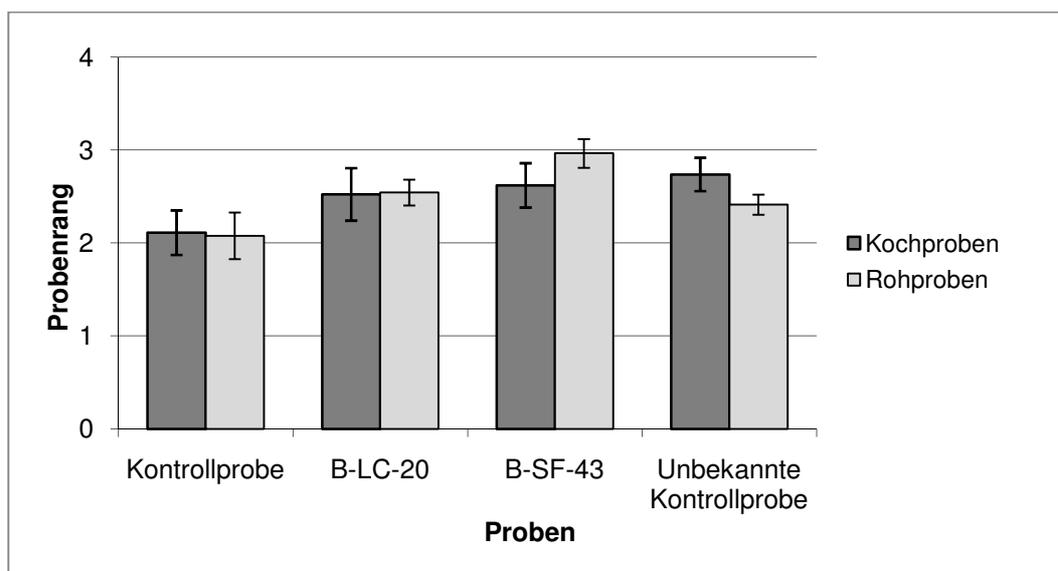
Zum Ende der Untersuchungen (Abbildung 55) wurden erneut für die rohe Kontrollprobe (Rangmittel 2,1) und die unbekanntem rohe Kontrollprobe (Rangmittel 2,3), die niedrigsten Probenränge ermittelt. Die mit den Schutzkulturen B-LC 20 bzw. B-SF 43 beimpften rohen Proben erhielten von den Prüfern ( $n = 9$ ) höhere Probenränge (Rangmittel 2,4 bzw. 3,2).

Der errechnete *F*-Wert von 4,37 war geringer, als der approximierte kritische *F*-Wert von 7,81. Demnach bestanden zwischen den rohen Hackfleischproben am 10. Untersuchungstag allgemein keine signifikanten Unterschiede. Der Paarvergleich und die Auswertung der Einzelsignifikanzen der Proben bestätigte, dass zwischen der rohen Kontrollprobe und der

unbekannten rohen Kontrollprobe, bzw. der rohen Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-LC 20, keine signifikanten Unterschiede bestanden. Zwischen der rohen Kontrollprobe und der rohen Hackfleischprobe mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten dagegen deutliche, und statistisch signifikante Unterschiede ermittelt werden.

Von den gekochten Proben wurde die bekannte Kontrollprobe (Rangmittel 2,3) vor den Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 (Rangmittel 2,4) und B-SF 43 (Rangmittel 2,6) von den Prüfern (n = 8) präferiert. Die unbekannte Kontrollprobe (Rangmittel 2,7) wurde von den Prüfern mit dem höchsten Probenrang bewertet.

Die Auswertung der Friedmann-Statistik zum Abschluss der Untersuchungen ergab für die gekochten Hackfleischproben einen *F*-Wert von 17,22. Dieser liegt deutlich über dem approximierten kritischen *F*-Wert von 7,62. Demnach bestehen an Untersuchungstag 10 zwischen den Proben statistisch signifikante Unterschiede. Der Paarvergleich und die Auswertung der Einzelsignifikanzen der Proben ergaben, dass zwischen der gekochten Kontrollprobe und der gekochten Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 keine signifikanten Unterschiede bestanden. Zwischen der gekochten Kontrollprobe und der unbekannt gekochten Kontrollprobe, bzw. der gekochten Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 konnten dagegen statistisch leicht signifikante Unterschiede ermittelt werden.



**Abbildung 56: HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch, Gesamtverteilung der Rangmittel aller Prüfzeitpunkte (n = 3)**

Die Betrachtung aller Untersuchungstage (Abbildung 56) zeigt, dass die bekannte Probe (Produktstandard) über den gesamten Zeitraum die höchsten Präferenzen erzielte. Bei den rohen Proben bewerteten die Prüfer die unbekannte Kontrollprobe mit dem zweitniedrigsten Rang. Darauf folgten dann die Proben mit den Schutzkulturen B-LC 20 und B-SF 43.

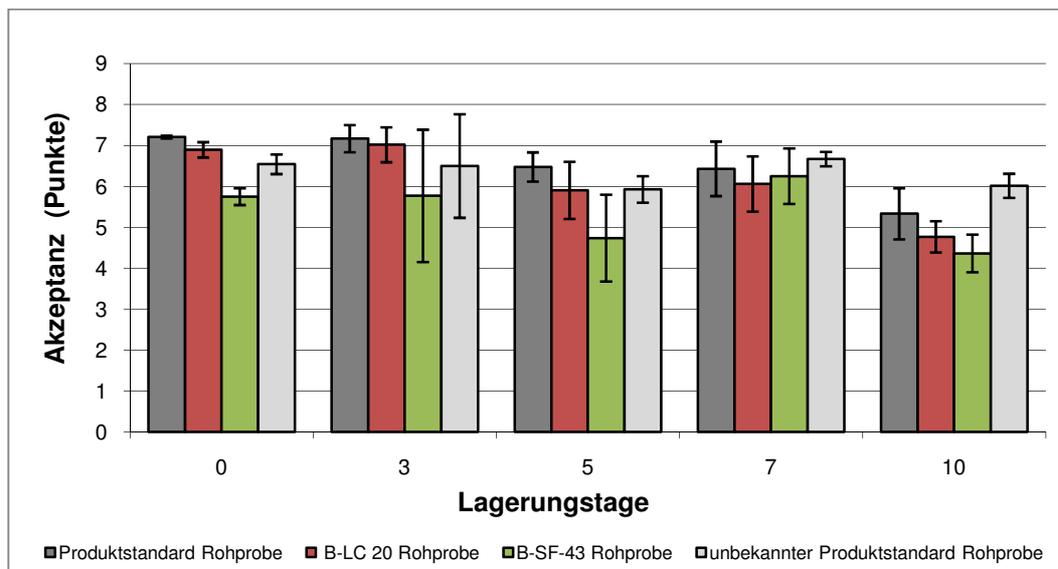
Bei der Bewertung der gekochten Proben vergaben die Prüfer an die Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 den zweitniedrigsten Probenrang und damit die zweithöchste Präferenz nach der Kontrollprobe. Die gekochte bekannte Kontrollprobe und die gekochte Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 erhielten von den Prüfern die höchsten Rangmittel.

#### 4.5.3.2 Ergebnisse des hedonischen Akzeptanz-Tests

In den Abbildung 57–61 sind die sensorischen Untersuchungsergebnisse des hedonischen Akzeptanz-Tests der Hackfleischproben des 2. Hauptversuches während der 10-tägigen

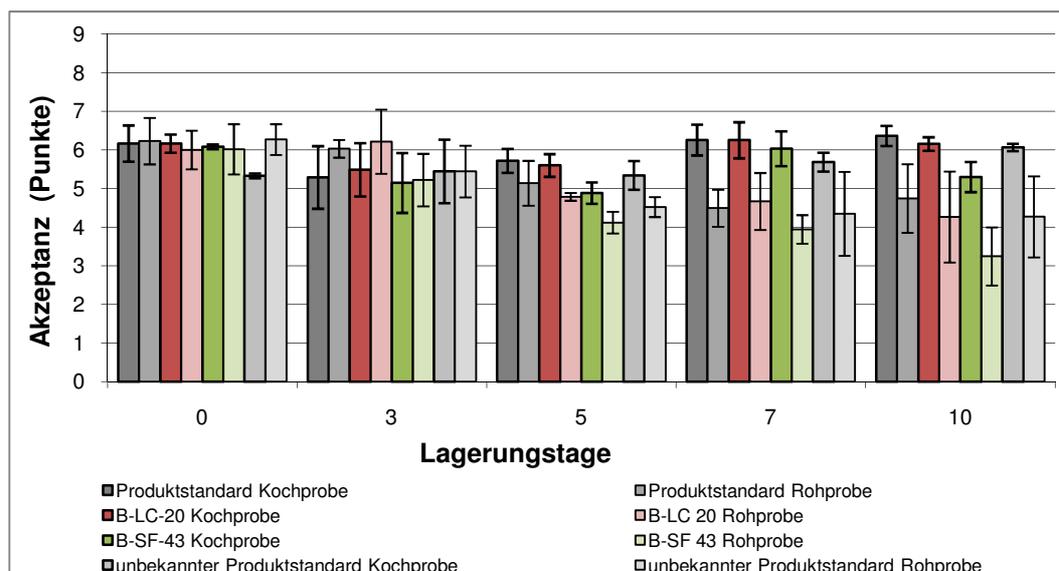
Lagerungszeit bei +2 °C dargestellt. Auf der x-Achse sind Lagerungs- und Untersuchungstage der Hackfleischproben angegeben, die y-Achse stellt die gemittelten Verbraucherakzeptanzen auf der hedonischen-9-Punkte-Verbalskala  $\pm$  Standardabweichung ( $\pm$  SD) dar. Die einzelnen Werte der Diagramme sind den Tabelle 30 und 28 im Tabellenanhang zu entnehmen.

Die Akzeptanzentwicklung der Verbraucher bezüglich des Attributes „Aussehen in der Verpackung“ (Abbildung 57) weisen bei allen Hackfleischproben im Untersuchungszeitraum einen ähnlichen Verlauf auf. Zu Untersuchungsbeginn wurden von den Prüfern alle Proben, mit Ausnahme der Probe „B-SF 43“ („gefällt etwas“), in Bezug auf die hedonische-9-Punkteskala mit „gefällt gut“ (7) bewertet. Im weiteren Untersuchungsverlauf sanken die Akzeptanzen der einzelnen Proben z.T. relativ stark ab. An Untersuchungstag 10 konnte für die Proben „Produktstandard“ und „B-LC 20“ die gleiche Verbraucherakzeptanz („weder noch“) festgestellt werden. Die Akzeptanz der Verbraucher bezüglich der Probe „unbekannter Produktstandard“ fiel im Verlauf der Untersuchungen etwas ab und erreichte zum Ende des Untersuchungszeitraumes die Kategorie „gefällt etwas“ (6). Die Hackfleischprobe „B-SF 43“ wurde zum Ende des Untersuchungszeitraumes von den Prüfern mit der Kategorie „gefällt weniger“ (4) bewertet.



**Abbildung 57: HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Aussehen in der Verpackung“**

Die Auswertung der ermittelten Akzeptanz der Hackfleischproben bei den Verbrauchern ergab über den gesamten Untersuchungszeitraum keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Proben „Produktstandard“ und den Proben „B-LC 20“ bzw. „B-SF 43“. Zwischen der Probe „B-SF 43“ und dem „Produktstandard“ konnten dagegen am Herstellungstag und am 5. Untersuchungstag statistisch signifikante Unterschiede festgestellt werden ( $p \leq 0,05$ ).



**Abbildung 58: HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Geruch“**

Die Akzeptanzentwicklung der Verbraucher bezüglich des Attributes „Geruch“ (Abbildung 58) weist bei allen rohen Hackfleischproben im Untersuchungszeitraum einen ähnlichen Verlauf auf.

Zu Untersuchungsbeginn wiesen alle rohen Proben, mit Ausnahme der Probe „unbekannter Produktstandard Rohprobe“, höhere Akzeptanzen der Prüfpersonen auf. In Bezug auf die hedonische-9-Punkte-Verbalskala entsprachen die Proben „Produktstandard Rohprobe“, „B-LC 20 Rohprobe“ und „B-SF 43 Rohprobe“ der Kategorie „gefällt etwas“. Die Verbraucherakzeptanz der Probe „unbekannter Produktstandard Rohprobe“ fiel zu Beginn der Untersuchungen etwas geringer aus und entsprach der Kategorie „weder noch“. Im weiteren Untersuchungsverlauf sanken die Akzeptanzen der einzelnen Proben nicht wesentlich ab. An Untersuchungstag 10 konnte für die Proben „Produktstandard Rohprobe“ und „B-LC 20 Rohprobe“ die gleiche Verbraucherakzeptanz festgestellt werden, wie zu Beginn der Untersuchungen. Die Akzeptanz der Verbraucher bezüglich der Probe „unbekannter Produktstandard Rohprobe“ stieg im Verlauf der Untersuchungen etwas an, und erreichte zum Ende des Untersuchungszeitraumes ebenfalls die Kategorie „gefällt etwas“. Die Hackfleischprobe „B-SF 43 Rohprobe“ wurde zum Ende des Untersuchungszeitraumes von den Prüfern mit der nächst tieferen Kategorie „weder noch“ bewertet.

Die Auswertung der ermittelten Akzeptanz der Hackfleischproben bei den Verbrauchern ergab über den gesamten Untersuchungszeitraum keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der rohen Probe „Produktstandard“ und den rohen Proben „B-LC 20“ bzw. „B-SF 43“. Die rohe Probe „B-SF 43“ wies dagegen am 10. Untersuchungstag einen statistisch signifikanten Unterschied zum „Produktstandard Rohprobe“ auf ( $p \leq 0,05$ )

Bezüglich der gekochten Hackfleischproben konnte festgestellt werden, dass sich die Akzeptanz der Prüfpersonen über den Verlauf der Untersuchung mit Ausnahme der Probe „B-SF 43 Kochprobe“ nicht signifikant geändert hat. Mit Ausnahme der Probe „unbekannter Produktstandard“ („weder noch“) wurden alle gekochten Hackfleischproben am Untersuchungsbeginn von den Prüfern mit „gefällt etwas“ (6) bewertet. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes erhielten mit Ausnahme der gekochten Probe „B-SF 43“ („weder noch“) alle anderen gekochten Hackfleischproben die Bewertung „gefällt etwas“ (6). Zwischen dem „Produktstandard“ und der Probe „B-SF 43“ konnten auch bei der Bewertung der Kochproben statistisch signifikante Unterschiede festgestellt werden ( $p \leq 0,05$ ).

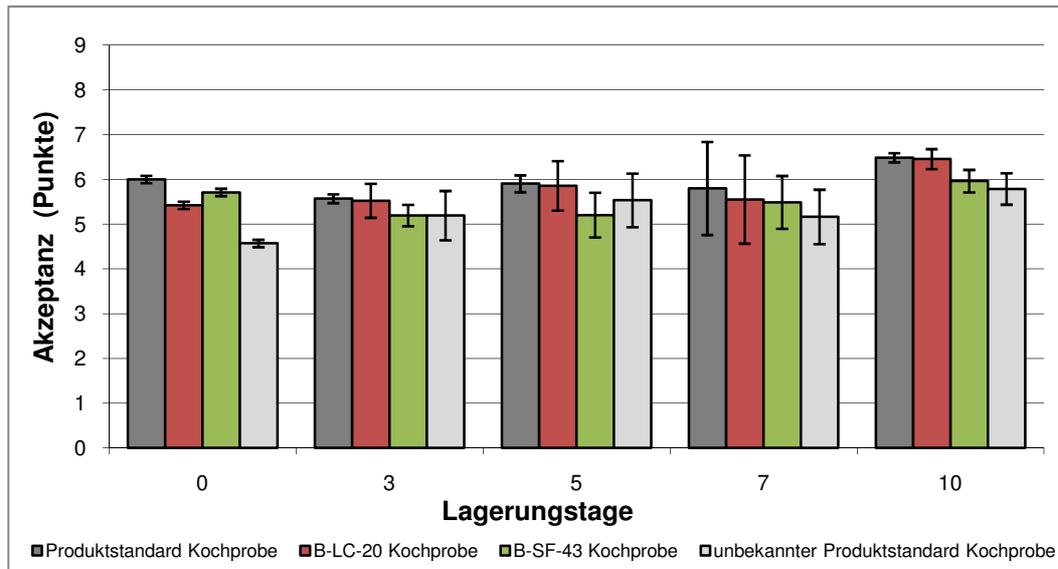


Abbildung 59: HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Geschmack“

Die Akzeptanz der Verbraucher bezüglich des Attributes „Geschmack“ der Hackfleischproben weist über den gesamten Untersuchungszeitraum ein konstantes, leicht ansteigendes Niveau auf (Abbildung 59).

Am Untersuchungstag 0 bewerteten die Prüfer die Proben „Produktstandard“ und „B-SF 43“ mit „gefällt etwas“ (6). Die etwas geringeren Bewertungen der Proben „unbekannter Produktstandard“ und „B-LC 20“ entsprachen der Kategorie „weder noch“ (5). Am Ende des Untersuchungszeitraumes stiegen die Bewertungen der Prüfer bei allen Hackfleischproben etwas an. Alle Hackfleischproben wurden am 10. Untersuchungstag von den Prüfern mit „gefällt etwas“ (6) bewertet. Statistisch signifikante Differenzen bezüglich des Geschmacks der Hackfleischproben ( $p \leq 0,05$ ) konnten am Lagerungstag 10 zwischen dem „Produktstandard“ und den Proben „B-SF 43“ sowie „unbekannter Produktstandard“ festgestellt werden.

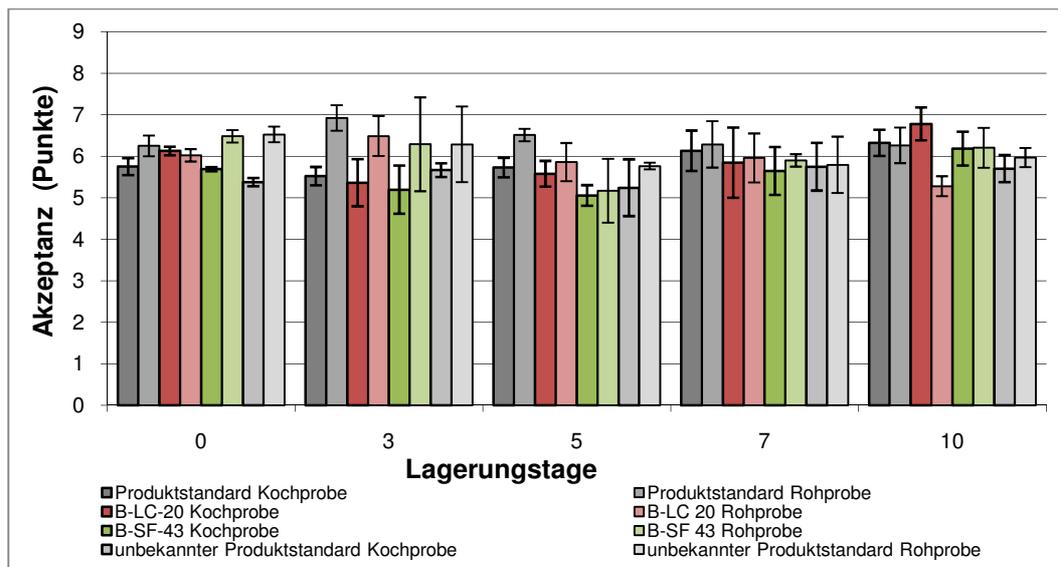


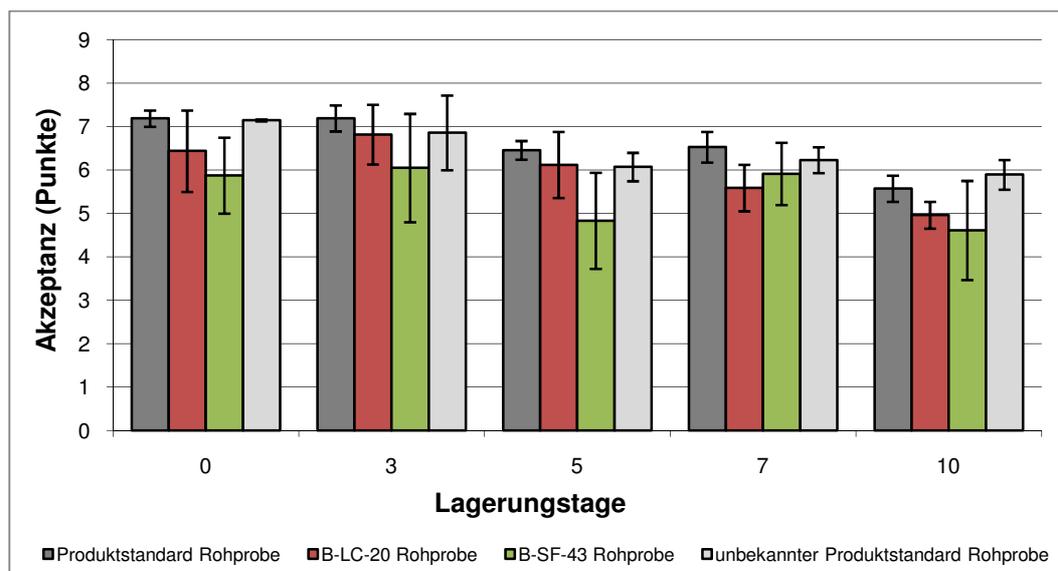
Abbildung 60: HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Textur“

Die Akzeptanz der Verbraucher bezüglich des Attributes „Textur“ der Hackfleischproben entwickelte sich, trotz ersichtlicher Unterschiede, über den gesamten Untersuchungszeitraum relativ konstant und einheitlich (Abbildung 60).

Am Herstellungstag wurden die rohen Proben „Produktstandard“, „unbekannter Produktstandard“ und „B-SF 43“ von den Prüfern mit „gefällt etwas“ (6) bewertet. Die Hackfleischprobe „B-LC 20“ erreichte in der Bewertung die nächst höhere Kategorie „gefällt gut“ (7). Am Ende der Untersuchungen bewerteten die Prüfer, mit Ausnahme der Probe „B-LC 20“ (weder noch), alle übrigen untersuchten rohen Hackfleischproben mit „gefällt etwas“ (6). Damit konnte bei den Proben „B-SF 43“ und „Produktstandard“ eine Stagnation der Prüferbewertungen festgestellt werden, wohingegen die beiden anderen rohen Hackfleischproben in der Bewertung gesunken sind.

Statistisch signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) bezüglich der Bewertungen konnten nur an Tag 5 zwischen dem „Produktstandard“ und dem „unbekannten Produktstandard“ festgestellt werden. Bezugnehmend auf die gekochten Hackfleischproben kann festgestellt werden, dass mit Ausnahme der Probe „B-LC 20“ an Untersuchungstag 0, keine der untersuchten Proben in der Bewertung statistisch signifikante Differenzen zum „Produktstandard“ aufweist. Auffällig ist, dass alle untersuchten Proben über den Untersuchungszeitraum in der Bewertung der Prüfer gestiegen sind.

Am Herstellungstag wurden mit Ausnahme des „unbekannten Produktstandards“ (5) alle Proben von den Prüfern mit „gefällt etwas“ (6) bewertet. Am Ende des Untersuchungszeitraumes wurde die Probe „B-LC 20“ von den Prüfern mit „gefällt gut“ (7) bewertet. Die übrigen Proben wurden im Mittel an Tag 10 mit „gefällt etwas“ (6) bewertet.



**Abbildung 61: HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Farbe“**

In Abbildung 61 ist die Bewertung der Prüfer bezüglich des Attributes „Farbe“ der Hackfleischproben dargestellt.

Auffällig ist auch bei der Auswertung dieses Attributs, dass trotz augenscheinlicher Unterschiede zwischen den einzelnen Proben und über den Untersuchungsverlauf keine statistisch signifikanten Differenzen bezüglich der Prüferbewertungen an den einzelnen Untersuchungstagen feststellbar waren.

Alle Proben wurden von den Prüfern am Ende des Untersuchungszeitraumes eine Kategorie schlechter bewertet, als zu Beginn der Untersuchungen. An Tag 10 bewerteten die Prüfer die beiden „Produktstandards“ im Mittel mit „gefällt etwas“ (6), die Proben „B-LC 20“ und „B-SF 43“ dagegen mit „weder noch“ (5). Die Probe „B-SF 43“ wurde an allen Untersuchungstagen, außer an Tag 7, am schlechtesten von den Prüfern akzeptiert. Die beiden „Standards“ wurden von den Prüfern über den Verlauf der Untersuchungen weitestgehend am besten

---

bewertet. Die Probe „B-LC 20“ wurde an Tag 3 sogar besser bewertet, als am Herstellungstag, fiel im Verlauf der Lagerung jedoch ebenfalls deutlich unter das Ausgangsniveau ab.

## 5. Diskussion

### 5.1 *Material*

#### 5.1.1 Rohstoff

Die im Projekt verarbeiteten Rohstoffe wurden von einem EU-zugelassenen, norddeutschen Geflügel-Schlachtbetrieb her- und zur Verfügung gestellt. Trotz der teilweise stark differierenden mikrobiologischen Anfangskeimbelastungen der einzelnen Fleischchargen und Fleischpartien erfüllten die Rohstoffe die mikrobiologischen Kriterien für Hackfleisch gemäß der VO (EG) Nr. 2073/2005.

#### 5.1.2 Eingesetzte Schutzkulturen

Die in diesem Projekt untersuchten Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> und B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> wurden von der Fa. Chr. Hansen (Hørsholm, Dk) bezogen und bis zu ihrer Verwendung bei -18 °C in einem Tiefgefrierschrank des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotoxikologie der Leibniz Universität Hannover gelagert. Beide Schutzkulturen sind Einstammkulturen und liegen in lyophilisierter Form vor.

B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> ist eine Stammkultur aus *Pediococcus acidilactici*. Als Bakteriozin produzierender Stamm hemmt er durch die Bildung von Pediocin insbesondere die Entwicklung von *Listeria monocytogenes* ssp. und anderer pathogener und verderbniserregender Mikroorganismen.

B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> ist eine Stammkultur aus *Leuconostoc carnosum* 4010. Als Bakteriozin produzierender Stamm hemmt er insbesondere die Entwicklung von *Listeria monocytogenes*. Darüber hinaus unterdrückt die Kultur das Wachstum verderbniserregender und pathogener Mikroorganismen, sowie die ursprünglich vorhandene Laktobazillenflora.

#### 5.1.3 Eingesetzte Marker-Mikroorganismen

Die in dieser Arbeit verwendeten Indikator-Mikroorganismen wurden gewählt, da durch den Verzehr mikrobiell kontaminierter Geflügelprodukte in Deutschland immer wieder lebensmittelassoziierte Zoonosen dokumentiert werden, die u.a. durch die hier eingesetzten Mikroorganismen hervorgerufen werden (vgl. 2.1.3 Geflügel als Träger und Überträger von Mikroorganismen).

Die in den Versuchen verwendeten Reinkulturen (*Campylobacter jejunii* (DSM 4688), *Lactobacillus casei* (DSM 20011), *Leuconostoc* (Q2 381), *Listeria monocytogenes* (DSM 20600), *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (DSM 5569), *Staphylococcus aureus* (DSM 799), *Staphylococcus carnosus* (DSM 20501) und *Staphylococcus xylosus* (DSM 20029) wurden der Stammsammlung des mikrobiologischen Labors des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotoxikologie entnommen.

In den Hauptversuchen wurden jeweils ca. 4 log KbE an *Campylobacter jejunii*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* und *Staphylococcus aureus* pro Gramm Hackfleisch in dieses inokuliert, um die antagonistischen Wirkungen der Schutzkulturen gegenüber sporadisch vorkommenden pathogenen Mikroorganismen quantifizieren zu können.

Die übrigen oben aufgeführten Stämme wurden für die Negativ- bzw. Positivkontrollen (*P. acidilactici*) beim molekularbiologischen Nachweis der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> mittels Polymerase-Kettenreaktion benötigt und verwendet.

---

## 5.2 Methoden

### 5.2.1 Transport von Rohstoff und Hackfleisch

Der Transport der verarbeiteten Rohstoffe erfolgte in einem Fahrzeug der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover unter gekühlten Bedingungen ( $\leq +4$  °C) in sterilen Transportbehältern aus PVC mit Deckel und dauerte durchschnittlich 2 Stunden. Zum Ausschluss von Restrisiken bezüglich der Einhaltung der Kühlkette wurden die Transportbehälter zusätzlich mit Trockeneis gekühlt. Zur Vermeidung von Gefrierbrand und damit verbundenen Qualitätsverlusten wurde der direkte Kontakt zwischen Rohstoff und Eis vermieden.

Nach Ankunft im Technikum der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover wurde die Kerntemperatur der Rohstoffe gemessen. Die Auswertung der Daten ließ keine Temperaturerhöhung der Rohstoffe erkennen. Die durchschnittliche Kerntemperatur betrug nach der Anlieferung in Hannover ca.  $+1,5$  °C. Bis zur weiteren Verarbeitung wurden die Rohstoffe in einem Kühlhaus ( $+2$  °C) der Stiftung Tierärztliche Hochschule gelagert.

Nach der Herstellung und Verpackung der Hackfleischproben wurden diese, ebenfalls unter Kühlbedingungen, in das Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover transportiert. Dort angekommen, wurden die Hackfleischproben in einem Kühlschrank des Technikums bei  $+2$  °C gelagert, und es wurde erneut stichprobenartig die Kerntemperatur in den Hackfleischpackungen erfasst. Die durchschnittliche Kerntemperatur betrug zu diesem Zeitpunkt ca.  $+3,5$  °C. Die Temperaturdifferenz lässt sich durch den relativ geringen Packungsinhalt erklären, der eine schnelle Erhöhung der Kerntemperatur während des 30-minütigen Transportes ermöglichte.

### 5.2.2 Herstellung des Hackfleisches

Zur Herstellung des Hackfleisches wurden in den einzelnen Versuchsreihen (VVS, HVS 1 und HVS 2) unterschiedliche Rohstoffe verwendet. In den Vorversuchen wurde als Rohstoff grob entsehnte und enthäutete Putenbrust verwendet. In Hauptversuch 1 wurde als Rohstoff Putenflügelfleisch verwendet. In Hauptversuch 2 wurde das Hackfleisch aus grob entsehntem Putenoberkeulenfleisch hergestellt.

Das in den Versuchen hergestellte Hackfleisch wurde nach den Leitsätzen für Fleisch und Fleischerzeugnisse hergestellt. Um die Auswirkungen der Schutzkulturen auf die mikrobiologische und sensorische Produktqualität untersuchen zu können, wurde auf die Zugabe von NaCl und anderen Zusätzen verzichtet, da diese das Wachstum der Mikroorganismen beeinflussen. Auch auf die Einstellung weiterer Parameter, wie z.B. den Fettgehalt, wurde bei der Herstellung verzichtet, da diese die Auswirkungen der Schutzkulturen auf die Qualität des Produktes nur untergeordnet beeinflussen.

### 5.2.3 Applikation der Schutzkulturen

Die Auswertung der Ergebnisse der Vorversuche bestätigte, dass die vom Hersteller empfohlene Dosierung ( $0,25$  g Schutzkultur / kg Hackfleisch) bereits am Herstellungstag einen Nachweis von im Produkt befindlichen Milchsäurebakterien in Keimzahlen von mehr als  $10^6$  KbE/g Hackfleisch ermöglicht. Diese Keimzahlen entsprechen den in der Literatur angegebenen Mindestkonzentrationen, um eine protektive Wirkung der Schutzkulturen zu gewährleisten (ELSSER und NEUMEYER 1997).

Die Untersuchungen zur Etablierung einer geeigneten Applikationsmethode haben ergeben, dass zwischen den angewendeten Methoden, bezüglich der nachgewiesenen Schutzkulturen in den Hackfleischproben, keine statistisch signifikanten Unterschiede festzustellen waren. In

allen untersuchten Proben konnte bereits am Herstellungstag eine relativ einheitliche Verteilung der Schutzkulturen in den Hackfleischproben nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der Vorversuche rechtfertigten, dass die verwendeten lyophilisierten Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ dem Fleisch in den Hauptversuchen vor dem Mischen und Wolfen in gefriergetrockneter Form und in Konzentrationen von 0,25 g / kg zugegeben werden. Der anschließende Mischvorgang, der in den Versuchen mittels einer Küchenmaschine simuliert wurde, gewährleistete eine gleichmäßige Verteilung der Kulturen im Fleisch, bevor dieses im weiteren Verarbeitungsprozess gewolft und verpackt wurde.

#### **5.2.4 Verpackung**

Der Einsatz modifizierter Atmosphären bei der Kühlung von frischem Geflügelfleisch und Geflügelfleischerzeugnissen zur Stabilisierung der mikrobiologischen und sensorischen Produktqualitäten ist mittlerweile eine weitverbreitete und vielfach angewandte Haltbarmachungsmethode (FARBER 1990, FELLOWS 2000). Von integraler Bedeutung sind bei der MAP-Verpackung neben den eingesetzten Gasen bzw. Gasgemischen die Verbundmaterialien der Verpackung, die ein konstantes Gasvolumen bzw. eine konstante Zusammensetzung der Gasatmosphäre gewährleisten. In den während des Projektes durchgeführten Versuchen wurden aus diesem Grund handelsübliche Polypropylen-Schalen verwendet, die mit einer Verbundfolie aus Polyethylterphthalat und Polyvinylidenchlorid versiegelt wurden. Die Verpackung und Versiegelung der Hackfleischproben erfolgte mit einer automatischen Schalenversiegelungsmaschine. Die vollautomatische Verpackung ist eine in der Praxis angewandte Technologie und gewährleistet eine Übertragbarkeit der erzielten Ergebnisse auf den industriellen Produktionsprozess. (Die Daten der verwendeten Verbundmaterialien sind dem Anhang zu entnehmen).

#### **5.2.5 Eingesetztes Schutzgas-Gemisch**

Für die Herstellung einer modifizierten Atmosphäre im Kopfraum der Verpackung wurde ein Schutzgasgemisch aus Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) verwendet. Das Mischungsverhältnis der Volumenanteile betrug 70/30. Da es sich bei dem hergestellten Hackfleisch um ein Frischfleischprodukt handelt und aufgrund des, im Vergleich zu Rindfleisch, geringeren Myoglobingehaltes von Putenfleisch, wurde ein Gasgemisch mit einem relativ hohen Sauerstoffanteil gewählt. Die Datenlage in der Literatur (FORMANEK et al. 1998, KERRY und O'GRADY et al. 2000) und aus vorangegangenen Untersuchungen an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (JOSUPEITS und STROTMANN 2006) rechtfertigt den hohen Sauerstoffanteil mit einer besseren und länger anhaltenden Farbstabilisierung der verpackten Produkte (FISCHER und HAMMES et al. 1983). Das eingesetzte Kohlendioxid hat auf die Farbstabilisierung nur untergeordneten Einfluss. Vielmehr trägt es zur Inhibierung des Wachstums verderbniserregender bzw. pathogener Mikroorganismen bei (MANU-TAWIAH et al. 1993, HARRISON et al. 2000).

#### **5.2.6 Dotierung und Verteilung von pathogenen Mikroorganismen**

In den Hauptversuchen, in denen die Hackfleischproben mit pathogenen Mikroorganismen inokuliert wurden, war eine homogene Verteilung der Mikroorganismen nach der Dotierung des Hackfleisches für den weiteren Versuchsaufbau eine grundlegende Voraussetzung. Vor allem bei der Dotierung von niedrigen Keimzahlen besteht die Gefahr einer inhomogenen Verteilung der Inokuli im Produkt. Um dies zu vermeiden und um reproduzierbare Ergebnisse

zu erzielen, wurden die Lagerungsversuche mit pathogenen Markerorganismen geringfügig modifiziert.

Das frisch hergestellte Hackfleisch wurde in Portionsgrößen von 20 g in sterile und gefrierstabile PVC-Behälter mit Schraubverschluss überführt und für die Dauer von 14 Tagen bei -80 °C schockgefroren. Durch die subletale Schädigung der produktspezifischen Mikroorganismen konnte zum Einen eine Reduzierung des Ausgangskeimgehaltes erreicht werden. Zum Anderen konnten eventuelle Kreuzkontaminationen, die beim Verpacken des Hackfleisches aufgetreten sind, relativiert werden. Nach 14 Tagen wurden die Probengefäße aus dem Tiefgefrierschrank entnommen und bei +2 °C aufgetaut. Im Anschluss wurden die Schutzkulturen ( $10^6$  KbE/g) und die Marker-Mikroorganismen ( $10^4$  KbE/g) in die Proben inokuliert. Die Verpackung der Proben erfolgte, wie bereits beschrieben, ohne weiteren direkten Kontakt mit dem Fleisch. Das inokulierte Hackfleisch wurde zusammen mit dem Probengefäß (mit leicht geöffnetem Deckel) in die MAP-Schalen verbracht und an der Schalenversiegelungsmaschine unter modifizierter Atmosphäre verpackt. Die Lagerung der Proben erfolgte wie bereits beschrieben. Die Kontrollproben ohne Schutzkulturen wurden, zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse, auf dieselbe Weise präpariert.

Der entscheidende Vorteil dieser Herstellungs- und Verpackungsvariante war, dass die Verteilung der Mikroorganismen im Hackfleisch nur eine untergeordnete Rolle spielt, da bei der mikrobiologischen Untersuchung die gesamte Probe (20 g) untersucht wurde. Die 20 g Hackfleisch wurden in 225 ml NaCl / Pepton-Lösung mittels Beutel-Walk-Mischer homogenisiert und standen für die weiteren Untersuchungsschritte zur Verfügung, ohne das Risiko einer inhomogenen Keimverteilung im Untersuchungsobjekt, welche zu ungenauen Ergebnissen hätte führen können. Der durch die Modifizierung veränderte Gas-Partialdruck über dem Hackfleisch wurde bei der Auswertung der Ergebnisse allerdings nicht mit berücksichtigt.

### **5.2.7 Lagerung der Hackfleischproben**

Frisches Geflügelhackfleisch ist nach den Leitsätzen für Fleisch und Fleischerzeugnisse und zur Gewährleistung des Verbrauchsdatums bei +2 °C zu lagern. Für die Lagerung von Fleischzubereitungen im Sinne der VO (EG) 853/2004 ist eine maximale Kerntemperatur von +4 °C vorgeschrieben. Für die Untersuchungen in den Hauptversuchen dieses Projektes wurde aus diesen Gründen eine Lagertemperatur von +2 °C gewählt.

Nach WALSH et al. (2002) stellen vor allem die Einhaltung der Kühlkette und die Gewährleistung einer Kerntemperatur von max. +2 °C wesentliche Kriterien für die Stabilisierung der mikrobiologischen und sensorischen Produktqualität dar.

### **5.2.8 Kulturelle Nachweismethoden**

Die kulturellen Nachweise der untersuchten Mikroorganismen wurden entsprechend den Referenzmethoden, wie in Abschnitt 3 beschrieben, durchgeführt. Da die Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB kein Verfahren für die Bestimmung von *Brochotrix thermosphacta* beschreibt, erfolgte der Nachweis in Anlehnung an die Methode nach HECHELMANN (1981).

Die verwendeten Methoden sind bei der mikrobiologischen Untersuchung von Fleisch und Fleischprodukten allgemein übliche und angewandte Verfahren, mit einem hohen Reproduktionspotenzial. Die Verwendung von Selektiv- bzw. chromogenen Nährmedien ermöglichte eine schnellere und präzisere Identifizierung der zu untersuchenden Mikroorganismen, als bei konventionellen Methoden. Trotz der, im Vergleich zu

---

konventionellen Medien, höheren Materialkosten rentiert sich der Einsatz, da auf langwierige und kostenintensive Zusatzuntersuchungen in der Regel verzichtet werden kann.

#### **5.2.8.1 Nachweis der aeroben Gesamtkeimzahl**

Auf den Nachweis der psychrotrophen aeroben Gesamtkeimzahl wurde im Rahmen der in dieser Arbeit beschriebenen Versuche verzichtet, da die Ergebnisse der Vorversuche bezüglich des Nachweises von psychrotrophen bzw. mesophilen aeroben Gesamtmikroorganismen keine statistisch signifikanten Unterschiede im Nachweis der jeweiligen Keimzahlen erbracht haben. Aus diesem Grund und aus Kostengründen wurde in den folgenden Versuchen nur noch die Keimzahl der aeroben mesophilen Gesamtmikroorganismen bestimmt.

#### **5.2.8.2 Nachweis von anaerob wachsenden Laktobazillen**

Auch auf den Nachweis von anaerob wachsenden Laktobazillen wurde nach Auswertung der Voruntersuchungen verzichtet, da auch diese ermittelten Keimzahlen keinen signifikanten Unterschied zu den nachgewiesenen Keimzahlen der aerob wachsenden Milchsäurebakterien erkennen ließen.

Zudem wurde das Hackfleisch unter einer modifizierten Atmosphäre verpackt, die einen prozentualen Sauerstoffanteil von 70 % hat. Es ist demnach auszuschließen, dass unter diesen Bedingungen obligat anaerobe Mikroorganismen ihren Stoffwechselmetabolismus aufrechterhalten können. In den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen wurde aus diesen Gründen nur der Nachweis von Milchsäurebakterien gemäß der Methode nach L 06.00-35 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB durchgeführt.

### **5.2.9 Physikalische Nachweismethoden**

#### **5.2.9.1 Messung der Temperatur**

Die Lagerungstemperatur eines Lebensmittels ist der wichtigste Einzelfaktor, der den mikrobiologischen Status direkt beeinflusst (JACKSON et al. 1997). Neben der Beeinflussung des mikrobiellen Wachstums bewirkt eine konsequente Reduzierung der Temperatur während der Lagerung gleichzeitig die Erhaltung von Farbe, Konsistenz, Geschmack und Geruch des Lebensmittels und somit wichtiger lebensmittelspezifischer und sensorischer Produktparameter (ERSCHIG 1984).

Aus diesem Grund wurde die Kerntemperatur der Rohstoffe und des gelagerten Hackfleisches über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C gemessen, um zu garantieren, dass die Untersuchungsergebnisse nicht durch eine unbeabsichtigte Unterbrechung der Kühlkette beeinflusst werden. Die Temperaturmessungen wurden gemäß der Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB durchgeführt.

#### **5.2.9.2 Messung des pH-Wertes**

Die Reduzierung des pH-Wertes kann die mikrobiologische Qualität entscheidend stabilisieren und somit die Haltbarkeit verlängern (KRÄMER 2002). Neben dem Einsatz von Genusssäuren stellt die mikrobiologische Säuerung von Lebensmitteln eine häufig praktizierte Methode zur Konservierung dar. Milchsäurebakterien metabolisieren zum Teil nicht unerhebliche Säuremengen, die eine starke Reduzierung des pH-Wertes im Produkt

bewirken. Allerdings kann eine zu starke Säuerung zu unerwünschten sensorischen Qualitätseinbußen führen (LÜCKE und TROEGER 2007), so dass ihrem Einsatz im Frischfleischbereich enge Grenzen gesetzt sind. Anhand von pH-Wert-Messungen über den Lagerungsverlauf, gemäß Methode L 06.00-2 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, sollte untersucht werden, welche Veränderungen der Einsatz von Schutzkulturen bezüglich des pH-Wertes bewirkt.

### 5.2.9.3 Messung des $a_w$ -Wertes

Der  $a_w$ -Wert eines Lebensmittels stellt ebenfalls eine wichtige Kenngröße für die mikrobiologische Stabilität dar. Da die Schutzkulturen dem frisch hergestellten Hackfleisch in Form von gefriergetrockneten Kulturen zugegeben wurden, und dies unter Umständen Einfluss auf den  $a_w$ -Wert der Hackfleischproben hat, wurde über den Lagerungsverlauf auch die Wasseraktivität in den Proben untersucht. Die ermittelten Werte der Proben differieren über den gesamten Untersuchungszeitraum nur sehr geringfügig. Differenzen konnten nur im Bereich der 3. Nachkommastelle ermittelt werden. Diese liegen deutlich unter der Messfehlertoleranz des Messgerätes (0,005). Die getroffenen Aussagen bezüglich der ermittelten  $a_w$ -Werte müssen demnach relativiert werden.

### 5.2.10 Chemische Untersuchungen

Die Analyse der chemischen Zusammensetzung erfolgte nach den Methoden der Amtlichen Sammlung § 64 LFGB bzw. nach in der wissenschaftlichen Literatur beschriebenen Verfahren, um eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Die chemische Bestimmung von Asche, Trockensubstanz, Gesamtfett, Rohprotein und Hydroxiprolin wurde von der Stiftung Tierärztliche Hochschule jeweils zu Beginn der Untersuchungen durchgeführt, um die Auswirkung der Verwendung unterschiedlicher Rohstoffe auf die chemische Zusammensetzung des Fleisches zu dokumentieren.

Zu diesem Zweck wurden Putenbrust-, Putenflügel- und Putenoberkeulenfleisch bezüglich ihrer chemischen Zusammensetzung analysiert. Da zwischen den einzelnen Partien keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt worden sind, ist im Rahmen der Lagerungsversuche auf weitere Analysen verzichtet worden. Es wird somit kein Bezug zur Auswirkung von Schutzkulturen auf die chemische Zusammensetzung des Hackfleisches hergestellt.

### 5.2.11 Biochemische Nachweismethoden

Durch die Verwendung des API 50 CHL-Tests konnten die nachgewiesenen Milchsäurebakterien aus den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> relativ schnell der Schutzkultur zugeordnet werden. Allerdings sind diese Schnelltests verhältnismäßig teuer und im Vergleich mit der Polymerase-Kettenreaktion auch nicht so spezifisch, dass verlässliche und reproduzierbare Aussagen getroffen werden konnten. Die nachgewiesenen Milchsäurebakterien konnten zwar in fast allen Fällen der Schutzkultur zugeordnet werden, allerdings konnten auch oft Reaktionen auf dem Teststreifen beobachtet werden, die mit dem Reaktionsprofil des Referenzstammes *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) nicht übereinstimmten. Auch aus diesem Grund wurde eine zusätzliche Bestätigung mittels Polymerase-Kettenreaktion durchgeführt.

Auf den Nachweis von *Leuconostoc carnosum* wurde im Rahmen der hier beschriebenen Arbeit verzichtet, da diese Kultur (B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup>) nur als Vergleichskultur diene. Zudem kann aufgrund der erzielten Ergebnisse davon ausgegangen werden, dass die nachgewiesenen Milchsäurebakterien aus den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF

43 Bactoferm™ auf den Einsatz der Selben zurückführbar sind. Somit konnten die Kosten für den spezifischen Nachweis gespart werden.

### 5.2.12 Molekularbiologische Nachweismethoden

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (engl.: polymerase chain reaction = PCR) ist ein sicheres und schnelles Verfahren zum Nachweis von Nukleinsäuren der isolierten Milchsäurebakterien und ist in der mikrobiologischen Routineanalytik eine unverzichtbare Nachweismethode. Seit ihrer Erfindung durch Kary B. Mullis im Jahre 1983 wurde die PCR-Technik stetig weiterentwickelt. Sie bildet die Grundlage der molekularbiologischen Methoden, die eine Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes erfordern. Die Probenvorbereitung, die Durchführung der PCR und die Auswertung der Ergebnisse nehmen im Gegensatz zu kulturellen Nachweismethoden nur wenige Stunden in Anspruch und sind innerhalb eines Labortages zu verrichten. Durch den geringen zeitlichen Aufwand stellt die PCR in einem Labor eine Methode dar, die die simultane Bearbeitung zahlreicher Proben zu einem günstigen Preis pro Probe ermöglicht. Ein Nachteil der PCR gegenüber den klassischen kultivierungsabhängigen Methoden ist die Tatsache, dass der Nachweis nicht zwischen lebenden, physiologisch aktiven Keimen und physiologisch inaktiven oder bereits abgestorbenen Bakterienzellen zu unterscheiden vermag. Durch die Kombination von kulturellen und molekularbiologischen Methoden lässt sich dieser Nachteil jedoch relativieren. In der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB sind derzeit erst fünf PCR-Verfahren zum Nachweis von Mikroorganismen in Lebensmitteln aufgenommen. Für die Zukunft ist jedoch die Zulassung weiterer Nachweisverfahren zu erwarten (EHLER 2008).

Aus diesem Grund wurden die Aufbereitung der Proben und Isolierung der DNS, die Amplifizierung des genetischen Materials und die elektrophoretische Trennung in Anlehnung an die von MORA (1997) beschriebene Methode zum Nachweis von *Pediococcus acidilactici* auf Stammebene durchgeführt. Im Anschluss an die elektrophoretische Trennung wurden die Agarosegele in Ethidiumbromid-Färbelösung verbracht, um die Visualisierung der nachzuweisenden Banden unter UV-Licht zu ermöglichen. Alle verwendeten Reagenzien und Geräte sind dem Anhang zu entnehmen.

### 5.2.13 Instrumentelle Farbmessung

Während der Lagerung von frischem Geflügelhackfleisch haben die Gasatmosphäre und die Lagerungstemperatur einen wesentlichen Einfluss auf die Farbstabilität des Produktes (FISCHER und HAMMES et al. 1983, WALSH et al. 2002). Nach FARBER (1990) und BECKER (2000) vermittelt die rote Farbe eines Frischfleisch-Produktes dem Verbraucher den Eindruck von Frische und Schmackhaftigkeit, und stellt demnach ein für den Verbraucher entscheidendes Qualitätskriterium dar, welches die Kaufentscheidung sehr stark beeinflusst.

In der vorliegenden Arbeit sollte zudem untersucht werden, in welchem Umfang der Einsatz von Schutzkulturen die Farbe des Hackfleisches beeinflusst. Zu diesem Zweck wurde neben der sensorischen Bewertung der Farbe durch Prüfpersonen auch die instrumentelle Farbmessung mit einem Spektralphotometer durchgeführt. Während bei der sensorischen Beurteilung der Farbe des Geflügelhackfleisches die überwiegend subjektiven Eindrücke der Prüfpersonen dokumentiert werden, kann die Fleischfarbe anhand der ermittelten L<sup>\*</sup>-, a<sup>\*</sup>- und b<sup>\*</sup>-Werte objektiv bestimmt werden. Die instrumentelle Farbmessung nach CIE liefert numerische Daten, die auf internationalen Standards basieren und somit übertragbare und reproduzierbare Ergebnisse ermöglichen (FREUDENREICH et al. 2001, SCHEIDLE 2007).

Das Spektralphotometer ermöglichte die Messung mit drei verschiedenen großen Messöffnungen (5, 10 und 30 mm). Vor Beginn der Messungen wurden Probemessungen durchgeführt, die zur Auswahl der zukünftigen Messöffnung dienten. Die Schwierigkeit bei der Untersuchung von Hackfleischproben bestand darin, dass keine homogene Oberfläche vorhanden war. In Abhängigkeit von Fett und Bindegewebsanteilen im Fleisch schwankten die Messwerte in ihrer Helligkeit, sowie in der Intensität der Rotfärbung. Die Probemessungen führten zu dem Ergebnis, dass die Werte der kleinen (Durchmesser: 5 mm) und mittleren (10 mm) Messöffnung nicht einheitlich waren. Die große Messöffnung (30 mm) hingegen lieferte relativ einheitliche Messwerte, somit wurde die größte Messöffnung für die Messungen ausgewählt. Die Kalibrierung des Spektralphotometers erfolgte mit einem Weiß- und Schwarzabgleich. Zu Beginn der Messung wurde mit jeder Probe zuerst eine Bezugsmessung durchgeführt. Zum einen diente der Bezug der späteren Einordnung der gemessenen Werte, zum anderen wurden auf der Grundlage des Bezugs weitere Werte, wie z.B. die der Standardabweichung oder der Varianz automatisch berechnet. Um möglichst aussagekräftige Werte zu erhalten, wurden die Werte nach jeweils fünf Messpunkten gemittelt. Nach der Ermittlung von fünf Mittelwerten wurde die Hackfleischprobe gewendet und die Messung auf der anderen Seite ebenfalls durchgeführt. Nach Beendigung der Messungen existierten 10 Mittelwerte pro Hackfleischprobe, d.h., dass insgesamt 50 Punktmessungen pro Probe durchgeführt wurden.

### **5.2.14 Sensorische Untersuchungen**

Zur Beurteilung der sensorischen Produktqualität von frischem MAP-gelagertem Geflügelhackfleisch wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit analytische und hedonische Untersuchungen durchgeführt. Zur Absicherung der Ergebnisse wurden im Verlauf des Projektes unterschiedliche Prüfverfahren angewendet. Für die analytischen Prüfverfahren wurden geschulte Prüfer eingesetzt, für die hedonische Beurteilung der Prüfproben wurden dagegen ungeschulte Prüfpersonen (Studierende der LUH) rekrutiert. Hintergrund der unterschiedlichen Prüfverfahren war es, neben der analytischen Bewertung durch geschulte Panellisten auch die Verbraucherpräferenz bzw. -akzeptanz bezüglich der jeweiligen Hackfleischproben zu ermitteln.

Die Schulung der Prüfer erfolgte gemäß der DIN EN ISO-Norm 8586-2.

Die Untersuchungen zur sensorischen Produktqualität wurden in einem Prüfraum des Institutes für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover durchgeführt. Der Prüfraum erfüllte die Mindestanforderungen für Prüfräume gemäß der DIN EN ISO-Norm 8586-2.

Die Vorbereitung und Darreichung der Prüfproben erfolgte gemäß den DIN-Normen der jeweilig durchgeführten sensorischen Prüfungen. Die Prüftechnik war vom jeweiligen Prüfverfahren abhängig und wurde entsprechend den normativen Verweisen durchgeführt.

Die statistische Auswertung der jeweiligen Prüfverfahren erfolgte gemäß den normativen Verweise der angewendeten Prüfungen.

#### **5.2.14.1 Rangordnungsprüfung in Anlehnung an ISO 8587**

Die Rangordnungsprüfungen wurden im Sinne der ISO 8587 als hedonische Prüfungen durchgeführt, da die Intention bei der Bewertung der Hackfleischproben darin begründet war, die Präferenz der Prüfer für die Hackfleischproben an den verschiedenen Lagertagen festzustellen. Dabei wurden keine Einzelmerkmale analysiert, sondern die Präferenz für das Produkt im Allgemeinen. Die Bewertung durch die Prüfer beinhaltete sowohl das rohe, als

auch das gekochte Hackfleisch, da dieses, als Risikolebensmittel eingestufte Produkt in der Regel nur durchgegart verzehrt wird.

Da die ISO 8587-2006 vorschreibt, dass für die statistische Absicherung von hedonischen Prüfungen eine Verbraucherstichprobe von mindestens 60 Personen erforderlich ist, und in der hier vorgelegten Untersuchung im Mittel ca. 10 Prüfpersonen rekrutiert wurden, können in Bezug auf die Auswertung nur qualitative, und keine quantitativen Aussagen getroffen werden.

Die Verbraucherstichprobe für die Rangordnungsprüfungen der durchgeführten Untersuchungen war bezüglich der Zusammensetzung und der Anzahl der Testpersonen sehr heterogen, was durch die teilweise mangelnde Verfügbarkeit der Testpersonen zu den jeweiligen Untersuchungsterminen zu erklären ist. Aus den geschilderten Gründen erfolgte die statistische Auswertung der Rangordnungsprüfungen in dieser Untersuchung in Anlehnung an die DIN-Norm 10963. Auf quantitative Schlussfolgerungen wird bei der Diskussion der Ergebnisse aufgrund mangelnder Repräsentativität verzichtet.

#### **5.2.14.2 In / Out-Test nach DIN 10973**

Die sensorischen Bewertungen des Geflügelhackfleischs im 1. Hauptversuch wurden gemäß der DIN-Norm 10973 mit dem skalierten In / Out-Test durchgeführt. Die Schulung der Prüfer (n = 10), die Vorbereitung und Darreichung der Prüfproben sowie die Durchführung und Auswertung der Prüfung erfolgte gemäß den Vorgaben der DIN 10973.

Die Bewertung der sensorischen Qualität durch die Prüfer beinhaltete sowohl das rohe, als auch das gekochte Hackfleisch, da dieses als Risikolebensmittel eingestufte Produkt in der Regel nur durchgegart verzehrt wird. Bei der Gesamtbeurteilung der Hackfleischproben durch die Prüfer waren das Aussehen des Produktes in der Verpackung, die Farbe und der Geruch, sowie die Textur und der Geschmack (Kochproben) des Hackfleischs zu berücksichtigen. Die Bewertung auf den Prüfbögen erfolgte durch die Prüfer auf Grundlage des Gesamteindrucks der Hackfleischproben. Die Auswertung der Prüfung erfolgte über die Ermittlung der prozentualen Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten.

#### **5.2.14.3 Deskriptiver In / Out-Test nach DIN 10973**

Die sensorischen Bewertungen des Geflügelhackfleischs im Vorversuch wurden gemäß der DIN-Norm 10973 mit dem deskriptiven In / Out-Test durchgeführt. Die Schulung der Prüfer (n = 10), die Vorbereitung und Darreichung der Prüfproben sowie die Durchführung und Auswertung der Prüfung erfolgte gemäß den Vorgaben der DIN 10973.

In den Vorversuchen wurden durch die Prüfer nur die rohen Proben in Bezug auf Aussehen, Farbe, Geruch und Textur des Hackfleischs bewertet. Die Bewertung auf den Prüfbögen erfolgte durch die Prüfer auf Grundlage des Gesamteindrucks der Hackfleischproben. Die Auswertung der Prüfung erfolgte über die Ermittlung der prozentualen Häufigkeitsverteilung der Prüferantworten.

#### **5.2.14.4 Hedonischer Akzeptanztest in Anlehnung an E DIN 10974**

Der hedonische Akzeptanztest wurde in Anlehnung an die E DIN- Norm 10974 durchgeführt, da die Intention bei der Bewertung der Hackfleischproben darin begründet war, die Akzeptanz der Testpersonen für die einzelnen Attribute „Aussehen in der Verpackung“, „Farbe“, „Geruch“, „Textur“ und „Geschmack“ der Hackfleischproben an den verschiedenen Lagertagen festzustellen. Die Bewertung der Akzeptanz durch die Testpersonen wurde für jedes Attribut separat vorgenommen.

Da jedoch laut E DIN 10974 Schlussfolgerungen aus einer Prüfung, die aus weniger als 60 Testpersonen besteht, nicht möglich sind, und im Rahmen der Untersuchungen diese Anzahl an Testpersonen nicht rekrutiert wurde, können bezüglich der statistischen Auswertung nur qualitative Aussagen getroffen werden.

Ziel der Untersuchung war es, an den jeweiligen Lagerungstagen, bezüglich der beschriebenen Produktattribute, eventuelle Unterschiede zwischen den untersuchten Hackfleischproben festzustellen. Ergänzend zu den Bewertungen bezüglich der Verbraucherakzeptanz wurde im Hauptversuch 2 noch die Rangordnungsprüfung angewendet, bei der die Testpersonen Präferenzen für die untersuchten Proben bezüglich ihrer Gesamteinschätzung festlegen sollten. Die Verbraucherstichprobe für den hedonischen Akzeptanztest der durchgeführten Untersuchungen war bezüglich der Zusammensetzung und der Anzahl der Testpersonen (Studenten der Leibniz Universität Hannover) sehr heterogen, was durch die teilweise mangelnde Verfügbarkeit an Testpersonen zu den jeweiligen Untersuchungsterminen zu erklären ist. Aus den geschilderten Gründen erfolgte die statistische Auswertung des deskriptiven Akzeptanztestes in dieser Untersuchung in Anlehnung an die E DIN-Norm. Auf quantitative Schlussfolgerungen wird bei der Diskussion der Ergebnisse deshalb verzichtet.

## **5.3        *Diskussion der Ergebnisse***

### **5.3.1        **Kulturelle Nachweise****

Die kulturellen Nachweise der Mikroorganismen in den Hackfleischproben erfolgten wie in Kapitel 3.2.8 beschrieben. Die Methodik erfolgte unter Berücksichtigung der entsprechenden jeweiligen Referenzliteratur. Wie die Versuchsergebnisse zeigen, hatte die Rohstoffauswahl keinen signifikanten Einfluss auf die Effekte, welche die Schutzkulturen auf die mikrobiologische Qualität des Hackfleisches ausüben.

#### **5.3.1.1        **Milchsäurebakterien****

Der Nachweis von Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben erbrachte über den gesamten Untersuchungszeitraum übereinstimmende Ergebnisse, unabhängig davon, ob die Milchsäurebakterien in Hackfleisch aus Putenbrust-, Putenflügel- oder Putenoberkeulenfleisch nachgewiesen wurden.

In den unbeimpften Kontrollproben lagen die durchschnittlichen Anfangskeimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien zwischen 3,12 log KbE/g und 3,72 log KbE/g. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C erhöhten sich die Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Kontrollproben auf durchschnittliche Werte zwischen 5,46 und 6,10 log KbE/g und entsprechen damit den durchschnittlichen Keimzahlen, die in der Literatur (PINGEL et al. 2007) angegeben sind.

Die Inokulation von 0,25 g der Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> und B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> pro kg Hackfleisch bewirkten, dass in den Hackfleischproben bereits am Herstellungstag Keimzahlen von  $\geq 6$  log KbE/g nachweisbar waren. Die protektive Wirkung von inokulierten Schutzkulturen ist nach LÜCKE (1992), sowie ELSSER und NEUMEYER (1997) u.a. von einer initialen Keimzahl von mindestens  $10^6$  Schutzkulturzellen pro Gramm Lebensmittel abhängig. In den Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass bei einer Dosierung der Schutzkulturen nach Herstellerangaben (HANSEN 2002) diese erforderlichen Keimzahlen im Hackfleisch erreicht werden. Vergleichbare Ergebnisse wurden in veröffentlichten Studienergebnissen von BUDDE et al. (2003), JACOBSEN et al. (2003), LI et al. (2008) und TOMÈ et al. (2008) beschrieben. Auch in diesen Studien wurden initiale Keimzahlen an

Milchsäurebakterien von 5 – 7 log KbE/g nachgewiesen, die sich über den Verlauf der Lagerung der untersuchten Lebensmittel auf Werte von  $\geq 8$  log KbE/g erhöhten.

In den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen konnten am Ende der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C im Hackfleisch Milchsäurebakterien in Keimzahlen zwischen 7,01 und 7,80 log KbE/g nachgewiesen werden. Bezüglich der Quantität an nachgewiesenen Milchsäurebakterien konnte zudem festgestellt werden, dass in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ höhere Keimzahlen an Milchsäurebakterien ermittelt wurden, als in den Hackfleischproben, die die Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ beinhalteten. Als Gründe hierfür kommen eine bessere und schnellere Anpassung der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ an das Medium in Betracht, da der Stamm *Pediococcus acidilactici* nach SIMPSON et al. (2002) erstmals aus Geflügel isoliert wurde. Zudem handelt es sich bei *Leuconostoc carnosum* 4010, dem Stamm, den die Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ beinhaltet, um ein anaerobes Bakterium, das häufig mit dem Verderb von vakuumverpacktem Fleisch assoziiert wird. Da das in dieser Arbeit untersuchte Hackfleisch jedoch aerob verpackt worden ist, lässt sich eine längere Adaptationsphase der Schutzkultur an das Habitat sowie an die Atmosphäre in der Verpackung vermuten. Die von BUDDE et al. (2003), JACOBSEN et al. (2003) und METAXOPOULOS et al. (2002) beschriebenen Versuche wurden diesbezüglich auch alle unter modifizierten Atmosphären mit einem geringen Sauerstoffpartialdruck durchgeführt.

### 5.3.1.2 Mesophile aerobe Gesamtkeimzahl (GKZ)

Der Nachweis der mesophilen aeroben Gesamtkeimzahlen in den Hackfleischproben erbrachte ebenfalls über den gesamten Untersuchungszeitraum übereinstimmende Ergebnisse, unabhängig vom verwendeten Rohstoff bei der Hackfleischherstellung.

In den unbeimpften Kontrollproben lagen die durchschnittlichen Anfangskeimzahlen der gesamten nachgewiesenen Mikroorganismen zwischen 4,41 log KbE/g und 5,59 log KbE/g. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C erhöhten sich die durchschnittlichen Keimzahlen der gesamten nachgewiesenen Mikroorganismen in den Kontrollproben auf Werte zwischen 5,59 und 7,21 log KbE/g.

In den mikrobiologischen Kriterien für Hackfleisch gemäß der VO (EG) Nr. 2073/2005 wird ein Richtwert von  $5 \cdot 10^5$  KbE/g und ein Grenzwert von  $5 \cdot 10^6$  KbE/g für den Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl vorgeschrieben. In den Hauptversuchen konnten diese vorgeschriebenen Grenzwerte bei der Lagerung eingehalten werden. Die Richtwerte der VO (EG) Nr. 2073/2005 konnten in keinem der durchgeführten Versuche bis zum Lagerungsende eingehalten werden. Die Keimzahlen an nachgewiesenen Gesamtmikroorganismen in den Hackfleischproben überschritten in allen Untersuchungen bereits am 5. Lagerungstag die Richtwerte der VO. Im Sinne der VO (EG) Nr. 2073/2005 waren die Hackfleischprodukte somit ab dem 5. Lagerungstag nicht mehr verkehrsfähig.

In den mit Schutzkulturen inokulierten Hackfleischproben konnten zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen die Richtwerte bzw. die Grenzwerte der VO (EG) Nr. 2073/2005 für nachgewiesene aerobe mesophile Gesamtkeimzahlen eingehalten werden, da durch die Inokulation der Schutzkulturen die Gesamtkeimzahlen in den Hackfleischproben auf Werte von  $\geq 6$  log KbE/g erhöht worden sind. Die nachgewiesenen Gesamtkeimzahlen in den Hackfleischproben mit den jeweiligen Schutzkulturen entsprachen in allen Versuchen den Keimzahlen an nachgewiesenen Milchsäurebakterien, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die nachgewiesenen Gesamtkeimzahlen in den Hackfleischproben mit den inokulierten Schutzkulturen größtenteils von Milchsäurebakterien dominiert werden.

Es ist demnach davon auszugehen, dass die mikrobiologischen Kriterien für Hackfleisch, gemäß der VO (EG) Nr. 2073/2005, in Bezug auf den Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl bei Hackfleisch, welches mit Schutzkulturen inokuliert wurde, keine Anwendung finden können, da in diesem Produkt die Erhöhung der Gesamtkeimzahl durch die zusätzliche Inokulation von Milchsäurebakterien erwünscht ist und die Ermittlung der Gesamtkeimzahl diesbezüglich nicht zielführend ist.

### 5.3.1.3 *Enterobacteriaceae*

Der Nachweis von *Enterobacteriaceae* in den Hackfleischproben erbrachte ebenfalls über den gesamten Untersuchungszeitraum übereinstimmende Ergebnisse, unabhängig vom verwendeten Rohstoff bei der Hackfleischherstellung.

In den unbeimpften Kontrollproben lagen die durchschnittlichen Anfangskeimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* zwischen 2,18 log KbE/g und 3,66 log KbE/g. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C erhöhten sich die durchschnittlichen Keimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* in den Kontrollproben auf Werte zwischen 4,37 und 6,70 log KbE/g.

In den Hackfleischproben, die mit den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnten im Vergleich zu den Kontrollproben in allen Versuchen deutlich geringere Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden, die auf eine Inhibierung dieser durch die eingesetzten Schutzkulturen schließen lassen. Die nachgewiesenen Keimzahlen an *Enterobacteriaceae* lagen am Herstellungstag zwischen 1,94 (B-SF 43) und 3,19 (B-LC 20) log KbE/g und stiegen bis zum 10. Lagerungstag auf Werte zwischen 2,90 (B-LC 20) und 5,46 (B-LC 20) log KbE/g an.

Die stärksten inhibitorischen Effekte konnten bei der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ beobachtet werden, da hier im Vergleich zu den unbeimpften Kontrollproben z.T. bakteriostatische Eigenschaften bezüglich der Reduktion von *Enterobacteriaceae* festgestellt werden konnten. Ähnliche Ergebnisse veröffentlichten ALBANO et al. (2007) und LI et al. (2008), die ebenfalls nachweisen konnten, dass durch die Inokulation von *Pediococcus acidilactici* eine Reduktion der Keimzahlen an nachgewiesenen *Enterobacteriaceae* zu beobachten war. Die Autoren führen die Reduktion der *Enterobacteriaceae* auf das breite Spektrum der Bakteriozinaktivität von Klasse-II-Bakteriozinen, wie z.B. das Bakteriozin PA-1, gegen gram-positive Bakterien zurück.

Auch andere Autoren beschreiben inhibierende Effekte von Schutzkulturen auf *Enterobacteriaceae*, deren Wirkungsmechanismus bislang nicht abschließend geklärt ist. So beschreiben z.B. ANDERSON et al. (1997), FAITH et al. (1998), LEMAY et al. (2002), MUTHUKUMARASAMY et al. (2007), NISSEN et al. (1998), PIDCOCK et al. (2007) und STIEBING et al. (1999) inhibierende Effekte einiger *Lactobacillus* ssp. auf *Escherichia coli*, die zum Einen auf eine Bakteriozin-induzierte Inhibierung zurückzuführen sind, zum Anderen auf andere antagonistische Substanzen, die von den jeweiligen Schutzkulturen metabolisiert werden, sowie auf die Reduzierung des pH-Wertes der untersuchten Lebensmittel durch die Freisetzung organischer Säuren.

KATIKOU et al. (2005) konnten ebenfalls nachweisen, dass von *L. sakei* CECT 4808 inhibierende Effekte gegen *Enterobacteriaceae* ausgehen. In allen untersuchten Proben konnte durch die Inokulation des Stammes eine signifikante Reduzierung der gram-positiven und -negativen Keimflora des vakuumverpackten Schlachtfleisches festgestellt werden. Auch KATIKOU et al (2005) sehen die Ursachen für die inhibierenden Effekte in der Bakteriozinaktivität, in der Aktivität anderer inhibitorischer Substanzen und in der kompetitiven Hemmung der produktspezifischen Keimflora. Bezüglich der inhibierenden

Wirkung von *Leuconostoc carnosum* 4010 sind in der Literatur bisher keine Daten veröffentlicht, die bakterizide bzw. bakteriostatische Effekte gegen *Enterobacteriaceae* beschreiben.

#### 5.3.1.4 *Pseudomonas* ssp.

Der Nachweis von *Pseudomonas* ssp. in den Hackfleischproben erbrachte ebenfalls über den gesamten Untersuchungszeitraum übereinstimmende Ergebnisse, unabhängig vom verwendeten Rohstoff bei der Hackfleischherstellung.

In den unbeimpften Kontrollproben lagen die durchschnittlichen Anfangskeimzahlen an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp zwischen 2,191 log KbE/g und 4,35 log KbE/g. Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C erhöhten sich die durchschnittlichen Keimzahlen an nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp in den Kontrollproben auf Werte zwischen 4,43 und 6,09 log KbE/g.

In den Hackfleischproben, die mit den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnten im Vergleich zu den Kontrollproben in allen Versuchen deutlich geringere Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp nachgewiesen werden, die auf eine Inhibierung dieser durch die eingesetzten Schutzkulturen schließen lassen. Die mittleren nachgewiesenen Keimzahlen an *Pseudomonas* ssp. lagen am Herstellungstag in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ zwischen 3,05 und 3,66 log KbE/g und stiegen bis zum Ende der Lagerungszeit auf Werte von 3,58 bzw. 5,12 log KbE/g an.

In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurden am Herstellungstag Keimzahlen von durchschnittlich 2,97 bis 3,68 log KbE/g *Pseudomonas* ssp. nachgewiesen. Diese stiegen bis zum 10. Lagerungstag auf Werte zwischen 3,64 und 5,58 log KbE/g an.

Auch bezüglich der antagonistischen Eigenschaften gegen *Pseudomonas* ssp. konnten bei der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ stärkere inhibierende Effekte beobachtet werden, als bei der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™. Als Gründe hierfür können wieder die Wachstumsansprüche der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ angeführt werden, die aufgrund der aeroben Atmosphäre in den Verpackungen eine längere Adaptationsphase von *Leuconostoc carnosum* bewirken.

Vergleichbare Ergebnisse bezüglich der Inhibierung von *Pseudomonas* ssp. beschreiben auch KATIKOU et al. (2005), die in vakuumverpacktem Schlachtfleisch durch die Inokulation von *L. sakei* CECT 4808 eine signifikante Reduktion der nachgewiesenen *Pseudomonas* ssp. beobachten konnten. Als Gründe für die Inhibierung führen die Autoren u.a. die Bakteriozinwirkung von *L. sakei* und eine kompetitive Hemmung der *Pseudomonas* ssp. durch *L. sakei* an. Auch sei nicht auszuschließen, dass andere inhibitorische Substanzen an der Reduzierung der nachgewiesenen Keimzahlen von *Pseudomonas* ssp. beteiligt sind (KATIKOU 2005).

Bezüglich der antagonistischen Effekte von *Pediococcus acidilactici* und *Leuconostoc carnosum* gegen *Pseudomonas* ssp. sind in der Literatur bisher keine Ergebnisse veröffentlicht worden.

#### 5.3.1.5 *Brochotrix thermosphacta*

Der Nachweis von *Brochotrix thermosphacta* in den Hackfleischproben erbrachte ebenfalls über den gesamten Untersuchungszeitraum übereinstimmende Ergebnisse, unabhängig vom verwendeten Rohstoff bei der Hackfleischherstellung.

In den unbeimpften Kontrollproben lagen die durchschnittlichen Anfangskeimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* zwischen 3,07 log KbE/g und 4,00 log KbE/g.

Über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C erhöhten sich die durchschnittlichen Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* in den Kontrollproben auf Werte zwischen 4,39 und 6,17 log KbE/g.

In den Hackfleischproben, die mit den jeweiligen Schutzkulturen inokuliert wurden, konnten im Vergleich zu den Kontrollproben in allen Versuchen deutlich geringere Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* nachgewiesen werden, die auf eine Inhibierung dieser durch die eingesetzten Schutzkulturen schließen lassen. Die mittleren nachgewiesenen Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* lagen am Herstellungstag in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ zwischen 2,73 und 3,78 log KbE/g und stiegen bis zum Ende der Lagerungszeit auf Werte von 3,13 bzw. 4,92 log KbE/g an.

In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurden am Herstellungstag Keimzahlen von durchschnittlich 3,14 bis 3,62 log KbE/g *Brochotrix thermosphacta* nachgewiesen. Diese stiegen bis zum 10. Lagerungstag auf Werte zwischen 4,15 und 4,91 log KbE/g an.

Auch bezüglich der antagonistischen Eigenschaften gegen *Brochotrix thermosphacta* konnten bei der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ stärkere inhibierende Effekte beobachtet werden, als bei der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™. Als Gründe hierfür können wieder die Wachstumsansprüche der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ angeführt werden, die aufgrund der aeroben Atmosphäre in den Verpackungen eine längere Adaptationsphase von *Leuconostoc carnosum* bewirken.

Vergleichbare Ergebnisse bezüglich der Inhibierung von *Brochotrix thermosphacta* konnten auch CASTELLANO et al. (2006) mit der Schutzkultur *Lb. curvatus* CRL705 (Bac<sup>+</sup>) nachweisen. Durch den Einsatz dieser Kultur konnte die Keimzahl von *Brochotrix thermosphacta* in vakuumverpacktem Rindfleisch im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollproben signifikant reduziert werden.

JONES et al. (2008) konnten nachweisen, dass *Brochotrix thermosphacta* durch die Zugabe von *Lc. lactis* 75 in seinem Wachstum gehemmt wird. Die Ursachen sehen die Autoren vor allem in der Freisetzung von Nisin, dessen antagonistische Wirkung sich gegen mehrere Verderbnis erregende und humanpathogene Mikroorganismen richtet.

Auch KATIKOU et al. (2005) beschreiben Bakteriozin-induzierte antagonistische Wirkungen von *L. sakei* CECT 4808 gegen *Brochotrix thermosphacta* in vakuumverpacktem und kühlgelagertem Schlachtfleisch, die eine signifikante Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen *Brochotrix thermosphacta* bewirkt haben.

Auch METAXOPOULOS et al. (2002) konnten nachweisen, dass von der Schutzkultur *Leuconostoc mesenteroides* L124 antagonistische Effekte gegen *Brochotrix thermosphacta* in vakuumverpackten Fleischprodukten ausgehen.

Aufgrund der Datenlage ist somit davon auszugehen, dass die inhibierenden Effekte gegen *Brochotrix thermosphacta* auch von antagonistischen Substanzen der eingesetzten Schutzkulturen bewirkt werden. Da beide Schutzkulturen Bakteriozine metabolisieren, ist dies eine mögliche Erklärung für die inhibierenden Effekte.

Als weitere Ursachen werden die kompetitive Hemmung der Begleitflora durch die Schutzkulturen und die Reduzierung des pH-Wertes der Hackfleischproben diskutiert (NEWTON und GILL 1978).

### 5.3.1.6 *Listeria* ssp.

Bezüglich des Nachweises von *Listeria* ssp. in den Hackfleischproben konnte über den gesamten Untersuchungszeitraum nachgewiesen werden, dass die eingesetzten Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ antilisterielle Eigenschaften

aufweisen, die eine signifikante Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen Listerien im Hackfleisch bewirkt haben.

Durch den qualitativen Nachweis von *Listeria* ssp. in den Geflügelhackfleischproben konnte nachgewiesen werden, dass die Anzahl der positiven Nachweise in den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ im Vergleich zu den Kontrollproben, nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C um 5 % reduziert werden konnte. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ konnten 10 % weniger positive Untersuchungsergebnisse ermittelt werden.

In den Versuchen mit inokulierten *Listeria monocytogenes* (ca. 4 log KbE/g) konnte nachgewiesen werden, dass sowohl B-LC 20 Safe Pro™ als auch B-SF 43 Bactoferm™ bakterizide Effekte gegen *Listeria* ssp. entwickeln. Durch die Inokulation der jeweiligen Schutzkulturen konnten die initialen Keimzahlen an Listerien über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung signifikant reduziert werden. Die beobachteten antilisteriellen Effekte waren in den Versuchen in BHI-Bouillon noch stärker ausgeprägt, als in den Versuchen mit inokuliertem Putenoberkeulenfleisch. Dies lässt sich auf die Aktivität fleischeigener Proteasen zurückführen, die zu einer Inaktivierung der freigesetzten Bakteriozine führen. Diesbezüglich lassen sich die großen Differenzen zwischen den jeweiligen Versuchen in BHI-Medium bzw. Hackfleisch erklären.

Dennoch konnten im Vergleich mit der Kontrollprobe Reduzierungen um durchschnittlich 2,10 (B-LC 20) bzw. 1,64 log (B-SF 43) KbE/g Hackfleisch erzielt werden. In den Kontrollproben konnte dagegen ein kontinuierlicher Anstieg der Keimzahlen an nachgewiesenen Listerien auf 5,10 log KbE/g beobachtet werden.

Die antilisteriellen Eigenschaften der beiden Schutzkulturen sind in der Freisetzung von Bakteriozinen begründet, die antagonistisch auf *Listeria* ssp. wirken und zu einer Inhibierung bzw. zum Zelltod derselben führen. Diesbezüglich wurden in der Literatur bereits verschiedenste Untersuchungsergebnisse veröffentlicht.

So konnten z.B. BUDDE et al. (2003) die antilisterielle Wirkung von *Leuconostoc carnosum* 4010 in inokulierter vakuumverpackter Fleischwurst nachweisen, die zu signifikanten Reduzierungen der nachgewiesenen Keimzahlen an Listerien geführt haben.

JACOBSEN et al. (2003) konnten ebenfalls starke antilisterielle Effekte des Stammes *Leuconostoc carnosum* 4010 in inokulierten Zervelatwürsten nachweisen, die unter modifizierter Atmosphäre gelagert wurden. Auch in diesen von den Autoren beschriebenen Versuchen bewirkte die Inokulation der Schutzkultur *Leuconostoc carnosum* 4010 eine signifikante Reduzierung der Keimzahlen an nachgewiesenen Listerien in den Produkten.

JONES et al. (2008) konnten durch Agar-Diffusionstests nachweisen, dass die antilisteriellen Effekte von *Leuconostoc carnosum* auf dessen Bakteriozinbildung zurückzuführen sind.

Bezüglich der antilisteriellen Wirkung von *Pediococcus acidilactici* sind ebenfalls zahlreiche Untersuchungsergebnisse veröffentlicht worden. So konnten z.B. ALBANO et al. (2007) die antilisterielle Wirkung von 2 Bakteriozinen nachweisen, die von *Pediococcus acidilactici*-Stämmen metabolisiert werden. Dabei konnten die Autoren beobachten, dass sich die Bakteriozinaktivität nicht nur gegen die untersuchten *Listeria* ssp. richtet, sondern auch noch gegen eine Vielzahl von gram-positiven Mikroorganismen, wie z.B. *Enterococcus* ssp., *Streptococcus* ssp. und einige *Lactobacillus* ssp.. Nach RODRIGUEZ et al. (2003) ist dieses breite Spektrum an Bakteriozinaktivität typisch für Klasse-II-Bakteriozine, zu denen auch Pediocin PA-1 zählt.

TOMÈ et al. (2008) konnten in ihren Untersuchungen ebenfalls nachweisen, dass *Pediococcus acidilactici* antilisterielle Eigenschaften aufweist, die auf die Produktion von Bakteriozinen zurückzuführen sind. In Versuchen mit vakuumverpacktem Räucherlachsen

konnten sie nachweisen, dass die Inokulation von *Pediococcus acidilactici* eine Wachstumsstagnation der inokulierten *Listeria* ssp. bewirkt, die auf eine bakterio-statisch wirkende Pediocin-Aktivität zurückzuführen ist.

Die Bakteriozin-Aktivität von Pediocin wurde auch von NIELSEN et al. (1990) und GOFF et al. (1996) untersucht, und beide Autoren konnten in ihren Untersuchungen beobachten, dass von Pediocin AcH sehr starke antilisterielle Effekte ausgehen, die zu signifikanten Reduzierungen der Keimzahlen von inokulierten *Listeria* ssp. in den untersuchten Medien, bzw. Lebensmitteln führten.

Aufgrund der Datenlage kann somit davon ausgegangen werden, dass die antilisteriellen Effekte der beiden eingesetzten Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ auf deren Produktion der jeweiligen Bakteriozine Leucocin bzw. Pediocin zurückführbar ist. Die Ergebnisse eigener Agardiffusionstests und der Versuche in BHI-Medium stützen diese These, da die Versuche in BHI-Medium wesentlich stärkere Reduktionen der Listerieninokuli bewirkt haben, was auf das Fehlen fleischeigener Proteasen zurückzuführen ist, welche die Bakteriozinaktivität inhibieren.

Der Einfluss des pH-Wertes kann diesbezüglich ausgeschlossen werden, da beide Schutzkulturen nur eine moderate Säuerung der Hackfleischproben bewirkt haben.

Der Einfluss anderer inhibitorischer Substanzen, die von den Schutzkulturen metabolisiert werden, lässt sich dagegen nicht mit Sicherheit ausschließen. Diesbezüglich liegen jedoch derzeit keine veröffentlichten Studienergebnisse vor, die diese Vermutung stützen würden.

#### 5.3.1.7 *Campylobacter* ssp.

Bezüglich des qualitativen Nachweises von *Campylobacter* ssp. in den Hackfleischproben kann festgestellt werden, dass die Anzahl der positiven Nachweise in den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen, im Vergleich zu den Kontrollproben, über den Verlauf der 10-tägigen Lagerung bei +2 °C um 20 % reduziert wurde. Am Ende der Lagerungszeit konnten in jeweils 10 % der Proben mit den Schutzkulturen noch qualitativ *Campylobacter* ssp. nachgewiesen werden. Verglichen mit den positiven Nachweisen am Anfang der Lagerung entspricht dies einer Reduzierung um 15 %. In den Kontrollproben dagegen stagnierte die Anzahl der positiven Nachweise auf dem Anfangsniveau von 30 %.

Es kann somit davon ausgegangen werden, dass von den beiden Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ antagonistische Effekte gegen *Campylobacter* ssp. in Geflügelhackfleisch ausgehen.

Bei den quantitativen Nachweisen von inokulierten *Campylobacter* ssp. in den Hackfleischproben konnten diese Beobachtungen nicht bestätigt werden. Trotz nachweislicher Inokuli von 4 log KbE/g konnten bereits am Herstellungstag in den MAP-verpackten Produkten keine *Campylobacter* ssp. nachgewiesen werden. Als Grund hierfür wird vor allem der Kontakt der Mikroorganismen mit der O<sub>2</sub>-angereicherten Atmosphäre im Headspace der Verpackung diskutiert.

Da *Campylobacter* ssp. eine mikroaerophile Atmosphäre benötigen und das Hackfleisch unter einer 70 %-igen Sauerstoffatmosphäre verpackt wurde, ist nicht auszuschließen, dass die inokulierten *Campylobacter jejunii* nach wie vor im Hackfleisch vorhanden waren, jedoch kulturell nicht mehr nachweisbar waren, da *Campylobacter* ssp. bei Milieubedingungen, die nicht ihren Wachstumsansprüchen entsprechen, kulturell nicht nachweisbare Dauerformen bilden.

Bei niedrigen Temperaturen, Sauerstoff-Stress oder bei niedrigen pH-Werten werden kokkoide Zellen gebildet und es kann ein reversibler Übergang in ein „viable, but not culturable“(VNC)-Stadium erfolgen (HAVEERACH et al., 2003). Diese Vorgänge scheinen

der Adaption an lebensfeindliche Umweltbedingungen zu dienen. Untersuchungen an Hühnern haben gezeigt, dass Zellen aus diesem VNC-Stadium wiederbelebt werden können (LUBER et al. 2005).

Dennoch sind *Campylobacter* ssp. für lebensmittelassoziierte humanpathogene Bakterien außergewöhnlich empfindlich, da sie in-vivo nicht in der Lage sind, sich außerhalb des Intestinaltraktes warmblütiger Tiere zu vermehren. Für die Vermehrung beanspruchen sie zudem eine strikt mikroaerophile Atmosphäre und ein Temperaturminimum von  $\geq +32$  °C. Demnach erfolgt im Lebensmittel auch keine Vermehrung. *Campylobacter* ssp. können jedoch mehr oder weniger lange in oder auf Lebensmitteln überleben. Dabei zeigen sie sich empfindlich gegen Maßnahmen der Konservierung, wie beispielsweise Säuerung, Trocknung oder Salzung. Hohe Temperaturen, wie sie beim Kochen oder Braten erreicht werden, töten *Campylobacter* ssp. schnell ab. Temperaturen im Bereich von  $+52$  °C bis  $+60$  °C wirken wachstumshemmend. Zu einer Abtötung kommt es erst zwischen  $+60$  °C und  $+74$  °C (BEUTLING 1998).

Nach BLANKENSHIP et al (1982) können *Campylobacter* ssp. unter Kühlbedingungen gut überleben. Gefrieren senkt die quantitative Belastung von Produkten, führt aber nicht zu einer vollständigen Eliminierung der *Campylobacter* ssp.. Als Hauptquellen für *Campylobacter*-Enteriden gelten in Deutschland vor allem tierische Lebensmittel, insbesondere Geflügelprodukte.

Dennoch ist es möglich, durch den Einsatz von Schutzkulturen die Belastung von Lebensmitteln mit *Campylobacter* ssp. zu reduzieren. JONES et al. (2008) konnten in ihren Versuchen nachweisen, dass *Campylobacter* ssp. durch die von *Lb. sakei*, *Lc. lactis* und *Leuconostoc carnosum* freigesetzten inhibitorischen Substanzen inhibiert werden.

#### 5.3.1.8 *Salmonella* ssp.

Beim qualitativen Nachweis von *Salmonella* ssp. in den Geflügelhackfleischproben nach Voranreicherung konnten keine positiven Befunde erzielt werden. Bei den quantitativen Nachweisen von inokulierten *S. enterica* in BHI-Bouillon konnte beobachtet werden, dass die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ bakteriostatische Effekte auf die *Salmonella* ssp. in der Bouillon bewirkt und die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ sogar leichte bakterizide Effekte gegen *Salmonella enterica* entwickelt. Im Vergleich zur Kontrollprobe konnte die Salmonellenbelastung von anfänglich  $4,01$  log KbE/ml auf  $3,58$  log KbE/ml reduziert werden. In der Kontrollprobe wurden nach 10-tägiger Lagerung dagegen Keimzahlen von  $4,71$  log KbE/ml nachgewiesen.

Diese Ergebnisse konnten in den Versuchen mit inokuliertem Putenhackfleisch bestätigt werden. Auch im Putenhackfleisch mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnte nach 10-tägiger Lagerung bei  $+2$  °C eine Reduzierung der Inokuli um  $0,35$  log KbE/g festgestellt werden, während in den Kontrollproben die Keimzahlen um  $0,32$  log KbE/g anstiegen und die Keimzahlen in den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ auf dem Niveau der initialen Inokulationsmenge stagnierten.

Es kann somit geschlussfolgert werden, dass von den beiden Schutzkulturen bakteriostatische, bzw. bakterizide Effekte gegen *Salmonella* ssp. ausgehen, deren Ursachen zum derzeitigen Forschungsstand nicht abschließend geklärt sind. Da es sich bei *Salmonella* ssp. um gram-negative Mikroorganismen handelt, sind Bakteriozin-induzierte Effekte auszuschließen, wengleich in einigen Veröffentlichungen auch die Wirkung von Bakteriozinen gegen gram-negative Mikroorganismen beschrieben werden (ELSSER et al. 2005, RYSCHKA 2001, SCHAEEL 2001, STIEBING et al. 2001).

Es ist vielmehr davon auszugehen, dass die zugesetzten Schutzkulturen eine kompetitive Hemmung der Begleitflora bewirkt haben, da auch die Reduzierung des pH-Wertes in den untersuchten Medien nicht zu einer Inhibierung der *Salmonella* ssp. geführt hat. Aber auch andere, bisher unerforschte inhibitorische Substanzen werden als Ursachen für die Inhibierung der *Salmonella* ssp. diskutiert (AMEZQUITA und BRASHEARS 2002, BUCHANAN und BAGI 1997, NILSSON et al. 2005, VERMEIREN 2006).

### 5.3.1.9 *Staphylococcus* ssp.

Durch den quantitativen Nachweis von inokulierten *Staph. aureus* im BHI-Medium bzw. im Hackfleisch konnte aufgezeigt werden, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ eine geringfügige Inhibierung der Inokuli bewirkt.

Im BHI-Medium waren die beobachteten Effekte stärker ausgeprägt, als im Putenhackfleisch, was auf die Aktivität fleischeigener Proteasen zurückzuführen ist. Im BHI-Medium erhöhten sich die inokulierten Keimzahlen von *Staph. aureus* nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ um durchschnittlich 0,27 log KbE/ml und die der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ um durchschnittlich 0,30 log KbE/ml. In den Kontrollproben konnte dagegen eine Erhöhung der Keimzahlen von *Staph. aureus* um durchschnittlich 0,83 log KbE/ml beobachtet werden.

In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnte nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C eine durchschnittliche Erhöhung der initialen Keimzahl um 0,52 log KbE/g festgestellt werden. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurde dagegen eine Erhöhung der Keimzahlen um 1,19 log KbE/g beobachtet und in den Kontrollproben wurden nach 10 Tagen Lagerung durchschnittlich 1,60 log KbE/g mehr *Staph. aureus* nachgewiesen, als am Herstellungstag.

Aus den Ergebnissen lässt sich ableiten, dass der Einsatz der Schutzkulturen, und vor allem der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™, eine Inhibierung des Staphylokokkenwachstums im Hackfleisch bewirkt, wenngleich eine Reduzierung bzw. Stagnation der Keimzahlen nicht zu beobachten war. Im Vergleich mit den Kontrollproben konnten signifikante Unterschiede zwischen den ermittelten Keimzahlen festgestellt werden.

Auch ELSSER et al. (1997) konnten in Versuchen mit Brühwürsten Antagonismen von *Lc. lactis* ssp. gegen *Staph. aureus* beobachten. Durch die Inokulation von 5 log KbE/g *Lc. Lactis* ssp. konnte die initiale Staphylokokkenkeimzahl nach 48 Stunden um 2 log KbE/g gesenkt werden. Bei Inokuli von 6 log KbE/g konnten sogar Reduzierungen um 3,7 log KbE/g beobachtet werden.

Da es sich bei *Staph. aureus* um ein gram-positives Bakterium handelt, kann davon ausgegangen werden, dass die inhibierenden Effekte auf einen Bakteriozin-induzierten Wirkungsmechanismus zurückzuführen sind. Auch andere Autoren konnten diesbezügliche Effekte gegen gram-positive Mikroorganismen aufzeigen (ABEE et al. 1995, JACK et al. 1995, NEWTON und GILL 1978, KATIKOU et al. 2005).

## 5.3.2 Physikalische Untersuchungen

### 5.3.2.1 pH-Wert

Die Auswertung der pH-Wert-Messungen ergab, dass die pH-Werte der Hackfleischproben, die in den Vorversuchen untersucht wurden, und die aus Putenbrustfleisch hergestellt worden sind, deutlich niedriger waren, als die pH-Werte der Proben, die aus

Putenflügelfleisch bzw. aus Putenoberkeulenfleisch hergestellt wurden. Diese Feststellung stimmen mit den Angaben in der Literatur (PINGEL et al. 2007) überein.

Die pH-Werte der untersuchten Hackfleischproben weisen über den Untersuchungszeitraum unterschiedliche Verläufe auf. Zu Beginn der Lagerung konnten zwischen den einzelnen Proben nur geringfügige Differenzen festgestellt werden. Die ermittelten pH-Werte der Kontrollprobe lagen zwischen 5,88 (HVS 1) und 6,06 (HVS 2). In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 konnten zu Beginn der Lagerung pH-Werte von 5,80 (HVS 1) bzw. 6,02 (HVS 2) ermittelt werden und in der Probe B-SF 43 5,76 (HVS 1) bzw. 6,00 (HVS 2). Im Verlauf der weiteren Lagerung konnten zwischen den Proben teilweise deutliche Unterschiede festgestellt werden. Während die pH-Werte der Kontrollproben in HVS 1 mit 5,97, im Vergleich zum Herstellungstag, geringfügig gestiegen sind, konnte in HVS 2 an Tag 10 der Untersuchung mit Werten von 6,05 eine geringfügige Reduzierung gegenüber den Anfangswerten festgestellt werden. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 wurden am Ende der Lagerungszeit pH-Werte von 5,73 (HVS 1) bzw. 5,99 (HVS 2) gemessen. In beiden Versuchsdurchläufen reduzierte sich der pH-Wert der Proben über den Verlauf der Lagerung geringfügig. Die ermittelten pH-Werte der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43, 5,63 in HVS 1 bzw. 5,71 in HVS 2 unterscheiden sich signifikant von den pH-Werten der anderen Proben. Die Gründe für die unterschiedlichen pH-Werte sind in den Eigenschaften der eingesetzten Schutzkulturen zu suchen. Während die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ moderate Mengen an D(-)/L(+)-Milchsäure metabolisiert und das Temperaturminimum für die Säureaktivität mit +15 °C angegeben ist (AXELSSON 1998), bildet die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ große Mengen an D(-)-Milchsäure. Zudem ist die Kultur in der Lage, auch bei Temperaturen von bis zu +2 °C ihren Stoffwechselmetabolismus, und somit die Säurebildung, aufrechtzuerhalten (HANSEN 2002, FEINER 2006). Der Anstieg der pH-Werte im letzten Drittel des Untersuchungszeitraumes ist in der proteolytischen Aktivität von fleischeigenen Enzymen und von Mikroorganismen, wie z.B. *Pseudomonas* ssp. und *Enterobacteriaceae* begründet (BÜLTE 1996).

### 5.3.2.2 $a_w$ -Wert

Zwischen den  $a_w$ -Werten der aus unterschiedlichen Fleischpartien hergestellten Hackfleischproben konnten im Verlauf der Untersuchungen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. In allen Hackfleischsorten lagen die ermittelten  $a_w$ -Werte bei durchschnittlich 0,99.

Die Entwicklung der  $a_w$ -Werte in den untersuchten Hackfleischproben erwies sich über den gesamten Untersuchungszeitraum sehr einheitlich, ohne statistisch signifikante Differenzen zwischen den Kontrollproben und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen. Zu Beginn der Untersuchungen wiesen alle untersuchten Hackfleischproben einen identischen  $a_w$ -Wert von 0,992 auf. Im Verlauf der Untersuchungen konnte ein geringfügiges Absinken der Wasseraktivität bei allen Hackfleischproben beobachtet werden. Am Ende des Lagerungs- und Untersuchungszeitraumes wurden in den Hackfleischproben Wasseraktivitäten von 0,989 (Kontrolle) bzw. 0,988 (B-LC 20 und B-SF 43) nachgewiesen.

Das Absinken der  $a_w$ -Werte verlief bei den Kontrollproben und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 relativ einheitlich. An jedem Untersuchungstag konnte eine Reduzierung um  $\Delta$  0,001 festgestellt werden. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 konnte dagegen ein diskontinuierlicher Verlauf der Wasseraktivität beobachtet werden, wenngleich an Untersuchungstag 10 die gleichen Werte festgestellt wurden, wie bei den anderen beiden Hackfleischproben. Der  $a_w$ -Wert des Hackfleisches mit der Schutzkultur B-SF 43 sank zwischen Untersuchungstag 0 und 3 bzw. 5 und 7 um durchschnittlich 0,002.

Zwischen den Untersuchungstagen 3 und 5 bzw. 7 und 10 waren dagegen keine Veränderungen des  $a_w$ -Wertes feststellbar.

Die Ursache für das Absinken der Wasseraktivität liegt in der mikrobiologischen Aktivität der Mikroorganismen, deren Stoffwechsel das frei verfügbare Wasser nutzt. Die Zugabe der Schutzkulturen erhöhte die vorhandene Gesamtzahl an Bakterien in den Hackfleischproben, die eine Erhöhung der mikrobiologischen Aktivität im Hackfleisch bewirkt hat. Im Vergleich zu den Kontrollproben wurde deshalb mehr frei verfügbares Wasser verbraucht. Das Absinken der Werte zu verschiedenen Zeitpunkten ist möglicherweise auf die unterschiedliche Aktivität der jeweiligen Schutzkulturen zurückzuführen (LÜCKE und TROEGER 2007).

Werden bei den  $a_w$ -Werten allerdings nur die gerundeten Dezimalstellen ausgewertet, um die Messfehlertoleranz des Gerätes zu berücksichtigen, so ergeben sich über den gesamten Untersuchungszeitraum keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Proben.

### **5.3.3 Chemische Analyse**

#### **5.3.3.1 Aschegehalt**

Bei der Analyse der Aschegehalte der untersuchten Fleischpartien konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Putenbrust, Putenflügeln und Putenoberkeule festgestellt werden. Da der Mineralstoffgehalt von unbehandelter Muskulatur nur geringfügig durch Haltungsbedingungen, wie z.B. Futter und Bewegung beeinflusst wird, lagen die ermittelten Werte der Aschegehalte erwartungsgemäß zwischen 0,98 % (Putenoberkeule) und 1,03 % (Putenbrust).

#### **5.3.3.2 Trockensubstanz**

Auch im Hinblick auf die TS- und Wasserbestimmung ergeben sich nur geringfügige Differenzen zwischen den untersuchten Fleischpartien. Im Fleisch von Putenbrust und Putenoberkeule wurde ein Wassergehalt von 72,9 % ermittelt. Der Wassergehalt des Flügelfleisches lag bei 73,4 %. Die ermittelten Wassergehalte der drei Geflügelfleischpartien liegen geringfügig unter den in der Literatur angegebenen Werten. FRANZKE (1996) beschreibt, dass Muskelfleisch einen durchschnittlichen Wassergehalt von 74 % aufweist, NAGENGAST (2006) beschreibt für fettarmes Fleisch einen Wassergehalt von durchschnittlich 76 %. Die Differenz zu den in den Versuchen ermittelten Werten erklärt sich zu Einem dadurch, dass sich die in der Literatur beschriebenen Werte nicht explizit auf Putenfleisch beziehen. Zum anderen wird der Wassergehalt von Geflügelfleisch durch die Art des Kühlens im Schlachthof sowie bei der weiteren Lagerung des zerlegten Fleisches beeinflusst (PINGEL et al. 2007).

Die Puten, deren Fleisch in den hier beschriebenen Untersuchungen verwendet wurde, sind bereits am Vortag der Untersuchungen geschlachtet und zerlegt worden und wurden durch Luftkühlung auf 0,5 °C gekühlt, bevor die Fleischteile am Untersuchungstag in die Stiftung Tierärztliche Hochschule transportiert wurden. Durch die Luftkühlung und die Lagerung bis zur Untersuchung könnte ein Wasserverlust von ca. 1 % eingetreten sein, der die geringfügig erniedrigten Werte erklären würde.

#### **5.3.3.3 Gesamtfett**

Der Gesamtfettgehalt von Putenbrustfleisch lag mit 1,7 % erwartungsgemäß am niedrigsten. Im Fleisch aus Putenflügeln konnte ein Gesamtfettgehalt von 3,5 % ermittelt werden und im Putenoberkeulenfleisch wurden Gehalte von durchschnittlich 6,8 % Gesamtfett ermittelt.

#### 5.3.3.4 Rohprotein

Bei der Analyse des Gesamteiweißes konnten ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Geflügelfleischpartien ermittelt werden. Den Ergebnissen zufolge hat Putenoberkeulenfleisch mit 19,1 % den niedrigsten Gesamteiweißgehalt. Dieser Wert unterscheidet sich auch signifikant von den in Literatur angegebenen Daten (FRANZKE 1996, NAGENGAST 2006). Die ermittelten Werte des Putenbrustfleisches liegen dagegen mit 24,6 % etwas über den Werten, die in der Literatur angegeben sind. Der Gesamteiweißanteil des Putenflügelfleisches liegt mit 22,4 % zwischen den Werten der beiden anderen Geflügelfleischpartien.

Durch die Errechnung des prozentualen Anteils weist das Putenkeulenfleisch die niedrigsten Eiweißwerte auf, da hier die signifikant höchsten Fettgehalte nachgewiesen wurden. Erwartungsgemäß hatte die Brustmuskulatur den niedrigsten Fettgehalt (PINGEL et al. 2007).

#### 5.3.3.5 Hydroxiprolin

Differenzen zeigten sich auch bezüglich der Bindegewebsanteile, wobei in Putenbrustfleisch die niedrigsten und in Putenflügelfleisch die höchsten Werte ermittelt wurden. Da die Brustmuskulatur von sehr wenigen Bindegewebshäuten durchzogen ist, erklären sich auch die im Vergleich zu Putenflügelfleisch geringeren Werte der Bindegewebsanteile. In Keulen- und vor allem in Flügelfleisch befinden sich vergleichsweise viele Sehnen und Faszien, die in die Muskulatur ziehen und somit zu höheren Bindegewebsanteilen führen (PINGEL et al. 2007).

#### 5.3.4 Biochemische Nachweise

Anhand des API 50 CHL-Tests konnten die nachgewiesenen Milchsäurebakterien aus den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 als diese identifiziert werden. Aufgrund der Farbumschläge auf den Teststreifen konnte bestätigt werden, dass die aus dem Hackfleisch isolierten Milchsäurebakterien die gleichen Kohlenhydrate fermentieren, wie die Reinkultur von *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313). TSEROVSKA et al. (2000) isolierten aus Milchprodukten einen Stamm von *Pediococcus acidilactici* mit einem vergleichbaren Fermentationsprofil auf dem API-Teststreifen. Eine Differenzierung von *Pediococcus* ssp. auf Basis phänotypischer Merkmale, wie z.B. bei der Verwertung von Zuckern und anderen Substraten, ist nach BACK und STACKENBRANDT (1978) verhältnismäßig schwierig und zu ungenau. Aufgrund einiger unspezifischer Reaktionen wurden deshalb zusätzliche Bestätigungen durch die Polymerase-Kettenreaktion durchgeführt.

#### 5.3.5 Molekularbiologische Nachweise

Die Auswertung der molekularbiologischen Untersuchungen haben bestätigt, dass die auf MRS-Agar nachgewiesenen Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben, die mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> inokuliert wurden, der Schutzkultur zuzuordnen sind. Durch die Amplifizierung des isolierten genetischen Materials von den MRS-Agarplatten und den Vergleich mit dem Referenzstamm *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) wurde nach der Agarosegelelektrophorese, Färbung mit Ethidiumbromid und Visualisierung unter UV-Licht auf Stammebene bestätigt, dass die nachgewiesenen und isolierten Milchsäurebakterien dem Stamm *Pediococcus acidilactici* angehören. Wie in der von MORA (1997) beschriebenen Methode zum Nachweis von *P. acidilactici* konnten nach der Elektrophorese sowohl bei dem eingesetzten Referenzstamm (DSM 10313), als auch bei den isolierten

Kolonien auf den Agarosegelen Banden mit einer Größe von 449 Basenpaaren (bp) nachgewiesen werden. Damit konnte die für *Pediococcus acidilactici* spezifische D-Laktat-Dehydrogenase-Sequenz (D-LDH-Sequenz) in allen untersuchten Proben nachgewiesen werden.

Die teilweise schwächer ausgeprägten Banden auf den Gelen beeinflussen das Gesamtergebnisse nicht signifikant und können aus diesem Grund vernachlässigt werden, da selbst bei Nichtberücksichtigung dieser Banden insgesamt  $\geq 95$  % der Nachweise positiv waren. Die Ausbildung schwacher Banden kann verschiedene Ursachen haben, wie z.B. eine zu hohe  $Mg^{2+}$ -Konzentration im Mastermix, oder eine überdosierte Menge an isolierter DNS. Letztendlich konnte die Ursache für die schwache Ausprägung der Banden nicht abschließend geklärt werden.

### 5.3.6 Instrumentelle Farbmessung

In dieser Arbeit wurde die instrumentelle Farbmessung nur bei den Hackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch (HVS 2) durchgeführt. Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass der Einsatz der beiden Schutzkulturen keinen negativen Einfluss auf die Farbe des Hackfleisches ausübt. Die festgestellten Farbveränderungen wurden aufgrund der Metmyoglobinbildung und der Oxidation des Eisen-II zu Eisen-III hervorgerufen. Die Metmyoglobinbildung, sowie die Oxidation des Eisen-II zu Eisen-III konnten anhand der gemessenen Rotwerte aufgezeigt werden. Das Absinken der Rotwerte und die gleichzeitige Entwicklung leicht grünlicher Verfärbungen bestätigten die charakteristischen Farbentwicklungen des Verderbs. Der Anstieg der Helligkeitswerte korrelierte somit mit den ermittelten Messdaten der Rot- und der Gelbwerte.

#### 5.3.6.1 L\*-Wert

Die Auswertung der L\*-Werte der einzelnen Hackfleischproben ergibt, dass die Änderungen in allen Hackfleischproben einen ähnlichen Verlauf aufweisen. Zu Beginn der Untersuchungen wurden zwischen den L\*-Werten der einzelnen Proben geringe Unterschiede festgestellt, die auf die heterogenen Oberflächen der Hackfleischproben zurückgeführt werden können. Die L\*-Werte der beimpften Hackfleischproben B-LC 20 (51,984) und B-SF 43 (52,168) wiesen am Untersuchungstag 0, im Vergleich zu den Kontrollproben (52,225) ähnliche Werte auf. An den folgenden Untersuchungstagen 3, 5, 7 und 10 konnte ein kontinuierlicher Anstieg der L\*-Werte beobachtet werden. Am Untersuchungstag 10 sind die L\*-Werte der beimpften Hackfleischproben B-LC 20 (54,681) und B-SF 43 (55,415) sowie der Kontrollproben (54,709) deutlich angestiegen. Zwischen den Hackfleischproben mit den jeweiligen Schutzkulturen und den Kontrollproben ergaben sich bezüglich der Messungen der L\*-Werte über den gesamten Untersuchungszeitraum keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der Anstieg der Helligkeitswerte bzw. das Verblässen der Hackfleischproben war in den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 ausgeprägter, als bei den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20, was sich in der Reduzierung der pH-Werte der Hackfleischproben begründet.

In Versuchen mit dem Stamm *Pediococcus parvulus* konnten LI et al. (2008) beobachten, dass die Zugabe der Kultur bei der Herstellung traditioneller chinesischer Würstchen eine signifikante Erhöhung der L\*-Werte der Würste bewirkt. Die Ergebnisse der Versuche mit *Pediococcus acidilactici* in der vorliegenden Arbeit ergaben dagegen keine signifikanten Veränderungen der L\*-Werte gegenüber den Kontrollproben. Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass die Schutzkulturen keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Helligkeit des Hackfleisches ausüben.

### 5.3.6.2 a\*-Wert

Die Entwicklung der a\*-Werte nimmt in allen Hackfleischproben einen ähnlichen Verlauf. Zu Beginn der Untersuchungen wurden zwischen den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen und den Kontrollproben nur geringfügige Unterschiede bezüglich der a\*-Werte festgestellt. Die Werte der Hackfleischproben lagen im Mittel zwischen 13,550 (B-SF 43) und 14,156 (B-LC 20). Die Werte der Kontrollprobe lagen im Mittel zwischen den beiden Werten der Proben mit den Schutzkulturen. An den folgenden Untersuchungstagen 3, 5, 7 und 10 konnte ein kontinuierlicher Abfall der a\*-Werte beobachtet werden. Bis zum letzten Untersuchungstag sanken die gemittelten a\*-Werte der Hackfleischproben B-LC 20 und B-SF 43 auf 10,397 bzw. 10,672. Die a\*-Werte der Kontrollproben lagen mit 10,946 im Mittel etwas über den anderen beiden Werten. Über den gesamten Untersuchungszeitraum konnten zwischen den einzelnen Proben bezüglich der a\*-Werte keine statistisch signifikanten Differenzen festgestellt werden, so dass davon auszugehen ist, dass die beiden Schutzkulturen keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung der a\*-Werte ausüben.

Li et al. (2008) beschreiben, dass der Stamm *Pediococcus parvulus* eine signifikante Reduzierung der a\*-Werte der untersuchten Würste bewirkt hat. Die Versuche mit dem Stamm *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313) in der vorliegenden Arbeit konnten eine solche Farbbeeinträchtigung nicht feststellen.

### 5.3.6.3 b\*-Werte

Die Entwicklung der b\*-Werte verlief über den Lagerungszeitraum nicht so einheitlich, wie bei den Parametern L\*- und a\*-Wert.

Die b\*-Werte der Hackfleischproben B-LC 20 (15,726) und B-SF 43 (15,623) wiesen am Untersuchungstag 0 im Vergleich zur Kontrollprobe (15,456) vergleichbare Werte auf. An den weiteren Untersuchungstagen 3, 5, 7 und 10 konnte ein relativ konstanter Anstieg der b\*-Werte beobachtet werden. Zum Ende der Versuchsreihe sind die b\*-Werte der Hackfleischproben B-LC 20 (16,157) und B-SF 43 (16,583) sowie der Kontrollproben (16,514) deutlich angestiegen. Zwischen den Proben konnten über den gesamten Lagerungs- und Untersuchungszeitraum keine statistisch signifikanten Differenzen festgestellt werden, so dass auch bezüglich der b\*-Werte davon ausgegangen werden kann, dass die eingesetzten Schutzkulturen keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung der b\*-Werte ausüben. Die b\*-Werte der Proben wurden offensichtlich viel mehr durch den fortschreitenden Verderb des Hackfleisches beeinflusst.

## 5.3.7 Sensorische Untersuchungen

Die sensorischen Untersuchungen des Geflügelhackfleisches sollten zeigen, ob durch den Einsatz der Schutzkulturen wahrnehmbare rheologische, haptische, visuelle und gustatorische Unterschiede auftreten. Für die diesbezüglichen sensorischen Untersuchungen bzw. Beurteilungen, wurden verschiedene Methoden und Rohstoffe ver- bzw. angewendet, die an Hand vorgegebener zu bewertender Attribute durchgeführt wurden. Die Auswertung der zu erwartenden Ergebnisse orientierte sich an der formulierten Nullhypothese: „Die Hackfleischproben weisen keine signifikanten Unterschiede bei den Attributen Aussehen, Geruch, Geschmack, Textur und Farbe auf.“ Die Vorbereitung und Durchführung der sensorischen Untersuchungen erfolgte unter Berücksichtigung der normativen Verweise für die durchgeführten Prüfverfahren.

Den statistischen Auswertungen der Ergebnisse der sensorischen Untersuchungen zufolge wurde die sensorische Qualität des Geflügelhackfleisches durch die Inokulation der

Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ nicht signifikant beeinflusst. Dennoch wurden von den Testpersonen in den verschiedenen sensorischen Untersuchungsverfahren übereinstimmende Ergebnisse erzielt, die aufzeigen, dass sich die Behandlung des Hackfleisches mit den jeweiligen Schutzkulturen auf die sensorischen Produkteigenschaften auswirken.

Die zu Beginn der Untersuchungen formulierte Nullhypothese wurde durch die Ergebnisse der sensorischen Prüfungen widerlegt, so dass zwischen den verschiedenen Hackfleischproben bezüglich der untersuchten Attribute z.T. signifikante Unterschiede bestehen.

### 5.3.7.1 Deskriptiver In / Out-Test

Durch den deskriptiven In / Out-Test nach DIN-Norm 10973 konnte nachgewiesen werden, dass die Geflügelhackfleischproben aus Putenbrustfleisch mit den eingesetzten Schutzkulturen über den Verlauf der 10-tägigen Untersuchungen von den Prüfpersonen bezüglich des Vergleichs mit dem Produktstandard aus Putenbrustfleisch unterschiedlich bewertet wurden. Da die Prüfpersonen gegen den Produktstandard testen sollten, und um eine diesbezügliche Beeinflussung der Prüfpersonen bei der Bewertung der Hackfleischproben zu vermeiden, waren neben dem Produktstandard und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen auch Proben zu bewerten, die einen den Prüfern unbekanntem Produktstandard beinhalteten. Bei diesem handelte es sich um Hackfleisch derselben Produktion und desselben Lagerungstages, wie bei dem Produktstandard, der den Prüfern bekannt war.

Am Herstellungstag bewerteten  $\geq 89$  % der Prüfer den unbekanntem Produktstandard, der dem Standard entsprach als dem Standard entsprechend oder besser. An den Untersuchungstagen 3 und 5 wurde der unbekanntem Standard mit jeweils  $\geq 80$  % dem Standard entsprechend oder besser bewertet und an den Untersuchungstagen 7 und 10 werteten  $\geq 82$  % bzw.  $\geq 89$  % der Prüfer, dass die Proben mit dem unbekanntem Standard dem Produktstandard entsprechen oder besser sind.

Die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ bewerteten am 1. Untersuchungstag  $\geq 84$  % der Prüfer dem Standard entsprechend oder besser. Über den Verlauf der Lagerung reduzierte sich diese Quote auf  $\geq 75$  % am Lagerungstag 10.

Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurden von den Prüfern bereits am Herstellungstag mit insgesamt nur  $\geq 67$  % der Bewertungen als dem Standard entsprechend bzw. besser eingestuft. Über den Verlauf der Lagerung erreichten diese Hackfleischproben nur einmal am 7. Lagerungstag  $\geq 75$  % positiver Bewertungen durch die Prüfer.

Über den gesamten Untersuchungszeitraum bewerteten die Prüfer die Hackfleischproben mit dem unbekanntem Produktstandard mit  $\geq 83$  % dem Standard entsprechend oder besser. Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ erreichten bezüglich dieser Bewertung eine Quote von  $\geq 80$  %. Die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ erreichten dagegen im Mittel  $\leq 70$  % an positiven Bewertungen im Vergleich zum Produktstandard.

Nach der in der DIN-Norm 10973 vorgeschlagenen möglichen Freigaberegulung und Auswertung von Urteilen von  $\geq 10$  Prüfern, hätte die Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ zu keiner Zeit eine Freigabe von der Qualitätssicherung erhalten. Bei den Proben mit dem Produktstandard und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ hätte ein Freigabe mit Benachrichtigung der Qualitätskontrolle stattfinden können.

Es kann demnach festgestellt werden, dass die Prüfer eine nachteilige Beeinflussung der sensorischen Produktqualität durch die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ festgestellt haben, die zu einer negativen Freigabeentscheidung im Produktionsprozess führen würde, da weniger als 75 % aller Prüfer die Proben als dem Standard entsprechend oder besser bewertet haben. Zwischen der Bewertung des unbekanntes Produktstandards und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnten nur leichte und statistisch nicht signifikante Differenzen festgestellt werden, so dass diese Produkte mit  $\geq 75$  % positiven Bewertungen eine positive Freigabeentscheidung herbeigeführt hätten.

### 5.3.7.2 In / Out-Test

Bezüglich der sensorischen Produktqualität von Geflügelhackfleisch aus Putenflügelfleisch bewerteten 75 % der Prüfer im In / Out-Test nach DIN 10973, dass am Herstellungstag die Proben mit dem gekochten Produktstandard innerhalb bzw. noch innerhalb der sensorischen Spezifität des Produktes lagen. Bei den rohen Standardproben aus Putenflügelfleisch bewerteten dies 100 % der Prüfer.

Die rohen Hackfleischproben aus Putenflügelfleisch mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ bewerteten am Herstellungstag ebenfalls alle Prüfer als innerhalb bzw. noch innerhalb der sensorischen Spezifität des Produktes. Bezüglich der gekochten Hackfleischproben aus Putenflügelfleisch gaben dies 87,75 % aller Prüfer an.

Von den Hackfleischproben aus Putenflügelfleisch mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ bewerteten 85,42 % der Prüfer die rohen, und 86,25 % der Prüfer die gekochten Proben als innerhalb bzw. noch innerhalb der sensorischen Spezifität des Produktes.

Über den Verlauf der Lagerung und der sensorischen Untersuchungen reduzierten sich die Quoten der positiven Prüferbewertungen beim rohen Produktstandard von 100 % auf 76,66 % und bei den gekochten Hackfleischproben von 75 % auf 69,84 %. Bei den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ reduzierten sich die positiven Prüferbewertungen für die rohen Proben von 87,75 % auf 71,53 %. Bezüglich der gekochten Proben befanden alle Prüfer, dass sich die sensorische Produktqualität innerhalb bzw. noch innerhalb der Produktspezifikation befindet.

Die gekochten Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ befanden am 10. Untersuchungstag 69,84 % der Prüfer als innerhalb bzw. noch innerhalb des Standards. Bezüglich der rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ befanden am 10. Untersuchungstag nur noch 39,91 % aller Prüfer die sensorische Qualität des Hackfleisches als dem Standard entsprechend bzw. noch entsprechend.

Bezüglich einer Freigabeentscheidung der Qualitätssicherung hätte der Produktstandard an den Untersuchungstagen 0, 5, 7 und 10 eine positive Bewertung erhalten. Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ hätten bis zum 7. Lagerungstag eine positive Freigabeentscheidung erhalten und die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ hätten nur am Herstellungstag eine Freigabe von der Qualitätssicherung erhalten.

Die Bewertungen der Prüfer decken sich mit denen der Vorversuche. Trotz unterschiedlicher Rohstoffe (Putenbrust und Putenflügelfleisch) kann festgestellt werden, dass die Zugabe der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ eine starke Ansäuerung der Produkte und somit eine schlechtere Bewertung der Hackfleischproben durch die Prüfer bewirkt. Auch die Farbe der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurde von den Prüfern als qualitätsreduzierendes Attribut bewertet.

Zwischen dem Produktstandard und den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnten über den Lagerungsverlauf ebenfalls geringe, und zum Teil statistisch

signifikante Differenzen bezüglich der Prüferbewertungen festgestellt werden, im Vergleich mit dem unbekanntem Produktstandard konnten die Ergebnisse der Prüferbewertungen jedoch relativiert werden, so dass auch hier von einer unwillkürlichen Beeinflussung der Prüfer durch die Vorgabe eines bekannten Produktstandards ausgegangen werden kann. Dies ist zum Einen erwünscht, führt jedoch mitunter zu willkürlich schlechteren Bewertungen der Vergleichsproben.

### 5.3.7.3 Hedonischer Akzeptanztest

Durch den hedonischen Akzeptanztest wurde die Verbraucherakzeptanz der Hackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch durch eine Verbraucherstichprobe bewertet. Die sensorische Prüfung erfolgte in Anlehnung an die E DIN-Norm 10974 und im Sinne dieser Norm als Akzeptanztest, der die Bewertung der Intensität ausgewählter Produkteigenschaften vorsieht. Aufgrund der relativ kleinen Verbraucherstichprobe (durchschnittlich 10 Testpersonen) sind bei der statistischen Auswertung der Testergebnisse wieder nur qualitative Aussagen möglich, da für eine Quantifizierung bzw. für repräsentative Aussagen bezüglich der sensorischen Produkteigenschaften der Hackfleischproben eine Verbraucherstichprobe von mindestens 60 Prüfpersonen rekrutiert werden muss.

Bezüglich des „Aussehens in der Verpackung“ kann festgestellt werden, dass die Prüfpersonen anhand der Hedonischen-9-Punkte-Verbalskala bei allen untersuchten Proben über den Verlauf der Lagerung der Proben eine nachlassende Qualität wahrgenommen haben und die Proben dementsprechend schlechter bewertet haben. Nach 10 Tagen wurde der unbekannte Produktstandard von den Prüfern am besten bewertet, gefolgt von Produktstandard und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup>, zwischen denen nach 10 Tagen kein signifikanter Unterschied feststellbar war. Am schlechtesten wurden die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> bewertet, die nach 10-tägiger Lagerung von den Testpersonen im Durchschnitt mit „gefällt weniger“ bewertet wurden.

Dies Ergebnisse stehen im Widerspruch zu veröffentlichten Studien von BUDDE et al. (2003), BREDHOLT et al. (1999 und 2001), sowie JACOBSEN et al. (2003), die beschreiben, dass der Einsatz von *Leuconostoc carnosum* als Schutzkultur in Cervelat- bzw. Brühwurstaufschnitt keine signifikanten sensorischen Beeinflussungen der untersuchten Produkte bewirkt hat.

Bezüglich des Geruchs der Hackfleischproben kann festgestellt werden, dass bei den gekochten Proben eine relativ konstante Bewertung der Testpersonen über den gesamten Untersuchungszeitraum erfolgt ist. Außer bei den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> fiel die Bewertung durch die Testpersonen nach 10 Tagen im Durchschnitt auf dem gleichen Niveau aus, wie am Herstellungstag. Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> wurden nach 10-tägiger Lagerung von den Testpersonen im Durchschnitt eine Skaleneinheit schlechter bewertet, als zu Beginn des Untersuchungszeitraumes.

Bezüglich des Geruchs der rohen Hackfleischproben konnte beobachtet werden, dass zwischen den Bewertungen der Produktstandards und den Bewertungen für die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> über den Verlauf der Lagerung keine signifikanten Unterschiede festzustellen waren. Nach 10-tägiger Lagerung der Proben wurden der unbekannte Produktstandard und die Probe mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> von den Testpersonen im Durchschnitt gleich bewertet. Die Probe mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> wurde von den Testpersonen ab dem 5. Untersuchungstag bezüglich des Geruchs signifikant schlechter bewertet, als die übrigen untersuchten Proben. Nach 10

Lagerungstagen wurde eine signifikante Differenz zum Produktstandard von 1,5 Skaleneinheiten festgestellt.

Als Gründe für die unterschiedlichen Bewertungen der rohen Proben durch die Testpersonen wurden von diesen vor allem der untypische und saure Geruch der Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ angeführt, der ab dem 5. Lagerungstag deutlich wahrnehmbar gewesen ist. Dieser ist auf die im Vergleich zu der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ starke pH-Wertsenkung des Hackfleisches zurückzuführen, die durch die Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ bewirkt wird (vgl. 4.5.2.2).

Bezüglich des Geschmacks der Hackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch konnte festgestellt werden, dass von den Testpersonen über den Verlauf der 10-tägigen Lagerungszeit eine relativ einheitliche Bewertung der unterschiedlichen Hackfleischproben erfolgt ist. Während am Herstellungstag zwischen den Bewertungen der verschiedenen Proben noch ca. 1,5 Skaleneinheiten lagen, konnten ab dem 3. Untersuchungstag nur noch geringe Differenzen in den Bewertungen festgestellt werden. Am Ende der Untersuchungen wurden alle getesteten Hackfleischproben bezüglich der Verbraucherakzeptanz höher bewertet, als zu Beginn der Untersuchungen. Laut Bewertung der Testpersonen „gefielen“ alle untersuchten Hackfleischproben am Ende der Lagerung „etwas“. Dennoch konnten am 10. Untersuchungstag statistisch signifikante Differenzen zwischen den Bewertungen der Produktstandards und den Bewertungen der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ festgestellt werden.

Als Ursache für die relativ einheitliche und konstante Bewertung des Geschmacks der Hackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch kann angeführt werden, dass der untypische und saure Geruch der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ durch den Garprozess deutlich reduziert wahrnehmbar war. Im allgemeinen konnten von den Testpersonen über den gesamten Untersuchungszeitraum bezüglich des Geschmacks keine größeren Differenzen zwischen den einzelnen Proben wahrgenommen werden.

Vergleichbare Ergebnisse wurden von BREDHOLT et al. (1999 und 2001), sowie von JACOBSEN et al. (2003) veröffentlicht, die beschreiben, dass der Einsatz von *Leuconostoc carnosum* (B-SF 43 Bactoform™) eine etwas stärkere Ausprägung des sauren Flavors bzw. Geschmacks der untersuchten Produkte bewirkt hat, was die sensorische Akzeptanz der Prüfpersonen jedoch nicht negativ beeinflusst hat.

Bezüglich der Textur der rohen Hackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch kann festgestellt werden, dass die Testpersonen zwischen den verschiedenen Proben nur an Tag 5 (B-SF 43) und Tag 10 (B-LC 20) signifikante Unterschiede zwischen den Proben wahrgenommen haben. Mit Ausnahme der rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnte über den Lagerungsverlauf eine Stagnation in den Prüferbewertungen festgestellt werden, die darauf schließen lässt, dass die Schutzkulturen keinen signifikanten Einfluss auf die Textur des Hackfleisches nehmen.

Die Bewertung der Farbe der rohen Hackfleischproben durch die Prüfer erfolgte über den Lagerungsverlauf, mit Ausnahme des 7. Untersuchungstages, sehr einheitlich. Alle Testpersonen registrierten eine Abnahme der Farbintensitäten der Proben. Über den gesamten Lagerungs- und Untersuchungszeitraum erhielten die beiden Produktstandards höhere Prüferbewertungen, als die Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen. Die sensorischen Bewertungen der Testpersonen bezüglich der Farbentwicklung korrelieren mit den Ergebnissen der instrumentellen Farbmessungen, wenngleich bei diesen zwischen den einzelnen Proben keine signifikanten Unterschiede ermittelt wurden. Es muss somit davon ausgegangen werden, dass die Farbe des Hackfleisches aufgrund der pH-Wert-Reduzierung

durch die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ etwas, und durch die Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ stark beeinflusst wird.

Vergleichbare Ergebnisse beschreiben auch LI et al. (2008), die festgestellt haben, dass *P. parvulus* die Farbe von traditionell hergestellten Würsten über den Verlauf der Lagerung negativ beeinflusst. In Untersuchungen von KATIKOU et al. (2005) konnte dagegen mittels instrumenteller Farbmessung nachgewiesen werden, dass durch den Einsatz der Schutzkulturen *Lb. sakei* und *Lb. curvatus* in frischem Schlachtfleisch keine signifikanten Beeinflussungen der Produktfarbe bewirkt worden sind.

#### 5.3.7.4 Rangordnungsprüfung

Durch die Rangordnungsprüfung in Anlehnung an die ISO-Norm 8587-2006 konnte nachgewiesen werden, dass die die Geflügelhackfleischproben aus Putenoberkeulenfleisch mit den eingesetzten Schutzkulturen über den Verlauf der 10-tägigen Untersuchungen von den Prüfpersonen bezüglich ihrer Präferenzen unterschiedlich bewertet wurden. Da den Prüfpersonen der Produktstandard aus Putenoberkeulenfleisch bekannt war, und um eine diesbezügliche Beeinflussung der Prüfpersonen bei der Bewertung der Hackfleischproben zu vermeiden, waren neben dem Produktstandard und den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen auch Proben zu bewerten, die einen den Prüfern unbekanntem Produktstandard aus Putenoberkeulenfleisch beinhalteten. Bei diesem handelte es sich um Hackfleisch derselben Produktion und desselben Lagerungstages, wie bei dem Produktstandard, der den Prüfern bekannt war.

Den Ergebnissen zufolge hatte das Wissen über den Produktstandard einen Einfluss auf die Bewertung der Hackfleischproben, denn da es sich um identische Proben handelte, hätten auch vergleichbare Bewertungen von Seiten der Prüfer vorgenommen werden müssen.

Bei den gekochten Hackfleischproben wurde von den Prüfpersonen an allen Untersuchungstagen der bekannte Produktstandard präferiert. Der unbekanntem Produktstandard wurde dagegen völlig anders bewertet und von den Prüfern an den Untersuchungstagen 3 und 10 sogar auf dem letzten Probenrang bewertet. An Tag 5 vergaben die Prüfer für den unbekanntem Produktstandard den 3. Rang und an Tag 7 den 2. Rang nach dem bekannten Standard.

Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden an den Tagen 0, 5 und 10 von den Prüfern jeweils mit dem 2. Probenrang bewertet, an Tag 3 mit dem 3. und an Tag 7 mit dem 4. Probenrang.

Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden von den Prüfern an Untersuchungstag 0 und 5 mit dem 4. Probenrang bewertet. An den Tagen 7 und 10 werteten die Prüfer die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ auf Rang 3 und an Untersuchungstag 3 auf dem 2. Rang.

Betrachtet man die Prüferbewertung für die gekochten Hackfleischproben über den gesamten Untersuchungszeitraum, so kann festgestellt werden, dass die Prüfer den ihnen bekannten Produktstandard vor den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ präferiert haben. Die Proben mit dem unbekanntem Standard wurden dagegen von den Prüfern im Durchschnitt mit dem höchsten Probenrang bewertet und die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 wurden mit dem 3. Probenrang bewertet.

Bezüglich der rohen Proben ergab sich bei der Auswertung der Prüfbögen eine homogenere Verteilung der Bewertungen. Der bekannte Produktstandard wurde, mit Ausnahme des 3. Untersuchungstages, an allen Tagen von den Prüfern präferiert.

Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden von den Prüfern an allen Untersuchungstagen am schlechtesten bewertet (Rang 4).

Die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden, mit Ausnahme von Untersuchungstag 7 (Rang 2), von den Prüfern an allen Tagen mit dem 3. Rang bewertet.

Und der den Prüfern unbekannt Standard wurde an den Tagen 0, 5 und 10 jeweils mit dem 2. Probenrang bewertet. An Tag 3 wurde er vor dem Produktstandard von den Prüfern präferiert und an Tag 7 erhielt er von den Prüfern den 3. Rang.

Über den gesamten Lagerungsverlauf bewerteten die Prüfer den bekannten Standard am besten, gefolgt von dem unbekanntem Produktstandard, den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ und den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™.

Als Ursache für die durchgehend einheitliche positive Bewertung des bekannten Produktstandards kann vermutet werden, dass das Wissen der Prüfer darüber, dass es sich um den Produktstandard handelt, die Bewertung diesbezüglich beeinflusst hat. Diese Vermutung wird durch die Bewertung des unbekanntem Produktstandards durch die Prüfer unterstützt.

Unstrittig ist jedoch die schlechte Bewertung der rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™, die laut Prüferaussagen vor allem durch den säuerlichen Geruch der Proben gerechtfertigt wurde. Betrachtet man die Ergebnisse der pH-Wertmessungen, so zeigen sich deutliche Parallelen zu den von den Prüfern wahrgenommenen Geruchseindrücken. Auch bezüglich der Farbe wurden die Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ gegenüber den anderen oft nachteilig bewertet.

Die Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden von den Prüfern im gekochten Zustand auf Rang 2, und im rohen Zustand auf Rang 3 bewertet.

Die Differenzen in den Bewertungen der Prüfer von rohen und gekochten Proben lassen sich zum Einen über die Farbe der Proben erklären, da im Gegensatz zu den rohen Proben diesbezüglich zwischen den gekochten Hackfleischproben keinerlei Unterschiede mehr festzustellen waren. Auch wurden durch das 15-minütige Kochen der Hackfleischproben eventuelle Off-Flavors der Proben, welche die Bewertung der rohen Proben sehr stark beeinflusst haben, von den Prüfern nicht oder nur vermindert stark wahrgenommen. Zum Anderen waren bei den gekochten Hackfleischproben auch bezüglich der Textur keinerlei Unterschiede zwischen den Proben festzustellen.

Durch die Auswertung der Untersuchungsergebnisse mit der Friedmann'schen Statistik konnte festgestellt werden, dass an allen Untersuchungstagen zwischen dem rohen Produktstandard und den rohen Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ signifikante Unterschiede von den Prüfern wahrgenommen wurden. Bei den gekochten Hackfleischproben wurden zwischen dem Produktstandard und den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ an den Untersuchungstagen 5,7 und 10 statistisch signifikante Unterschiede von den Prüfern ermittelt, zwischen dem Produktstandard und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ dagegen an keinem Tag. Bezüglich der rohen Proben wurden zwischen dem Produktstandard und den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ an den Tagen 0 und 5 signifikante Unterschiede festgestellt.

Es ist somit davon auszugehen, dass durch die eingesetzten Schutzkulturen eine negative Beeinflussung der sensorischen Produktqualität des Geflügelhackfleischs nicht auszuschließen ist, wenngleich aufgrund der Größe des Verbraucherpool keine quantitativen und repräsentativen Aussagen bezüglich der Verbrauchermeinung zulässig sind.

---

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass trotz unterschiedlicher Prüfverfahren und unterschiedlicher untersuchter Rohstoffe relativ übereinstimmende Prüferbewertungen erzielt worden sind, die den Einfluss der Schutzkulturen auf die sensorische Produktqualität erkennen lassen.

Bei allen durchgeführten Prüfungen erhielten die Proben mit dem Produktstandard die besten Prüferbewertungen. Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ unterschieden sich leicht von den Produktstandards, wurden aber von den meisten Prüfern bezüglich der Akzeptanz präferiert, da keine wahrnehmbare Säuerung des Produktes festzustellen war. Die Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ erhielten dagegen bei allen sensorischen Prüfverfahren und bei allen untersuchten Rohstoffen signifikant schlechtere Bewertungen, die darauf schließen lassen, dass die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ aufgrund der von ihr verursachten pH-Wertsenkung im Hackfleisch sensorisch wahrnehmbare Beeinträchtigungen der Produktqualität des Geflügelhackfleisches bewirkt.

## 6. Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen in der hier vorliegenden Arbeit sind durchgeführt worden, um die Auswirkungen verschiedener Schutzkulturen auf die mikrobiologische und sensorische Produktqualität von frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch herauszustellen, welches bei einer Temperatur von +2 °C für 10 Tage gelagert wird. Hintergrund der Untersuchungen war die geplante Herstellung und Vermarktung von frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch im SB-Segment deutscher Handelsketten. Das erfordert eine Modifizierung der Herstellungstechnologie, um das erforderliche „shelf-life“ von 8 bis 10 Tagen bei einer Kühllagertemperatur von +2 °C sicherzustellen und damit dem präventiven Verbraucherschutz Rechnung zu tragen.

In den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass bei einer initialen Keimzahl der Schutzkulturen von  $\geq 6 \log \text{KbE/g}$  Hackfleisch im Vergleich zu den Kontrollproben eine signifikante Reduzierung der Keimbelastung des Hackfleisches über den Verlauf der 10-tägigen Lagerungszeit bei +2 °C bewirkt werden konnte. Um diese initialen Keimzahlen zu realisieren, müssen gemäß den Herstellerangaben (HANSEN 2002) ca. 0,25 g der Schutzkultur pro kg Hackfleisch eingebracht werden. Kalkulatorisch entspricht diese Eintragsmenge einer Summe von ca. 0,04 Euro/kg Hackfleisch. Größere Einsatzmengen bewirkten im Vergleich dazu keine statistisch signifikant größere Inhibierung der produktspezifischen Keimflora.

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten mikrobiologischen Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass die Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ zur Biokonservierung von frischem MAP-gelagertem Geflügelhackfleisch in Kombination mit einer kontinuierlichen Kühllagerung bei Temperaturen von  $\leq +2 \text{ °C}$  geeignet sind, das Wachstum und die Vermehrung von produktassoziierten Verderbnis erregenden und pathogenen Mikroorganismen während der 10-tägigen Lagerungszeit zu inhibieren.

Die Verwendung unterschiedlicher Fleischpartien für die Herstellung des Hackfleisches und damit verbundene variierende Rohstoffzusammensetzungen und –eigenschaften, hatten auf die von den Schutzkulturen ausgehenden Effekte keinen signifikanten Einfluss.

Die bakteriostatischen bzw. bakteriziden Effekte der Schutzkulturen auf das produktspezifische Keimspektrum von Geflügelhackfleisch sind u.a. von der Anfangskeimbelastung der verarbeiteten Rohstoffe abhängig. In den Versuchen konnte aufgezeigt werden, dass sich mit steigenden Anfangskeimgehalten der Rohstoffe, die zur Herstellung des Hackfleisches herangezogen wurden, trotz des Eintrages der Schutzkulturen die Keimzahlen der untersuchten Mikroorganismen, im Vergleich zu Hackfleisch aus Rohstoffen mit niedrigeren Anfangskeimgehalten, über den Verlauf der Kühllagerung erhöhten. Aufgrund der teilweise variierenden mikrobiellen Keimbelastungen der verarbeiteten Rohstoffe wurden diesbezüglich unterschiedlich starke Effekte der Schutzkulturen beobachtet, die teilweise stark ausgeprägte Varianzen der Ergebnisse bewirkt haben. Es kann somit geschlussfolgert werden, dass zur Erzielung effektiver und protektiver Wirkungen der Schutzkulturen auf die produktspezifische Keimflora, Rohstoffe mit möglichst niedrigen mikrobiellen Keimbelastungen herangezogen werden müssen.

Durch die Inokulation von sporadisch vorkommenden Humanpathogenen konnte nachgewiesen werden, dass die Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ eine z.T. signifikante Inhibierung der Inokuli bewirkt haben, deren Ursachen u.a. in der Bakteriozinfreisetzung des Stammes *Pediococcus acidilactici* bzw. des Stammes *Leuconostoc carnosum* begründet sind. Aber auch andere mikrobiologische Hürden, wie z.B. die kompetitive Hemmung der Begleitflora im Geflügelhackfleisch, haben eine Reduzierung der Keimbelastung bewirkt.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere, in dieser Arbeit nicht untersuchte, pathogene und verderbniserregende Mikroorganismen ist nicht auszuschließen, muss aber durch weitere Folgeuntersuchungen bestätigt werden.

Die Ergebnisse der physikalischen und sensorischen Untersuchungen lassen die Schlussfolgerung zu, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ keine signifikanten Beeinflussungen des pH-Wertes und der sensorischen Produktparameter „Geruch“, „Geschmack“, „Farbe“, „Textur“ und „Aussehen in der Verpackung“ bewirkt und somit auch unter Berücksichtigung der sensorischen Produktqualität als Schutzkultur zur Biokonservierung von Geflügelhackfleisch geeignet erscheint, unabhängig davon, welche Fleischpartien für die Herstellung des Geflügelhackfleisches herangezogen wurden.

Der Einsatz der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ bewirkte dagegen teilweise signifikante Beeinflussungen der sensorischen Produktqualität, vor allem bei den Attributen „Geruch“ und „Geschmack“, welche auf die Säureproduktion von *Leuconostoc carnosum* zurückzuführen sind. Diese waren in den Versuchen mit Hackfleisch aus Putenoberkeulenfleisch ausgeprägter, als in den Versuchen, in denen Flügel- bzw. Brustfleisch für die Herstellung des Hackfleisches verwendet wurde. In den physikalischen Untersuchungen konnten anhand der ermittelten pH-Werte der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ die subjektiven Wahrnehmungen der Prüfer instrumentell bestätigt werden. Die Schutzkultur bewirkt im Hackfleisch aufgrund der Freisetzung von Milchsäure eine signifikante Reduzierung des pH-Wertes, welche in den sensorischen Prüfungen wahrnehmbar war. Aufgrund dieser signifikanten Beeinflussung der sensorischen Produktqualität erwies sich die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ trotz der positiven mikrobiologischen Effekte für den Einsatz bei der Biokonservierung von frischem MAP-verpacktem und –gelagertem Geflügelhackfleisch als nicht geeignet.

Durch die instrumentellen Farbmessungen konnten die subjektiven Wahrnehmungen der Prüfer bei den sensorischen Prüfungen bezüglich des Einflusses der beiden Schutzkulturen auf die Farbe des Hackfleisches instrumentell bestätigt werden. In allen durchgeführten Messungen konnte bestätigt werden, dass die Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ keinen Einfluss auf die Farbe des Hackfleisches nehmen. Diese wird vielmehr durch die verwendete Schutzgas-Atmosphäre im Headspace der Verpackung und durch enzymatische bzw. mikrobiologische Verderbsprozesse beeinflusst.

Andere physikalische Parameter, wie der  $a_w$ -Wert oder die Entwicklung der Gasatmosphäre in der Verpackung, wurden durch den Einsatz der Schutzkulturen ebenfalls nicht beeinflusst.

---

Es kann somit geschlussfolgert werden, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ der Fa. Chr. Hansen (Hørsholm, Dk) geeignet ist, bezüglich der Biokonservierung von frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch eine Reduzierung der mikrobiellen Belastung von frischem und MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch zu bewirken, ohne signifikante sensorische Beeinflussungen des Produktes hervorzurufen.

Durch den Einsatz der Schutzkultur bei der Herstellung von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch kann den Änderungen im neuen europäischen Hygienerecht entsprochen werden, welche den präventiven Verbraucherschutz durch eine Erweiterung der Eigenverantwortung der Hersteller stärken. Diese Erweiterung der Eigenverantwortung erfordert präventive Maßnahmen von Seiten der Erzeuger und Hersteller, wie z.B. die Entwicklung und Bewertung innovativer und mikrobiologisch sicherer Herstellungstechnologien für alle neuen Produkte.

Aufgrund der beschriebenen Ergebnisse ist die Zielstellung dieser Arbeit erreicht worden. Der Einsatz der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ bei der Herstellung von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch für den SB-Bereich des Einzelhandels schafft bei der Verwendung von qualitativ hochwertigen Rohstoffen mit niedrigen mikrobiellen Ausgangskeimgehalten und einer Verpackung unter modifizierter Atmosphäre, die bis zum Verbrauch unversehrt bzw. verschlossen ist, eine der grundlegenden Voraussetzungen dafür, dass das Produkt Geflügelhackfleisch bei einer gleichzeitig kontinuierlichen und ununterbrochenen Lagerungstemperatur von  $\leq +2$  °C im Handel mikrobiologisch unbedenklich und sensorisch einwandfrei mit einer maximalen Verbrauchsdauer von 8 - 10 Tagen vertrieben werden kann.

## 7. Zusammenfassung

Peter Kosko

### **Untersuchungen zur mikrobiologischen Beschaffenheit und sensorischen Produktqualität von Geflügelhackfleisch nach Biokonservierung mit Milchsäurebakterien.**

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in Modellversuchen den Einfluss von unterschiedlichen Schutzkulturen auf die mikrobiologische und sensorische Produktqualität von frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch zu untersuchen, welches bei einer Temperatur von +2 °C für 10 Tage gelagert wurde. Der Einsatz der Schutzkulturen erfolgte, um die wissenschaftlichen Grundlagen für die geplante Herstellung und Vermarktung von frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch im SB-Segment deutscher Handelsketten zu legen und das erforderliche „shelf-life“ von 8 bis 10 Tagen, bei einer Kühllagertemperatur von +2 °C sicherzustellen.

Zu diesem Zweck wurde in der hier vorliegenden Arbeit aus 3 unterschiedlichen Fleischpartien von weiblichen Mastputen frisches Hackfleisch hergestellt. Dieses wurde während der Herstellung unter kontrollierten Bedingungen mit den beiden Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-SF 43 Bactoferm™ der Fa. Chr. Hansen, (Hørsholm, Dk) beimpft und im Anschluss unter einer modifizierten Atmosphäre, bestehend aus 70 Vol-% Sauerstoff und 30 Vol-% Kohlendioxid, verpackt.

Vor der Herstellung des Hackfleisches wurde eine chemische Vollanalyse der verwendeten Rohstoffe durchgeführt, bei der die Parameter Aschegehalt, Trockensubstanz, Gesamtfettgehalt, Rohprotein und Bindegewebeisweißgehalt gemäß den Methoden der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des LFGB untersucht wurden.

Bezüglich der Beimpfung des Hackfleisches mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden in den Vorversuchen 3 verschiedene Applikationsmethoden getestet, um eine homogene Verteilung der Schutzkulturen im Hackfleisch sicherzustellen. Zudem wurden Versuche mit unterschiedlichen Konzentrationen der zugesetzten Schutzkulturen durchgeführt, bei welchen die optimale Menge der einzubringenden Kulturen festzustellen war.

Die Lagerung des Hackfleisches erfolgte für die Dauer von 10 Tagen bei einer Lagerungstemperatur von +2 °C. Das Hackfleisch wurde innerhalb des Untersuchungszeitraumes an den Lagerungstagen 0, 3, 5, 7 und 10 mikrobiologisch, physikalisch und sensorisch untersucht.

Als mikrobiologische Untersuchungsparameter wurden über den Lagerungsverlauf die Entwicklungen der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl, der aeroben Milchsäurebakterien sowie die Entwicklung der Keimzahlen von *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* ssp., *Brochotrix thermosphacta*, *Listeria* ssp., *Campylobacter* ssp., *Salmonella enterica* und *Staphylococcus aureus* gemäß den Methoden der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des LFGB bzw. der entsprechenden DIN- und ISO-Normen untersucht, da es sich bei diesen Mikroorganismen um typische produktassoziierte Keime handelt, die zum Einen zum mikrobiologischen Verderb der Produkte beitragen und zum Anderen als Auslöser von lebensmittelassoziierten Zoonosen gelten. Da die 4 letzt-

genannten Mikroorganismen in Geflügelhackfleisch nur sporadisch nachweisbar sind, wurden diese während der Hauptversuche bei der Herstellung künstlich in Keimzahlen von ca.  $4 \log \text{KbE/g}$  in das Hackfleisch inokuliert, um quantifizierbare Aussagen über die Effekte vornehmen zu können, die von den Schutzkulturen gegen diese Mikroorganismen entwickelt werden.

An physikalischen Parametern wurden die Temperatur, der  $a_w$ -Wert und der pH-Wert gemäß den Methoden der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des LFGB untersucht. Die Farbe des Hackfleisches und deren Entwicklung über den Lagerungsverlauf wurden mittels instrumenteller Farbmessung untersucht.

Um mögliche negative Beeinflussungen der sensorischen Produkteigenschaften durch die verwendeten Schutzkulturen ausschließen zu können, wurden darüber hinaus umfangreiche sensorische Prüfungen durchgeführt. Um eventuelle Auswirkungen der Schutzkulturen auf die sensorische Produktqualität festzustellen, wurden verschiedene Testverfahren angewendet, bei denen sowohl geschulte Prüfer, als auch ungeschulte Prüfpersonen die Qualität des Hackfleisches über den Verlauf der 10-tägigen Kühlung bei  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  bewerteten. Als Prüfverfahren wurden Rangordnungsprüfungen in Anlehnung an die ISO-Norm 8587, skalierte und deskriptive Innerhalb / Außerhalb-Prüfungen nach DIN 10973 sowie Verbrauchertests mittels hedonischer 9-Punkte-Verbalskala in Anlehnung an E DIN 10974 durchgeführt. Durch die unterschiedlichen Prüfmethoden sollte eine möglichst hohe Repräsentativität der Ergebnisse erreicht werden. Zudem wurden in den analytischen Prüfungen geschulte Prüfer eingesetzt, welche die festgelegten Attribute „Aussehen in der Verpackung“, „Farbe“, „Geruch“, „Geschmack“ und „Textur“ zu bewerten hatten. In den hedonischen Prüfungen wurden dagegen überwiegend Verbraucher (Studenten) bezüglich ihrer Präferenz bzw. Akzeptanz der Hackfleischproben befragt.

Die Auswertung der Vorversuchsergebnisse ergab, dass die eingesetzten Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> und B-SF 43 Bactoform<sup>TM</sup> bei einer Lagerungstemperatur von  $+2 \text{ }^\circ\text{C}$  im Hackfleisch wachstums- und vermehrungsfähig sind und dass die Dosierung und Applikation der Schutzkulturen gemäß den Herstellerangaben (HANSEN 2002) erfolgen kann, um eine effektive und protektive Wirkung der Schutzkulturen im Hackfleisch zu bewirken. Der Hersteller empfiehlt für die Herstellung von Brät das direkte Einbringen der gefriergetrockneten Kulturen in Konzentrationen von  $0,25 \text{ g/kg}$  während des Mischprozesses.

Bei einem Verkaufspreis von ca. 4,- Euro/Packung der jeweiligen Schutzkulturen<sup>1</sup> ergeben sich durch den Eintrag der Schutzkulturen in das Hackfleisch bei der Herstellung nur 0,04 Euro kalkulatorische Mehrkosten pro kg Hackfleisch, da für den Eintrag keine zusätzlichen technologischen und / oder logistischen Hilfsmittel erforderlich sind. Die lyophilisierten Schutzkulturen werden dem Hackfleisch direkt beim Mischen hinzugefügt und werden durch den Mischprozess gleichmäßig in der Masse verteilt.

Die Ergebnisse der chemischen Vollanalyse ergaben, dass zwischen den unterschiedlichen Rohstoffen Putenbrust-, Putenflügel- und Putenoberkeulenfleisch geringfügige und z.T. statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der untersuchten Parameter festzustellen waren.

---

<sup>1</sup> Herstellerangaben der Fa Chr. Hansen 2002

---

Die Werte des Parameters Asche ergaben nur minimale Unterschiede zwischen den drei Geflügelfleischpartien. Die jeweiligen Anteile lagen zwischen 0,98 bis 1,03 %.

Auch im Hinblick auf die TS- und Wasserbestimmung ergaben sich nur geringfügige Abweichungen.

Die ermittelten Ergebnisse der ONF-Bestimmung lagen im Keulenfleisch bei durchschnittlich 19,3 %, im Flügelfleisch bei durchschnittlich 22,1 % sowie im Brustfleisch bei durchschnittlichen 12,3 %.

Die Werte der Parameter Hydroxiprolin und Bindegewebeisweiß wiesen ebenfalls keine großen Schwankungen auf.

Der Gesamtfettgehalt im Brustfleisch betrug im Mittel 1,7 %. Im Flügelfleisch konnten durchschnittlich 3,5 % Gesamtfett nachgewiesen werden und im Keulenfleisch wurden durchschnittliche Gesamtfettgehalte von 6,8 % ermittelt.

Bei der Gesamteiweißbestimmung konnten ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Geflügelfleischpartien analysiert werden. Der Gesamteiweißgehalt von Keulenfleisch lag mit durchschnittlich 19,1 % am niedrigsten und der des Brustfleisches mit 24,3 % am höchsten. Mit 22,4 % lag der Anteil an Gesamteiweiß des Flügelfleischs zwischen den beiden Eiweißgehalten der anderen Fleischpartien.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen haben ergeben, dass die beiden eingesetzten Schutzkulturen B-LC 20 Safe Pro™ und B-Sf 43 Bactoform™ das Potenzial besitzen, die produktspezifische Begleitflora in frischem MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch während der Lagerung bei +2 °C signifikant zu inhibieren. In allen Versuchen konnte beobachtet werden, dass die Keimzahlen der untersuchten Mikroorganismen in den Hackfleischproben mit den Schutzkulturen bis zum Ende der Lagerungszeit weniger stark anstiegen, als in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen.

Bezüglich des Nachweises von *Enterobacteriaceae* konnten durch die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™, verglichen mit der Kontrollprobe, nach 10-tägiger Kühlung Lagerung Reduzierungen der Keimzahlen um durchschnittlich 1,27 log KbE/g festgestellt werden. In den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden am Ende der Lagerung durchschnittlich 0,9 log KbE/g weniger *Enterobacteriaceae* nachgewiesen, als in den Kontrollproben.

Der Nachweis von *Pseudomonas* ssp. in den Hackfleischproben ergab, dass in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ durchschnittlich 1,01 log KbE/g weniger Keime nachweisbar waren, als in den Kontrollproben. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden im Durchschnitt 0,64 log KbE/g weniger *Pseudomonas* ssp. nachgewiesen, als in den Kontrollproben.

Bezüglich des Nachweises von *Brochotrix thermosphacta* konnte festgestellt werden, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ gegenüber den Kontrollproben eine Reduzierung der nachgewiesenen Keimzahlen an *Brochotrix thermosphacta* um durchschnittlich 0,54 log KbE/g bewirkt hat. Durch den Eintrag der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ konnten dagegen keine signifikanten Reduzierungen der Keimzahlen von *Brochotrix thermosphacta* bewirkt werden.

Durch die qualitativen Nachweise von *Campylobacter* ssp. in den Hackfleischproben konnte nachgewiesen werden, dass durch den Eintrag der beiden Schutzkulturen in das Geflügelhackfleisch die Anzahl der positiven Nachweise am Ende der Lagerungszeit um durchschnittlich 20 % reduziert werden konnte.

Die qualitativen Nachweise von *Listeria* ssp. in den Hackfleischproben haben ergeben, dass die Anzahl der positiven Nachweise am Ende der Lagerungszeit durch den Eintrag der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ um durchschnittlich 5 % reduziert werden konnte und durch den Eintrag der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ um durchschnittlich 10 %.

Bezüglich der mikrobiellen Anfangsbelastung der verwendeten Rohstoffe konnte festgestellt werden, dass das verwendete Putenflügelfleisch in der mikrobiellen Belastung signifikante Unterschiede zu den beiden anderen verwendeten Rohstoffen (Brust- und Oberkeulenfleisch) aufwies. Die im Vergleich erhöhten Anfangskeimgehalte bewirkten in den Hackfleischproben am Ende der Lagerung signifikant erhöhte Keimzahlen der nachgewiesenen Mikroorganismen. Auch der Eintrag der jeweiligen Schutzkulturen konnte dies nicht verhindern, allerdings konnten die durch die Schutzkulturen verursachten bakteriostatischen Effekte die Keimzahlen im Vergleich zu den Kontrollproben signifikant reduzieren.

In den Versuchen mit inokuliertem Geflügelhackfleisch konnten die antilisteriellen Effekte der Schutzkulturen quantifiziert werden. In den inokulierten Hackfleischproben (ca. 4 log KbE *Listeria monocytogenes*/g Hackfleisch) mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ konnten nach 10 Tagen Lagerung bei +2 °C im Durchschnitt 2,10 log KbE/g weniger *Listeria monocytogenes* nachgewiesen werden, als in den Kontrollproben. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden am Ende der Lagerungszeit durchschnittlich 1,64 log KbE/g weniger nachgewiesene *Listeria monocytogenes* festgestellt.

Auch der quantitative Nachweis von inokulierten *Salmonella enterica* (ca. 4 log KbE/g) erbrachte in den Hackfleischproben mit den Schutzkulturen nach 10 Tagen Lagerung reduzierte Keimzahlen im Vergleich zu den Kontrollproben. In den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ wurden im Durchschnitt 0,71 log KbE/g weniger *Salmonella enterica* nachgewiesen, als in den Kontrollproben. In den Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C durchschnittlich 0,37 log KbE/g weniger *Salmonella enterica* nachgewiesen, als in den Kontrollproben ohne Schutzkulturen.

Durch den quantitativen Nachweis von inokulierten *Staphylococcus aureus* (ca. 4 log KbE/g) konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass die beiden eingebrachten Schutzkulturen bakteriostatische Effekte auf die Inokuli bewirkt haben. Nach 10-tägiger Lagerung bei +2 °C wurden in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ durchschnittlich 1,01 log KbE/g weniger *Staph. aureus* nachgewiesen, als in den Kontrollproben. Bezüglich der Proben mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoform™ wurden im Vergleich zu den Kontrollproben durchschnittlich 0,35 log KbE/g weniger *Staph. aureus* in den Hackfleischproben nachgewiesen.

Der Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl konnte als Indikator zur Bewertung der mikrobiellen Belastung des Hackfleisches nur in den Kontrollproben herangezogen werden, da durch den Eintrag der Schutzkulturen in das Hackfleisch die Gesamtkeimzahl im Hackfleisch bewusst erhöht wurde, und eine Differenzierung zwischen den eingebrachten

Milchsäurebakterien und den restlichen Mikroorganismen der Hackfleischflora nicht vorgenommen wurde. In den Kontrollproben konnte allerdings beobachtet werden, dass die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl über den 10-tägigen Lagerungsverlauf kontinuierlich auf durchschnittliche Werte von  $\geq 6,5 \log \text{KbE/g}$  anstieg, so dass das Hackfleisch nach Ablauf der Lagerung nicht mehr den mikrobiologischen Kriterien der VO (EU) 2073/2005 entsprach.

Der Nachweis von aeroben Milchsäurebakterien in den Hackfleischproben erbrachte, dass sich die Keimzahlen in den Kontrollproben bis zum Ende der Lagerungszeit auf durchschnittliche Werte von  $5,7 \log \text{KbE/g}$  erhöhte. In den Proben mit den jeweiligen Schutzkulturen wurden im Verlauf der Lagerung durchschnittliche Keimzahlen zwischen 6 und  $8 \log \text{KbE/g}$  ermittelt. Die hohen Keimzahlen begründen sich im Eintrag der jeweiligen Schutzkulturen und sind notwendig, damit sich die Schutzkultur gegen die produktspezifische Flora durchsetzen kann, um ihre Antagonismen gegen die Begleitflora zu entwickeln.

Bezüglich der mikrobiologischen Versuchsergebnisse kann zusammenfassend festgestellt werden, dass beide in das Hackfleisch eingebrachten Schutzkulturen inhibitorische Effekte gegen die Begleitflora entwickelt haben. Diese waren bei der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> ausgeprägter, als bei der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup>. Beide Schutzkulturen haben jedoch die Keimzahlen der untersuchten Mikroorganismen im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollproben deutlich reduziert und somit zu einer mikrobiologischen Stabilisierung des Hackfleisches über den gesamten Lagerungsverlauf beigetragen.

Bei den Messungen der pH-Werte der Hackfleischproben konnte festgestellt werden, dass im Vergleich zu den Kontrollproben, in den Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> nur eine geringe Reduzierung der pH-Werte der Hackfleischproben zu beobachten war. Im Gegensatz dazu reduzierten sich die pH-Werte der Hackfleischproben, in welche die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> eingebracht wurde, bereits am Herstellungstag signifikant. Im Durchschnitt lagen die pH-Werte des Hackfleisches mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm<sup>TM</sup> 0,30 unter denen der Kontrollproben. Die pH-Werte der Proben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> lagen durchschnittlich 0,10 unter den Werten der Kontrollproben.

Die Messungen der  $a_w$ -Werte der Hackfleischproben ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den Proben mit den Schutzkulturen und den Kontrollproben. Auch zwischen den verschiedenen Rohstoffen konnten nur geringfügige und statistisch nicht signifikante Unterschiede bezüglich der gemessenen  $a_w$ -Werte festgestellt werden.

Auch bei der instrumentellen Farbmessung des Hackfleisches konnten zwischen den verschiedenen Proben nur geringfügige und statistisch nicht signifikante Unterschiede bezüglich der untersuchten  $L^*$ -,  $a^*$ - und  $b^*$ -Werte ermittelt werden.

Durch die sensorischen Prüfungen konnte nachgewiesen werden, dass die Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro<sup>TM</sup> im Hackfleisch geringfügige und statistisch meist nicht signifikante Beeinflussungen der sensorischen Produktqualität bewirkt. In allen durchgeführten sensorischen analytischen Prüfungen, erkannten die Prüfer vor allem bei den Attributen „Geruch“ und „Geschmack“ geringfügige Abweichungen von den vorgegebenen Produktstandards. Bei den hedonischen Prüfungen bestätigten sich die Ergebnisse der analytischen Prüfungen. Die statistischen Auswertungen der jeweiligen sensorischen

Prüfungen ergaben dennoch nur leichte und größtenteils nicht signifikante Unterschiede zu den Kontrollproben, die in den meisten Fällen nach dem 7. Lagerungstag aufgetreten sind. Das Hackfleisch mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ wurde dagegen in allen sensorischen Prüfungen von den Prüfern am schlechtesten bewertet. Unabhängig davon, ob es sich um analytische oder hedonische Prüfungen handelte, wurde von den Prüfern der auffällige „Geruch“ und „Geschmack“ kritisiert, der teilweise schon ab dem 3. Lagerungstag wahrnehmbar gewesen ist. Diese beiden Attribute waren somit auch in allen durchgeführten Prüfungen ursächlich für die schlechten Bewertungen der Prüfer verantwortlich. Den Ergebnissen der sensorischen Prüfungen zufolge, hätte das Hackfleisch mit der Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ keine positive Freigabeentscheidung von der Qualitätskontrolle erhalten.

Am besten wurden von den Prüfern in allen sensorischen Prüfungen die Kontrollproben ohne zugesetzte Schutzkulturen bewertet. Zusammen mit den Hackfleischproben mit der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ hätten sie bis zu letzten Untersuchungstag eine bedingte positive Freigabeentscheidung von der Qualitätssicherung erhalten.

Die Auswahl der verschiedenen Rohstoffe hatte auf die Ergebnisse der sensorischen Untersuchungen keinen wesentlichen Einfluss, da in allen sensorischen Prüfungen übereinstimmende Ergebnisse erzielt wurden. Eine Befragung der Prüfer ergab jedoch, dass die meisten der Prüfer das Hackfleisch aus Putenoberkeulenfleisch präferieren würden, da es eine ansprechendere Farbe besitzt, als das Hackfleisch aus Putenbrust bzw. -flügel-fleisch. Allerdings sind die Ergebnisse dieser Befragung nicht repräsentativ und haben aus diesem Grund auch nur informellen Charakter.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Schutzkultur B-SF 43 Bactoferm™ der Fa. Chr. Hansen (Hørsholm, Dk) trotz der positiven protektiven Eigenschaften bezüglich der mikrobiologischen Sicherheit des Hackfleisches, aufgrund ihrer sensorischen Beeinflussung der Qualität, als Schutzkultur zur Biokonservierung von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch nicht geeignet ist.

Bezüglich der Schutzkultur B-LC 20 Safe Pro™ der Fa. Chr. Hansen (Hørsholm, Dk) kann zusammenfassend festgestellt werden, dass die Schutzkultur den Ergebnissen dieser Arbeit zufolge das Potenzial besitzt, die mikrobiologische Qualität und Sicherheit von frischem, MAP-gelagertem Geflügelhackfleisch über den Zeitraum einer 10-tägigen Kühlung bei  $\leq +2$  °C zu stabilisieren, ohne gravierende negative Einflüsse auf die sensorische Produktqualität des Hackfleisches auszuüben. Bei der Verwendung qualitativ hochwertiger Rohstoffe mit niedrigen mikrobiellen Ausgangskeimgehalten und in Kombination mit einer kontinuierlichen und ununterbrochenen Kühlung bei Temperaturen  $\leq +2$  °C sowie einer Verpackung unter modifizierter Atmosphäre (70 Vol-% O<sub>2</sub> / 30 Vol-% CO<sub>2</sub>), die bis Verbrauch unversehrt bzw. verschlossen ist, rechtfertigt der Einsatz der Schutzkultur in frischem Hackfleisch eine 8 - 10-tägige Verbrauchsfrist des Hackfleisches bei mikrobiologisch unbedenklicher und sensorisch einwandfreier Qualität. Durch den Einsatz der Schutzkultur kann den Forderungen nach einem präventiven gesundheitlichen Verbraucherschutz gemäß der neuen europäischen Gesetzgebungen Rechnung getragen werden.

## 8. Summary

Peter Kosko

### **Tests on the microbiological composition and sensory product quality of minced poultry meat after biopreservation with lactic acid bacteria**

The aim of this study was to examine in model tests the effect of different protective cultures on the microbiological and sensory product quality of fresh, MAP-packed minced poultry meat stored at a temperature of +2°C for 10 days. The protective cultures were used to establish the scientific basis for the planned manufacture and marketing of fresh, MAP-packed minced poultry meat in the self-service segment of German chain stores, and to guarantee the required shelf-life of 8 to 10 days at a chilled storage temperature of +2°C.

To that end fresh minced meat was manufactured in this study from three different cuts of meat from female broiler turkeys. This was inoculated during manufacture under controlled conditions with the two protective cultures, B-LC 20 Safe Pro™ and B-SF 43 Bactoferm™, manufactured by Chr. Hansen, (Hørsholm, Denmark), and then packed in a modified atmosphere, consisting of 70% oxygen and 30% carbon dioxide by volume.

Before the minced meat was manufactured, a complete chemical analysis of the raw materials used was carried out in which the parameters of ash content, dry matter, total fat content, crude protein and connective tissue protein content were examined in accordance with the methods in the official compilation of test methods as in §64 of the German food and feed law (LFGB).

In the preliminary tests three different application methods were tested for inoculating the minced meat with the respective protective cultures in order to ensure a homogeneous distribution of the protective cultures in the minced meat. Experiments were also carried out with different concentrations of the protective cultures added with a view to determining the optimum amount of the cultures to be inoculated.

The minced meat was stored for the duration of 10 days at a storage temperature of +2°C. The minced meat was subjected to microbiological, physical and sensory analysis within the period of the study on storage days 0, 3, 5, 7 and 10.

Over the course of storage the development of the total viable count of the aerobic mesophilic bacteria, and the development of the aerobic lactic acid bacteria, as well as the development of the microbial counts of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonae ssp.*, *Brochotrix thermosphacta*, *Listeria ssp.*, *Campylobacter ssp.*, *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus* were examined as the microbiological test parameters in accordance with the methods in the official compilation of test methods as in §64 of the LFGB or the corresponding DIN and ISO standards. This approach was taken because these microorganisms are typical product-associated microbes which, on the one hand, contribute to the microbiological spoilage of the products and, on the other hand, are considered to be the triggers of food-associated zoonoses. Since the four last-mentioned microorganisms are only sporadically detectable in minced poultry meat, they were inoculated artificially in

---

microbial counts of about 4 log CFU/g into the minced meat during the main tests during manufacture of the minced meat to enable quantifiable statements to be made about the effects developed by the protective cultures against these microorganisms.

The temperature, the  $a_w$  value and the pH value were tested by reference to physical parameters in accordance with the methods in the official compilation of test methods as in §64 of LFGB. The colour of the minced meat and its development over the course of storage were tested by means of instrumental colour measurement.

Extensive sensory tests were also carried out in order to eliminate possible negative effects on the sensory product properties by the protective cultures used. In order to determine possible effects of the protective cultures on the sensory product quality, different test procedures were used in which both trained testers and untrained testers assessed the quality of the minced meat over the course of the 10 day chilled storage at +2°C. Ranking tests based on ISO 8587, scaled and descriptive in/out tests in accordance with DIN 10973, as well as consumer tests using an hedonic 9-point-verbal scale based on E DIN 10974, were carried out as test methods. The aim in using the different test methods was to ensure that the results were as representative as possible. In addition, trained testers were used in the analytical tests who were required to assess the specified attributes “appearance in the packaging”, “colour”, “smell”, “taste”, and “texture”, whereas in the hedonic tests it was mainly consumers (students) who were asked about their preference or acceptance of the minced meat samples.

Analysis of the preliminary test results established that the protective cultures used, B-LC 20 Safe Pro™ and B-SF 43 Bactoferm™, are capable of growth and capable of reproduction in the minced meat at a storage temperature of +2°C and that the dosage and application of the protective cultures can take place in accordance with the manufacturer’s data (HANSEN 2002) to enable the protective cultures to provide effective protection in the minced meat. For the manufacture of sausage meat the manufacturer recommends direct inoculation of the freeze-dried cultures at concentrations of 0.25 g/kg during the mixing process.

At a retail price of about 4 Euros per pack for the respective protective cultures,<sup>2</sup> inoculation of the protective cultures into the minced meat during manufacture results in only 0.04 Euro additional costs per kg minced meat, since no additional technological and/or logistical equipment is required for inoculating the cultures. The freeze-dried protective cultures are added directly to the minced meat during mixing and are distributed evenly throughout the mixture during the mixing process.

The results of the complete chemical analysis showed that there were negligible and in some cases statistically significant differences in the parameters between the different raw materials: turkey breast, turkey wing and turkey thighs.

The values of the parameter, ash, showed only minimal differences between the three cuts of turkey meat, the respective proportions lying between 0.98 to 1.03%.

There were also only small deviations as regards the determination of dry matter and water.

---

<sup>2</sup> Manufacturer’s data supplied by Chr. Hansen

---

The average contents of organic non fat determined for turkey thigh, turkey wing and turkey breast were, respectively, 19.3%, 22.1% and 12.3%.

No major deviations in the values of the parameters of hydroxyproline and connective tissue protein were established either.

The average total fat content in the turkey breast, the turkey wing and the turkey thigh was, respectively, 1.7%, 3.5% and 6.8%.

There were also clear differences between the individual cuts of poultry meat analysed as regards the total protein determined. Turkey thigh had the lowest total protein content at an average of 19.1% and turkey breast the highest at 24.3%, whereas turkey wing contained 22.4% total protein.

The results of the microbiological tests showed that both protective cultures used: B-LC 20 Safe Pro™ and B-Sf 43 Bactoform™, had the potential to significantly inhibit the product-specific accompanying flora in fresh, MAP-packed minced poultry meat during storage at +2°C. It was observed in all tests that the microbial counts of the microorganisms examined in the minced meat samples with the protective cultures increased to a lesser extent by the end of the storage period than in the control samples without protective cultures.

As regards the detection of *Enterobacteriaceae*, the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ reduced the microbial counts after 10 days chilled storage by an average of 1.27 log CFU/g compared with the control sample. At the end of the storage period, an average of 0.9 log CFU/g fewer *Enterobacteriaceae* were detected in the minced meat samples with the protective culture B-SF 43 Bactoform™ than in the control samples.

An average of 1.01 log CFU/g fewer *Pseudomonae* ssp. were detectable in the minced meat samples in the samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ than in the control samples. An average of 0.64 log CFU/g fewer *Pseudomonae* ssp. were detected in the samples with the protective culture B-SF 43 Bactoform™ than in the control samples.

As regards the detection of *Brochotrix thermosphacta*, it was established that the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ reduced the detected microbial counts of *Brochotrix thermosphacta* by an average of 0.54 log CFU/g compared with the control samples. However, the inoculation of the protective culture B-SF 43 Bactoform™ did not significantly reduce the microbial counts of *Brochotrix thermosphacta*.

The qualitative detection of *Campylobacter* ssp. in the minced meat samples demonstrated that the number of positive detections at the end of the storage period had been reduced by an average of 20% by inoculating the two protective cultures into the minced poultry meat.

The qualitative detection of *Listeria* ssp. in the minced meat samples established that the number of positive detections at the end of the storage period had been reduced by an average of 5% by inoculating the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ and by an average of 10% by inoculating the protective culture B-SF 43 Bactoform™.

As regards the initial microbial load of the raw materials used, it was established that there were significant differences in the microbial load of the turkey wing meat used from that of the other two raw materials used (breast and thigh meat). The initial bacterial counts, which were higher in comparison, resulted in significantly increased microbial counts of the microorganisms detected in the minced meat samples at the end of the storage. Even the inoculation of the respective protective cultures could not prevent this, although the bacteriostatic effects produced by the protective cultures significantly reduced the microbial counts compared with the control samples.

The anti-listerial effects of the protective cultures were quantified in the experiments with inoculated minced poultry meat. After 10 days storage at +2°C, an average of 2.10 log CFU/g fewer *Listeria monocytogenes* (about 4 log CFU *Listeria monocytogenes*/g minced meat) were detected in the inoculated minced meat samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ than in the control samples. An average of 1.64 log CFU/g fewer *Listeria monocytogenes* were detected in the samples with the protective culture B-SF 43 Bactoferm™ at the end of the storage period.

The quantitative detection of inoculated *Salmonella enterica* (about 4 log CFU/g) also revealed reduced microbial counts in the minced meat samples with the protective cultures compared with the control samples after 10 days storage. An average of 0.71 log CFU/g fewer *Salmonella enterica* were detected in the samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ than in the control samples. An average of 0.37 log CFU/g fewer *Salmonella enterica* were detected in the control samples with the protective culture B-SF 43 Bactoferm™ than in the control samples without protective cultures after 10 day's storage at +2°C.

The quantitative detection of inoculated *Staphylococcus aureus* (approximately 4 log CFU/g) also proved that both protective cultures inoculated had exerted bacteriostatic effects on the inoculated microbes. After 10 day's storage at +2°C an average of 1.01 log CFU/g fewer *Staph. aureus* were detected in the samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ than in the control samples. An average of 0.35 log CFU/g fewer *Staph. aureus* were detected in the minced meat samples with the protective culture B-SF 43 Bactoferm™ than in the control samples.

The detection of the total viable count of the aerobic mesophilic bacteria could be used as an indicator for assessing the microbial load of the minced meat only in the control samples, since the total viable count in the minced meat had been deliberately increased by inoculating the protective cultures into the minced meat, and a differentiation between the lactic acid bacteria introduced and the rest of the microorganisms of the minced meat flora was not carried out. In the control samples, however, it was observed that the total viable count of the aerobic mesophilic bacteria rose continuously over the course of 10 days storage to average values of  $\geq 6.5$  log CFU/g with the result that the minced meat no longer met the microbiological criteria of Commission Regulation (EC) No 2073/2005 by the end of the storage.

The detection of aerobic lactic acid bacteria in the minced meat samples showed that the microbial counts in the control samples had increased to average values of 5.7 log CFU/g by the end of the storage period. In the samples with the respective protective cultures, average

---

microbial counts of between 6 and 8 log CFU/g were determined in the course of storage. The high microbial counts are accounted for by the inoculation of the respective protective cultures and are necessary to enable the protective cultures to prevail over the product-specific flora in order to develop their antagonisms to the accompanying flora.

Regarding the microbiological test results, it may be said by way of summary that both protective cultures inoculated into the minced meat developed inhibitory effects against the accompanying flora. These were more pronounced in the protective culture, B-LC 20 Safe Pro™, than in the protective culture, B-SF 43 Bactoform™. However, both protective cultures clearly reduced the microbial counts of the microorganisms tested compared with the untreated control samples and therefore contributed to a microbiological stabilisation of the minced meat over the entire course of storage.

It was established when measuring the pH values of the minced meat samples that only a small reduction of pH values of the minced meat samples was to be observed in the samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ compared with the control samples. On the other hand, on the very first day of manufacture there was a significant reduction in the pH values of the minced meat samples into which the protective culture B-SF 43 Bactoform™ had been inoculated. The pH values of the minced meat with the protective culture B-SF 43 Bactoform™ were on average 0.30 below those of the control samples. The pH values of the samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ were on average 0.10 below the values of the control samples.

The measurements of the  $a_w$  values of the minced meat samples showed no significant differences between the samples with the protective cultures and the control samples. Only negligible and statistically insignificant differences were determined between the different raw materials in terms of the measured  $a_w$  values as well.

Only negligible and statistically insignificant differences between the different samples were determined in terms of the  $L^*$ -,  $a^*$ - and  $b^*$ -values for the instrumental colour measuring of the minced meat as well.

The sensory tests proved that the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ caused negligible and statistically largely insignificant effects on sensory product quality in the minced meat. In all the sensory analytical tests carried out the testers detected negligible deviations from the prescribed product standards, especially in the attributes "smell" and "taste". The hedonic tests confirmed the results of the analytical tests. The statistical analyses of the respective sensory tests, however, showed only slight and largely insignificant differences from the control samples, differences which had in most cases occurred after the seventh day of storage.

The minced meat with the protective culture B-SF 43 Bactoform™ was, however, given the worse assessments by the testers in all the sensory tests. In both the analytical or hedonic tests, the testers criticised the noticeable "smell" and "taste" that were perceptible in some cases as early as the third day of storage. Both these attributes were therefore also causally responsible for the poor assessments made by the testers in all the tests carried out. In the light of the results of the sensory tests, the minced meat with the protective culture B-SF 43 Bactoform™ would not have received positive clearance from quality control.

---

The testers awarded the highest assessments in all sensory tests to the control samples without added protective cultures. Together with the minced meat samples with the protective culture B-LC 20 Safe Pro™, they would have received a qualified positive clearance from quality control up to the final day of the test.

The selection of the different raw materials had no significant effect on the results of the sensory tests, since concurring results were obtained in all sensory tests. However, a survey of the testers established that most of them preferred the minced meat made from the turkey thigh since it had a more attractive colour than the minced meat made from turkey breast or wing. However, the results of this survey are not representative and are therefore given only by way of information.

To summarise, it can be stated that the protective culture B-SF 43 Bactoferm™ manufactured by Chr. Hansen (Hørsholm, Denmark) is not suitable as a protective culture for the biopreservation of fresh, MAP-packed minced poultry meat because of its sensory effect on quality, despite its positive protective properties as regards the microbiological safety of minced meat.

As regards the protective culture B-LC 20 Safe Pro™ manufactured by Chr. Hansen (Hørsholm, Denmark), it can be stated by way of summary that the results of this study show that the protective culture has the potential to stabilise the microbiological quality and safety of fresh, MAP-packed minced poultry meat over a 10 day period of chilled storage at +2°C without serious, negative effects on the sensory product quality of the minced meat. In combination with continuous chilled storage at temperatures  $\leq +2^\circ\text{C}$  and packaging in a modified atmosphere (70% O<sub>2</sub>/30% CO<sub>2</sub> by volume), the use of the protective culture in fresh minced meat justifies a 10 day use-by date for the minced poultry meat, and at the same time ensures that the meat is microbiologically safe and its sensory quality is unimpaired. The use of the protective culture can thus take into account the requirements of a preventive consumer health protection in accordance with the new European legislation.

## 9. Quellenverzeichnis

### 9.1 Literaturverzeichnis

**Aaslyng M.D.** (2002):

*Quality indicators for raw meat.* In: J. Kerry, J. Kerry, D. Ledward (ed.), *Meat processing.* Cambridge, Boca Raton: Woodhead Publishing Limited, p. 157-174.

**Abee, T.; Kröckel, L.; Hill, C.** (1995):

*Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning.* *Int. Journal of Food Microbiology*, 28; p. 169 – 185.

**Ab del-Rhman, H. A.; Marriot, N. G.; Wang, H.; Yassein, M. M. A; Ahmed, A. M.** (1998):

*Characteristics of minced beef stored at chilled and abuse temperature.* *Muscle Foods*, 9, p. 139-152.

**Akpolat, N.Ö.; Elci, S.; Atmaca, S.; Gül, K.** (2004):

*Listeria monocytogenes in products of animal origin in Turkey.* *Veterinary Research Communications* 28,p. 561 – 567.

**Albano, H.; Todorov, S.; van Reenen, C., Hogg, T.; Dicks, L.; Teixeira P.** (2007):

*Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from “Alheira”, a fermented sausage traditionally produced in Portugal.* *International Journal of Food Microbiology* 116, p. 239 – 247.

**Albano, H.; Oliveira, M.; Aroso, R.; Cubero, N.; Hogg, T.; Teixeira, P.** (2007):

*Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from “Alheiras” (traditional Portuguese fermented sausages): In situ assays.* *Meat Science* 76, p. 796 – 800.

**Alves, V. F.; Lavrador, M. A. S.; de Martinis, E. C. P.** (2003):

*Bacteriocin exposure and food ingredients influence on growth and virulence of *Listeria monocytogenes* in a model meat gravy system.* *Journal of Food Safety*, 23, p. 201 – 217.

**Alves, V. F.; Martinez, R. C. R.; Lavrador, M. A. S.; de Martinis, E. C. P.** (2006):

*Antilisterial activity of lactic acid bacteria inoculated on cooked ham.* *Meat Science*, 74, p. 623–627.

**Amezquita, A., Brashears, M. M.** (2002):

*Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria.* *Journal of Food Protection*, 65 (2), p. 316–325.

**Andersen, L.** (1997):

*Bioprotective culture for fresh sausages.* *Fleischwirtschaft*, 77, (7), S. 635 – 637.

**Axelsson, L.** (1998):

*Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology.* In: S. Salminen, A. von Wright (ed.), *Lactic Acid Bacteria*, New York: Marcel Dekker; Inc.,p. 1-72.

**Babji, Y.** (2000):

*Microbial and sensory quality changes in refrigerated minced goat meat stored under vacuum and in air.* *Small Ruminant Research*, Volume 36, Issue 1, p. 75 – 84.

- 
- Back, W.; Stackebrandt, E.** (1978):  
*DNS/DNS-Homologiestudien innerhalb der Gattung Pediococcus.* Arch. Microbiol. 81, p. 80 - 85.
- Ballongue J.** (1998):  
*Bifidobacteria and Probiotic Action.* In: S. Salminen, A. von Wright (ed.), Lactic Acid Bacteria, New York: Marcel Dekker; Inc., p. 519-587.
- Barnes, E. M.; Thornley, M. J.** (1966):  
*The spoilage flora of eviscerated chickens stored at different temperatures.* J. Food Technol. 1, p. 113 – 119
- Bast, E.** (2001):  
*Mikrobiologische Methoden – Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken.* (2. Aufl.) Heidelberg: Spektrum.
- Bem, Z.; Hechelmann, H.** (1994):  
*Kühlung und Kühllagerung von Fleisch: Mikrobiologische Vorgänge.* Fleischwirtschaft, 74 (10), p. 1046-1051.
- Berger-Schunn, A.** (1994):  
*Praktische Farbmessung.* (2. Aufl.) Göttingen: Muster-Schmidt Verlag.
- Beutling, D.** (1998):  
*Vorkommen und Überleben von Campylobacter in Lebensmitteln.* Arch. Lebensmittelhyg. 49: S. 13 - 15
- Blankenship, L. C.; Craven, S. E.** (1982):  
*Campylobacter jejuni survival in chicken meat as a function of temperature.* Appl. Environm. Microbiol. 44: p. 88 – 92.
- Blüchel E.; Honikel K.O.** (2006):  
*Handbuch der chemischen und physikalischen Fleisch- und Fleischwarenanalyse.* Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel: Kulmbacher Reihe Bd. 19.
- Bolder, N.M.** (1998):  
*The microbiology of the slaughter and processing of poultry.* In: A. Davies, R. Board (ed.), The Microbiology of Meat and Poultry. London: Blackie Academic & Professional, p. 158-173.
- Bouttefory, A.; Milliere, J-P.** (2000):  
*Nisin-curvaticin B combinations for avoiding cells of L. monocytogenes ATCC 1534.* Intern. J. Food Microbiol., 62: p. 65 - 75.
- Bredholt, S.; Nesbakken, T.; Holck, A.** (1999):  
*Protective cultures inhibit growth of Listeria monocytogenes and Escherichia coli O157:H7 in cooked, sliced, vacuum- and gas packaged meat.* International Journal of Food Microbiology, 53, p. 43 – 52.
- Bredholt, S.; Nesbakken, T.; Holck, A.** (2001):  
*Industrial application of an antilisterial strain of Lactobacillus sakei as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats.* International Journal of Food Microbiology, 66, p. 191 – 196.

**Bremer, A.; Johnston, M.** (1996):

*Poultry Meat Hygiene and Inspection*. 1. Auflage, Saunders, London.

**Buchanan, R. L.; Bagi, L. K.** (1997):

*Microbial competition: effect of culture conditions on the suppression of Listeria monocytogenes Scott A by Carnobacterium piscicola*. J. Food Prot. 60 (3), p. 254 – 261.

**Buchanan, R. L.; Klawitter, L. A.** (1992):

*Characterization of a lactic acid bacterium, Carnobacterium piscicola LK5, with activity against Listeria monocytogenes at refrigeration temperatures*. J. Food Safety 12, p. 199 – 217.

**Buchner, N.** (1999):

*Verpackung von Lebensmitteln*. Berlin: Springer Verlag.

**Budde, B. B.; Hornbæk, T.; Jacobsen, T.; Barkholt, V.; Koch, A. G.** (2003):

*Leuconostoc carnosum 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments*. Int. Journal of Food Microbiology, 83, p. 171 – 184.

**Buhnia, A.; Johnson, M. C.; Ray, B.** (1988):

*Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by Pediococcus acidilactici*. Journal Applied Bacteriology, 65, p. 261 – 268.

**Bhunja, A. K.; Johnson, M. C.; Kalchayanand, N., Kalchayanand, R.** (1991): *Mode of action of pediocin ACh from Pediococcus acidilactici H on sensitive bacterial strains*. Journal of Applied Bacteriology 70, p. 25-33.

**Bülte, M.** (1996):

*Mikrobiologie des Hackfleisches*. In: Weber (1996) (1. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag

**Bülte M.; Zens W.** (2003):

*Mikrobiologie des Hackfleisches*. In: H. Weber (Hrsg.) Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch – Fisch – Feinkost. (1. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag, S. 113-127.

**Bundesinstitut für Risikobewertung** (2008):

*Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2006*. Berlin: BfR - Wissenschaft 4, 2008.

**Busch-Stockfisch, M.** (2002):

*Praxishandbuch Sensorik in der Produktentwicklung und Qualitätssicherung*. Hamburg: Behr's Verlag.

**Castellano, P.; Raya, R.; Vignolo, G.** (2003):

*Mode of action of lactocin 705, a two-component bacteriocin from Lactobacillus casei CRL705*. Int. Journal of Food Microbiol. 85, p. 35 – 43.

**Castellano, P.; Holzapfel, W. H.; Vignolo, G. M.** (2004):

*The control of Listeria innocua and Lactobacillus sakei in broth and meat slurry with the bacteriocinogenic strain Lactobacillus casei CRL705*. Food Microbiology, 21, p. 291 – 298.

**Castellano, P.; Vignolo, G.** (2006):

*Inhibition of Listeria innocua and Brochotrix thermosphacta in vacuum-packaged meat by the addition of bacteriocinogenic Lactobacillus curvatus CRL705 and its bacteriocins*. Letters in Applied Microbiology, 43, p. 194 – 199.

- Castellano, P.; Vignolo, G.; Farías, R.; Arrondo, J.; Cherín, R. (2007):**  
*Molecular view by Fourier transform infrared spectroscopy of the relationship between lactocin 705 and membranes: speculations on antimicrobial mechanism.* Applied of Environmental Microbiology, 73, p. 415 – 420.
- Castellano, P.; Belfiore, C.; Fadda, S.; Vignolo, G. (2008):**  
*A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produces in Argentina.* Meat science 79, p. 483 – 499.
- Chatelain, Y.; Guggisberg, D.; Dufey, P. A.; Vergeres, G.; Hadorn, R. (2007):**  
*Farbmessung an Fleisch und Fleischerzeugnissen.* Bern: Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP).
- Chaveerach, P.; Ter Huurne, A.; Lipman, L. J. A.; van Knapen, F. (2003):**  
*Survival and resusciation of ten strains of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli under acid conditions.* Appl. Environm. Microbiol. 69: p. 711-714.
- Chikindas, M. L.; Garcia-Garcera, M. J.; Driessen, A. J. M.; Ledeboer, A. M.; Nissen-Meyer, J.; Nes, I. F.; Abee, T.; Konings, W. N.; Venema, G. (1993):**  
*Pediocin PA-1, a Bacteriocin from Pediococcus acidilactici PAC1.0, Forms Hydrophilic Pores in the Cytoplasmic Membrane of Target Cells.* Applied and environmental microbiology, Vol. 59, No. 11, p. 3577-3584.
- Church, I. J.; Parsons, A. L. (1995):**  
*Modified Atmosphere Packaging Technology: A Review.* J. Sci. Food Agric., 67,p. 143-152.
- Cuozzo, S.; Sesma, F.; Palacios, J. R.; Holgado, A.; Raya, R. (2000):**  
*Identification and nucleotide sequence of genes involved in the synthesis of lactocin 705, a two-peptide bacteriocin from Lactobacillus casei CRL705.* FEMS Microbiol. Lett. p. 185, 157 – 161.
- Daniels, J. A.; R. Krishnamurth; Rizvi, S. S. H. (1985):**  
*A review of effects of CO<sub>2</sub> on microbial growth and food quality.* New Engl. J. Med., 321,p. 16-24.
- Davies, A. R. (1995):**  
*Advances in modified atmosphere packaging.* In: New methods in food preservation. Gould, G. W. (Hrsg.), Blackie Academic & Professional, London,p. 304-320.
- Day, B. P. F. (2000):**  
*Chilled storage of foods, Principles.* In: Encyclopedia of Food Microbiology. Robinson, R. K., Batt, C. A., Patel, P. D. (Hrsg.) Academic Press, San Diego,p. 403-410.
- Derndorfer E. (2006)**  
*Lebensmittelsensorik.* Wien: Facultas Verlag.
- Devlieghere, F., L.; Jacxsens; Debevere, J. (2000):**  
*Modified atmosphere packaging: state of art.*  
URL: <http://www.ifis.co.uk/hottopics/MAParticle2.pdf>.
- Devlieghere, F., L.; Vermeiren, L.; Debevere, J. (2003):**  
*New presercation technologies: Possibilities and limitations.* Int. Dairy J., 14, p. 273-285.
- De Vuyst, L.; Vandamme, E.J. (1994):**  
*Bacteriocins of lactic acid bacteria.* Oxford:Alden Press.

**Enan, G.** (2006):

*Behaviour of Listeria monocytogenes LMG 10470 in Poultry Meat and its Control by the Bacteriocin Plantaricin UG 1.* International Journal of Poultry Science 5 (4), p. 355 - 359.

**Eisel, W. G.; Linton, R. H.; Muriana, P. M.** (1997):

*A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources and ground beef in a red meat processing plant.* Food Microbiology, 14, p. 273-282.

**Dixon, N. M.; Kell, D. B.** (1989):

*The inhibition by CO<sub>2</sub> of the growth and metabolism of microorganisms.* J. Appl. Microbiol., 67(109), p. 136.

**Dobson, M.; Deneer, H.; Lee, S.; Hemmingsen, S.; Glaze, S.; Ziola, B.** (2002):

*Phylogenetic analysis of the genus Pediococcus, including Pediococcus claussenii sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from beer.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2002), 52, p. 2003–2010.

**Doherty, A., Sheridan, J. J.; Allen, P.; McDowell, D. A.; Blair, I. S.; Harrington, D.** (1996):

*Growth of Yersinia enterocolitica on modified atmosphere atmosphere packaged lamb.* Food Microbiology, 12, p. 251-257.

**Ehler, M.** (2008)

*PCR – Einsatz in der Lebensmittelanalytik.* Hygienereport 2, 2008, Dr. Harnisch Verlagsgesellschaft mbH Internationale Fachzeitschriften, Nürnberg.

**Eklund, T.; Jarmund, T.** (1983):

*Microculture model studies on the effect of various gas atmospheres on microbial growth at different temperatures.* J. Appl. Microbiol., 55, p. 119-125.

**Elsser, D.** (1997):

*Minimierung des Hygienrisikos durch toxininfektiöse und toxinogene Bakterien bei nitritverminderten Brühwurstzeugnissen durch den Einsatz von Schutzkulturen.* (Dissertation). Technische Universität München, Fachbereich Ernährungswissenschaften.

**Elsser, D.** (2005):

*Protective cultures and use thereof for preserving foodstuffs.* United States Patent, Elsser 2005, Patent No: US 6,916,647 B1.

**Erschig, F.** (1984):

*Zur Reduzierung des Keimgehaltes auf Fleischoberflächen mittels Genusssäuren.* Dissertation, München.

**Faith, N.; Parniere, N.; Larson, T.; Lorang, T.; Kaspar, C.; Luchansky, J.** (1998):

*Viability of Escherichia coli O157:H7 in salami following conditioning of batter, fermentation and drying of sticks, and storage of slices.* J. Food Prot. 61, p. 377 – 382.

**Farber, J. M.** (1990):

*Microbiological Aspects of Modified-Atmosphere Packaging Technology - A Review.* Journal of Food Protection, 54(1), p. 58-70.

**Fehlhaber, K.** (2001a):

*Mikrobiologie des geschlachteten Geflügels.* in: R. Fries, V. Bergmann u. K. Fehlhaber: Praxis der Geflügelfleischuntersuchung. Hannover: Verlag Schlütersche, S. 197 – 210.

**Fehlhaber, K.** (2001b):

*Lagerung und Haltbarkeit.* in: R. Fries, V. Bergmann u. K. Fehlhaber: Praxis der Geflügelfleischuntersuchung. Hannover: Verlag Schlütersche, S. 219 – 221.

**Fehlhaber, K.** (2005):

*Handbuch Lebensmittelhygiene: Praxisleitfaden mit wissenschaftlichen Grundlagen.* Hamburg: Behr's Verlag.

**Fehlhaber, K.; Janetschke, P.** (1992):

*Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene.* Jena: Fischer Verlag.

**Feiner, G.** (2006):

*Meat products handbook.* (1. Aufl.) Cambridge, Boca Raton: Woodhead Publishing Limited.

**Fellows, P.** (2000):

*Food processing technology.* (2. Aufl.) Cambridge, Boca Raton. Woodhead Publishing Limited.

**Fetlinski, A.; Knaut, T.; Kornacki, K.** (1979):

*Einsatz von Milchsäurebakterien als Starterkulturen zur Haltbarkeitverlängerung von Hackfleisch.* Fleischwirtschaft, 59, p. 1729–1730.

**Fischer, A.; Hammes, W.P.; Baur, A.; Schramm, A.** (1983):

*Storage properties of minced meat in a controlled atmosphere 1. Effect on physico-chemical and sensory changes.* Fleischwirtschaft 63(10) p. 1593-1602, 1616.

**Fliedner, I.; Wilhelmi, F.** (1993):

*Grundlagen und Prüfverfahren der Lebensmittelsensorik.* (2. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag.

**Formanek, Z.; Kerry, J. P.; Buckley, D. J.; Morrissey, P. A. and Farkas, J.** (1998):

*Effekts of dietary vitamin E supplementation and packaging on the quality of minced beef.* Meat Science 50 (2), p. 203-210.

**Franzke C.** (Hrsg.) (1996):

*Allgemeines Lehrbuch der Lebensmittelchemie.* (3. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag.

**Fries, R.** (1992):

*Fleischhygiene und Lebensmitteluntersuchung.* Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.

**Fries, R.; Bergmann, V.; Fehlhaber, K.** (2001):

*Praxis der Geflügelfleischuntersuchung.* Hannover: Verlag Schlütersche.

**Freudenreich, P.; Schübler, G.** (2001):

*Bestimmung und Interpretation von Farbe mit verschiedenen Farbmesssystemen.*

URL: <http://www.bfa-fleisch.de> (30.11.2007)

**Gänzle, M. G.** (2003):

*Starterkulturen für fermentierte Fleischerzeugnisse.* In: H. Weber (Hrsg.) Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch – Fisch – Feinkost. (1. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag, S. 345-377.

**Garcia-Lopez, M. L.; Prieto, M.; Otero, A.** (1998):

*The physiological attributes of Gramnegative bacteria associated with spoilage of meat and meat products.* In: A. Davies, R. Board (ed.), The Microbiology of Meat and Poultry. London: Blackie Academic & Professional, p. 1-34.

**Ghafir, Y.; China, B.; Korsak, N.; Dierick, K.; Collard, J. M.; Godard, C.; Zutter, de L.; Daube, G.** (2005):

*Belgian Surveillance Plans To Assess Changes in Salmonella Prevalence in Meat at Different Production Stages.* Journal of Food Protection 68, (11).

**Gibbs, P. A.; Patel, M.; Stanhard C. J.** (1982):

*Microbial ecology and spoilage of chilled food: a review.* in: Leatherhead Food Research Association, Scientific and Technical Surveys 135. The British Food Manufacturing Industries Research Association, Leatherhead, Surrey.

**Gill, C. O.; Newton, K. G.** (1978):

*The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chilled temperatures.* Meat Science, 2, p. 207-217.

**Gill, C. O.** (1988):

*The solubility of carbon dioxide in meat.* Meat Science, 22, p. 65-71.

**Goff, J. H.; Bhunia, A. K.; Johnson, M. G.** (1996):

*Complete Inhibition of Low Levels of Listeria monocytogenes on Refrigerated Chicken Meat with Pediocin Ach Bound to Heat-Killed Pediococcus acidilactici Cells.* Journal of Food Protection, 59 (11); p. 1187 – 1192.

**Gough, J. M.; Conlan, L. L.; Denman, S. E.; Krause, D. O.; Smith, W. J. M.; Williamson, M. A.; McSweeney, C. S.** (2006):

*Screening of bacteria from the cattle gastrointestinal tract for inhibitory activity against enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7, O111:H-, and O26:H11.* J. Food Prot. 69, p. 2843 – 2850.

**Gudmundsdóttir, E.** (1993):

*Antagonistic properties of lactic acid bacteria.* Department of Food Science, Schweden.

**Hansen, C.** (2007):

*Produktinformationen zu den Schutzkulturen.* Chr. Hansen GmbH.

URL: <http://www.chr.hansen.com> (Elektronische Publikation, URL am 29.06.07).

**Harrison, W. A.; Peters, A. C.; Fielding, L. M.** (2000):

*Growth of Listeria monocytogenes and Yersinia enterocolitica colonies under modified atmospheres at 4 and 8 degrees C using a model food system.* J. Appl. Microbiol., 88(1), p. 38-43.

**Hechelmann, H.** (1981): *Vorkommen und Bedeutung von Brochotrix thermosphacta bei Kühlagerung von Fleisch und Fleischerzeugnissen.* Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, S. 4435-4437.

**Heeschen, W.** (1999):

*Verderb und biochemische Veränderungen durch Verderbniserreger.* In: Heeschen, W., H. Meyer und R. Schaler (Hrsg. : Handbuch Lebensmittelhygiene, Loseblattausgabe, Grundwerk 1994, 9. Aktualisierungs-Lieferung. Hamburg: Behrs Verlag, Kap. 2. 2. 2, S. 1-11.

**Heeschen, W.** (2005):

*Vermehrung von Mikroorganismen in Lebensmitteln.* In: K. Fehlhaber (Hrsg.), Handbuch Lebensmittelhygiene: Praxisleitfaden mit wissenschaftlichen Grundlagen. Hamburg: Behr's Verlag.

**Heiss, R.; Eichner K.** (2002):

*Haltbarmachen von Lebensmitteln.* (4. Aufl.) Berlin: Springer Verlag.

- 
- Henderson, J. T.; Chopko, A.; van Wassenaart, P. D.** (1992):  
*Purification and Primary Structure of Pediocin PA-1 Produced by *Pediococcus acidilactici* PAC-1*. Archives of Biochemistry and Biophysics Vol. 295, No. 1, May 15, p. 5-12.
- Hildebrandt, A.; Hildebrandt, G.; Kleer, J.** (2001):  
*Mikrobiologischer Status von Schweinehackfleisch - Ein Vergleich der industriellen und handwerklichen Herstellung*. Fleischwirtschaft, 81, 86-90.
- Hinkens, J.; Faith, N.; Lorang, T.; Bailey, P.; Buege, D.; Kaspar, C.** (1996):  
*Validation of pepperoni process for the control of *Escherichia coli* O157:H7*. J. Food Prot. 59, p. 1260 – 1266.
- Hoffmann, K.; et al.** (1986):  
*Chemisch-physikalische Merkmale der Fleischqualität*. BAFF Kulmbach, Kulmbacher Reihe, Band 6.
- Honikel K.O.** (2004):  
*PH-Measurement*. In: W.K. Jensen, C. Devine, M. Dikeman, Encyclopedia of Meat Sciences 1, London, San Diego: Elsevier Academic Press, p. 238-242.
- Honikel K.O.** (2007):  
*Physikalische Messmethoden zur Erfassung der Fleischqualität*. In: W. Brandscheid, K.O. Honikel, G. von Langerken, K. Troeger (Hrsg.), Qualität von Fleisch und Fleischwaren (Band 2). Frankfurt am Main: Deutscher Fachverlag, S. 855-881.
- Hood, D. E.; Riordan, E. B.** (1973):  
*Discolouration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination*. J. Food Technol., 8, 333-343.
- Houben, J. H.; Eikelenboom, G.; Hoving-Bolink, A. H.** (1998):  
*Effect of the dietary supplementation with vitamin E on colour stability and lipid oxidation in packaged, minced pork*. Meat Science, 48, (314).
- Hugas, M.** (1998):  
*Bacteriocinogenic Lactic Acid Bacteria for the Biopreservation Meat and Meat Products*. Meat Science, 49, (1), p. 139 - 150.
- Hugas, M.; Pages, F.; Garriga, M.; Monfort, J. M.** (1998):  
*Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres*. Journal of Food Microbiology, 15, p. 639 – 650.
- Inns, R.** (1987):  
*Modified atmosphere packaging*. In: Modern Processing, Packaging and Distribution Systems for Food, Paine, F. A. (Hrsg. ), Blackie, London, UK, p. 36 – 51.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods of the International Union of Microbiological Societies)** (1980):  
*Microbial Ecology of Foods. Vol. 1: Factors affecting life and death of microorganisms*. Academic Press, New York, USA.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods of the International Union of Microbiological Societies)** (1998):  
*Microorganisms in foods. Vol. 6: Microbial ecology of foods commodities*. Blacky Academic and Professional, London, UK.

**Jack, R. W.; Tagg, J. R.; Ray, B.** (1995):

*Bacteriocins of Gram-positive bacteria*. Mikrobiol. Rev., 59; p. 171 – 200.

**Jackson, T. C.; Acuff, J.; Dickson, J. S.** (1997):

*Meat, poultry and seafood*. In: Doyle, M. P., Beuchat, L. R., Montville, T. J. (Hrsg.): Food Microbiology. Fundamentals and frontiers. American Society for Microbiology Press, Washington, D. C., USA, p. 477-482.

**Jacobsen, T.; Budde, B. B.; Koch, A. G.** (2003):

*Application of Leuconostoc carnosum for biopreservation of cooked meat products*. Journal of Applied Microbiology, 95, p. 242 – 249.

**Jay, J. M.** (1992):

*Microbiological Food Safety*. Reviews in Food Science and Nutrition, 31, p. 177-190.

**Jones, R.; Hussein, H. M.; Zagorec, M.; Brightwell, G.; Tagg, J. R.** (2008):

*Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat*. Food Microbiology 25, p. 228 – 234.

**Josupeit, S. K.** (2006):

*Die technologische Kontrolle mittels modified atmosphere packaging und der Nachweis von Listeria monocytogenes in kurzgereiften Rohwürsten*. (Dissertation). Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit.

**Kakouri, A.; Nychas, G. J. E.** (1994):

*Storage of poultry meat under modified atmospheres or vacuum packs: possible role of microbial metabolites as indicators of spoilage*. J. Appl. Bact. 76, p. 163 – 172.

**Karlson, P.** (1988):

*Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*. (13. Aufl.) Stuttgart, New York: Verlag Georg Thieme.

**Katikou, P.; Ambrosiadis, I.; Georgantelis, D.; Koidis, P.; Georgakis, S. A.** (2005):

*Effect of Lactobacillus-protective cultures with bacteriocin-like inhibitory substances' producing ability on microbiological, chemical and sensory changes during storage of refrigerated vacuum-packaged sliced beef*. Journal of Appl. Microbiology, 99; p. 1303 – 1313.

**Katla, T.; Møretrø, T.; Sveen, I.; Aasen, I.; Axelsson, L.; Rørvik, L.** (2002):

*Inhibition of Listeria monocytogenes in chicken cold cuts by addition of sakacin P and sakacin P-producing Lactobacillus sakei*. Journal of Applied Microbiology, 93, p. 191 – 196.

**Keppler, K.** (1996):

*Bacteriocinbildung bei Leuconostoc carnosum LA54A* (Dissertation). Bayreuth: Universität Bayreuth, Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften.

**Kerry, J. P.; Buckley, D. J.; Morrissey, P. A.** (2000):

*Improvement of oxidative stability and lamb with vitamin E*. in: Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality. E. A. Decker, C. Faustman, and C. J. Lopez-Bote, ed. Wiley, New York.

**Keweloh H.** (2006):

*Mikroorganismen in Lebensmitteln*. (1. Aufl.) Haan-Grüten: Fachbuchverlag Pfanneberg.

**Klein, G.; Louwers, J.** (1994):

*Mikrobiologische Qualität von frischem und gelagertem Hackfleisch aus industrieller Produktion*. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 107, 361-367.

- Koutsoumanis, K.; Tassou, C. C.; Taoukis, P. S.; Nychas, G.-J.E.** (1998):  
*Modelling the effectiveness of a natural antimicrobial on Salmonella enteritidis as a function of concentration, temperature and pH, using conductance measurements.* Journal of Applied Microbiology, 84, p. 981–987.
- Koutsoumanis, K.** (2005):  
*Meat safety, refrigerated storage and transport: modelling and management.* In: J.N. Sofos (ed.), Improving the safety of fresh meat. Cambridge, Boca Raton: Woodhead Publishing Limited, p. 503-561.
- Krämer, J.** (1997):  
*Lebensmittel-Mikrobiologie.* (3. Aufl.) Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
- Krämer, J.** (2002):  
*Lebensmittel-Mikrobiologie.* (4. Aufl.) Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
- Kröckel, L.; Hechelmann, H.** (1998):  
*Mikrobiologie der Kühlung, Kühlung und Fleischreifung.* in: Kulmbacher Reihe Band 15: Kühlen, Zerlegen, Kühlung, Reifung: Einfluss auf die Fleischqualität. Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, S. 35-57.
- Kröckel, L.** (2003):  
*Nutzbarmachung mikrobiologisch-genetischer Ressourcen zur Biokonservierung von Fleischerzeugnissen.* Braunschweig: Abstract-Band zum Status-Seminar „Ressortforschung für den Ökologischen Landbau“ vom 13.03.2003, S. 65 – 68.
- Lawless, H. T.; Heymann, H.** (1998):  
*Sensory evaluation of food.* New York: Chapman & Hall.
- Lemay, M.; Choquette, J.; Delaquis, P. J.; Gariépy, C.; Rodrigue, N.; Saucier, L.** (2002):  
*Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model.* International Journal of Food Microbiology, 78, p. 217 – 226.
- Li, P.; Shen, Q.; Liu, Z.; Fu, P.; Zhou, W.** (2008):  
*A newly isolated strain Pediococcus parvulus from Xuanwei ham, a traditional Chinese fermented meat product.* International Journal of Food Science and Technology, 43, p. 1387 – 1394.
- Louwers, J.; Klein, G.; Reuter, G.** (1997):  
*Haltbarkeit und Qualität von frischem Fleisch in begasten Foodtainern.* in: Proc. 36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Dtsch. Veterinärmed. Ges., Garmisch-Partenkirchen, Gießen, Eigenverlag, Teil I, S. 325- 333.
- Luber, P.; Bartelt, E.** (2005):  
*Campylobacteriose durch Hähnchenfleisch Eine quantitative Risikoschätzung.* Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin 2005, (BfR-Wissenschaft 03/2005).
- Lücke, F.-K.** (1992):  
*Einsatzmöglichkeiten von Schutzkulturen bei der Lebensmittelkonservierung – Eine Übersicht.* In: L.I. Dehne, K.W. Bögel (Hrsg.), Die biologische Konservierung von Lebensmitteln. Ein Statusbericht. SozEP - Hefte 4, S. 16-28.
- Lücke, F.-K.; Troeger, K.** (2007):  
*Mikrobiologische Risiken.* In: W. Brandscheid, K.O. Honikel, G. von Langerken, K. Troeger (Hrsg.), Qualität von Fleisch und Fleischwaren (Band 2). Frankfurt am Main: Deutscher Fachverlag, S. 553-633.

- Manu-Tawiah, W.; Myers, D. J.; Olson, D. G.; Molins, R. A.** (1993):  
*Survival and Growth of Listeria monocytogenes and Yersinia enterocolitica in Pork Chops Packaged under Modified Gas Atmospheres.* Journal of Food Science, 58, (3), p. 475 – 479.
- Mayrhofer, S.; Paulsen, P.; Smulders, Frans J. M.; Hilbert, F** (2004):  
*Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry.* International Journal of Food Microbiology 97, p. 23– 29.
- McClure, P. J.** (2002):  
*Microbiological hazard identification in the meat industry.* In: J. Kerry, J. Kerry, D. Ledward (ed.), Meat processing. Cambridge, Boca Raton: Woodhead Publishing Limited, p. 217-236.
- Mead, G. C.** (2004):  
*Poultry meat processing and quality.* (1. Aufl.) Cambridge, Boca Raton: Woodhead Publishing Limited.
- Mead, G. C.** (2007):  
*Microbiological analysis of red meat, poultry and eggs.* (1. Aufl.) TJ international limited, Cornwall.
- Meyners, M.; Kunert J.** (2002):  
*Statistik in der Sensorik.* In: M. Busch-Stockfisch: Praxishandbuch Sensorik in der Produktentwicklung und Qualitätssicherung. Hamburg: Behr's Verlag.
- Metaxopoulos, J.; Mataragas, M.; Drosinos, E. H.** (2002):  
*Microbial interaction in cooked cured meat products under vacuum or modified atmosphere at 4 °C.* J Appl Microbiol 93, p. 363 – 373.
- Mora, D.; Fortina, M. G.; Parini, C.; Manachini, P. L.** (1997):  
*Identification of Pediococcus acidilactici and Pediococcus pentosaceus based on 16S rRNA and IdhD gene-target multiplex PCR analysis.* FEMS Microbiology Letters, 151 (1997), p. 231 – 236.
- Mora, D.; Fortina, M. G.; Parini, C.; Daffonchio, D.; Manachini, P. L.** (2000):  
*Genomic subpopulations within the species Pediococcus acidilactici detected by multilocus typing analysis: relationships between pediocin AcH/PA-1 producing and non-producing strains.* Microbiology (2000), 146, p. 2027–2038.
- Mossel, D. A. A.; Zwart, H.** (1960):  
*The rapid tentative recognition of psychrotrophic types among Enterobacteriaceae isolated from foods.* J. Appl. Bacteriol. 23, p. 185-188.
- Mossel, D. A. A.** (1979):  
*The microbial associations of foods of animal origin.* Arch. Lebensmittelhyg. 30, S. 82-84.
- Mossel, D. A. A.; Corry, J. E. L.; Struijk, C. B.; Baird, R. M.** (1995):  
*Essentials of microbiology of foods.* John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Motlagh, A.; Bukhtiyarova, M.; Ray, B.** (1994):  
*Complete nucleotide sequence of pSMB74, a plasmid encoding the production of pediocin AcH in Pediococcus acidilactici.* Lett. Appl. Microbiol. 18, p. 305-312.
- Muthukumarasamy, P.; Holley, R. A.** (2007):  
*Survival of Escherichia coli O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria.* Food Microbiology, 24, p. 82 – 88.

**Nagengast H.** (24.05.2006):

*Nachweis und Bewertung von freien Aminosäuren in Geflügelfleisch während der Reifung – Auswirkungen auf die Qualität daraus hergestellter Produkte. (Dissertation).* Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit.

**Neumeyer, B.** (1997):

*Wirkung bakteriozinbildender Milchsäurebakterien auf das Wachstum von Listerien in Fleisch und Fleischprodukten (Dissertation).* Karlsruhe: Universität Hohenheim, Fachgebiet Allgemeine Lebensmitteltechnologie und –mikrobiologie.

**Newton, G. L.; Gill, C. O.** (1978):

*The development of the anaerobic spoilage flora of meat stored at chill temperatures.* Journal of Appl. Bacteriology, 44, p. 91 – 95.

**Nielsen, J.; Dickson, J.; Crouse, J.** (1990):

*Use of d Bacteriocin Produced by Pediococcus acidilactici To Inhibit Listeria monocytogenes Associated with Fresh Meat.* Applied and Environmental Microbiology, July 1990, p. 2142 – 2145.

**Nilsson, L.; Gram, L.; Huss, H. H.** (1999):

*Growth control of Listeria monocytogenes on cold-smoked salmon using a competitive lactic acid bacteria flora.* Journal of Food Protection, 62 (4), p. 336–342.

**Nilsson, L.; Hansen, T. B.; Garrido, P.; Buchrieser, C.; Glaser, P.; Knochel, S.; Gram, L.; Gravesen, A.** (2005):

*Growth inhibition of Listeria monocytogenes by a nonbacteriocinogenic Carnobacterium piscicola.* J. Appl. Microbiol. 98, p. 172 – 183.

**Nissen, H.; Holck, A.** (1998):

*Survival of Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes and Salmonella kentucky in Norwegian fermented, dry sausage.* Food Microbiol. 15, p. 273 – 279.

**Nissen, H.; Alvseike, O.; Bredholt, S.; Holck, A.; Nesbakken, T.** (2000):

*Comparison between the growth of Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7 and salmonella spp. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques.* Int. J. Food Microbiol., 59 (3), p. 211 - 220.

**Nychas, G.-J. E.; Drosinos, E. H.; Board, R. G.** (1998):

*Chemical changes in stored meat.* In: A. Davies, R. Board (ed.), The Microbiology of Meat and Poultry. London: Blackie Academic & Professional, p. 288-326.

**Nychas, G.-J. E.; Drosinos, E. H.** (2000):

*Spoilage of meat.* in: Robinson, R. K.; C. A. BATT und P. D. PATEL (Hrsg.): Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press, London, UK, p. 1253-1260.

**Nychas, G. J. E.; Skandamis, P. N.** (2005):

*Improving the safety of fresh meat. Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP).*, Woodhead Publishing Ltd., p. 461-502.

**O'Grady, M. N.; Monahan, F. J.; Burke, R. M.; Allen, P.** (2000):

*The effect of oxygen level and exogenous  $\alpha$ -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs.* Meat Science 55, p. 39 - 45.

**Okereke, A.; Montville, T. J.** (1991):

*Bacteriozin inhibition of the genus Pediococcus.* J Food Prot 1, p. 349 - 353.

- Osmanagaoglu, Ö.; Gündüz, U.; Beyatli, Y.; Cökmüs, C.** (1998):  
*Purification and Characterization of Pediocin F, A Bacteriocin Produced By *Pediococcus acidilactici* F.* Tr. J. of Biology 22 (1998) p. 217-228.
- Ouwehand, A. C.** (1998):  
*Antimicrobial components from lactic acid bacteria.* In: S. Salminen, A. von Wright (ed.), *Lactic Acid Bacteria*, New York: Marcel Dekker; Inc., p: 139-159.
- Özbas, Z. Y., Vural, H.; Aytac, S. A.** (1996):  
*Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on the growth of spoilage and inoculated pathogenic bacteria on fresh poultry.* Lebensm. Unters. Forsch., 203, p. 326 – 332.
- Pidcock, K.; Heard, G. M.; Henriksson, A.** (2002):  
*Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami.* Int. J. Food Microbiol. 76, p. 75 – 81.
- Pingel, H.; Wick, M.; v. Lengerken, G.** (2007):  
*Schlachttierwert und Gewinnung von Geflügelfleisch.* in Branscheid, W.; Honikel, K. O.; von Lengerken, G.; Troeger, K. (2007) Band 1, 2. Auflage, Frankfurt a. Main: Deutscher Fachverlag.
- Pucci, M. J.; Vedamutu, E. R.; Kunka, B. S.; Vandenberg, P. A.** (1993):  
*Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Using Bacteriocin PA-1 Produced by *Pediococcus acidilactici* PAC 1.0.* Applied and environmental microbiology, oct. 1988, p. 2349-2353 Vol. 54, No. 10.
- Reiche, T.** (2003):  
*Praxishandbuch GV – Hygiene in Großküchen.* Hamburg: Behr's Verlag.
- Reuter, G.** (1990):  
*Hygiene and technology in red meat production.* In: Hannan, J. und J. D. Collins (Hrsg.): The scientific basics for harmonising trade in red meat. Proc. Round Table Conf. World Association Vet. Food Hygienists, Dublin 13. -14. 11. 1990, Dublin, University College, Irland, p. 19-36.
- Reuter, G.** (1999):  
*Mikroflora der Lebensmittel tierischer Herkunft: Fleisch und Fleischerzeugnisse.* In: Heeschen, W., H. Meyer und R. Zschaler (Hrsg. : Handbuch Lebensmittelhygiene, Loseblattausgabe, Grundwerk 1994, 9. Aktualisierungs-Lieferung. Behrs Verlag, Hamburg, S. 1-12.
- Riordan, D.; Duffy, G.; Sheridan, J.; Eblen, B.; Whiting, R.; McDowell, D.** (1998):  
*Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of pepperoni.* J. Food Prot. 61, p. 146 – 151.
- Roos, Y. H.** (2007):  
*Water Activity and Glass Transition.* In G.V. Barbosa-Canovas, A.J. Fontana, Jr, S.J. Schmidt, T.P. Labuza (ed.), *Water Activity in Foods.* Ames, Oxford, Carlton: Blackwell Publishing, p. 29-45.
- Römpp** (1995):  
*Chemie Lexikon.* CD-Version 1.0; Stuttgart: Thieme Verlag.

**Rutloff, H.; Proll, J.; Leuchtenberger, A.** (1997):

*Lebensmittel-Biotechnologie: Probleme und Lösungsansätze.* Berlin: Springer Verlag.

**Ryschka, M.** (2001):

*Untersuchung zur Überlebensrate von Salmonellen und Listerien in streichfähiger Rohwurst.* Diplomarbeit FH Lippe.

**Schael, M.** (2001):

*Untersuchung zur Überlebensrate von Listeria monocytogenes und Salmonella typhimurium in schnittfester Rohwurst.* Diplomarbeit FH Lippe.

**Schalch, B.; Eisgruber, H.; Stoole, A.** (1996):

*Praktische Erfahrungen mit den mikrobiologischen Anforderungen der EG-Hackfleischrichtlinie.* Fleischwirtschaft, 76, 883-886.

**Scharf, A.** (2000):

*Sensorische Produktforschung im Innovationsprozess.* Stuttgart: Schäffel-Poeschel Verlag.

**Scheidle W.** (2007)

*CIELab.* Elektronische Publikation.

URL: <http://www.cielab.de> (04.12.2007).

**Schillinger, U.; Kaya, M.; Lücke, K. F.** (1991):

*Behavior of Listeria monocytogenes in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of Lactobacillus sake.* Journal of Applied Bacteriology, 70, p. 473 – 478.

**Simpson, P. J.; Stanton, C.; Fitzgerald, G. F.; Ross, R. P.** (2002):

*Genomic Diversity within the Genus Pediococcus as Revealed by Randomly Amplified Polymorphic DNA PCR and Pulsed-Field Gel Electrophoresis.* Journal of applied and environmental microbiology, 68, 2 p. 765–771.

**Sinell, H.-J.** (1989):

*Hygiene von gekühlten und tiefgekühlten Lebensmitteln.* Zbl. Bakt. Hyg. B, 157, S. 533-545.

**Souci, S. W.; Fachmann, W.; Kraut, H.** (2000):

*Die Zusammensetzung der Lebensmittel – Nährwerttabellen.* 6. Aufl. Medapharm Scientific Publishers, Stuttgart.

**Sørheim, O.; Kropf, D. H.; Hunt, M. C.; Karwoski, M. T.; Warren, K. E.** (1996):

*Effects of Modified Gas Atmosphere Packaging on Pork Loin Colour, Display Life and Drip Loss.* Meat Science, 43(2), p. 203-212.

**Sørheim, O.; Erlandsen, T.; Nissen, H.; Lea, P.; Hoyem, T.** (1997):

*Effects of modified atmosphere storage on colour and microbiological shelf life of normal and pale, soft and exsudative pork.* Meat Science, 47 (1 - 2), p. 147-155.

**Sørheim, O.; Nissen, H.; Nesbakken, T.** (1999):

*The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide.* Meat Science, 52 (1).

**Stahel, W. A.** (2008):

*Statistische Datenanalyse.* (5. Aufl.) Wiesbaden: Vieweg Verlag.

**Stanbridge, L. H.; Davies, A. R.** (1998):

*The microbiology of chill-stored meat.* In: A. Davies, R. Board (ed.), *The Microbiology of Meat and Poultry.* London: Blackie Academic & Professional, p. 174-219.

**Stiebing, A.** (1999):

*Fewer bacteria at higher temperature. Studies on survival of EHEC in sliceable raw sausage.* Fleischwirtschaft 78, S. 68 – 70.

**Stiebing, A.** (2001):

*Salmonellen, Listerien – Überlebensfähigkeit in Rohwurst.* Erweiterte Kurzfassung BVDF - Forschungsprojekt: 15 pp..

**Stiles, M. E.** (1996):

*Biopreservation by lactic acid bacteria.* *Antonie van Leeuwenhoek* 70: p. 331-345.

**Stiles, M. E.; Holzapfel, W. H.** (1997):

*Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.* *Int. J. Food Microbiol.* 36, p. 1 – 29.

**Stone, H.; Sidel, J. L.** (2004):

*Sensory evaluation practices.* (3. Aufl.) London, San Diego: Elsevier Academic Press.

**Strotmann, C.** (2006):

*Untersuchungen zum Wachstumsverhalten von Yersinia enterocolitica DSM 11502 in künstlich kontaminiertem Schweinehackfleisch unter verschiedenen modifizierten Atmosphären.* (Dissertation), Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit.

**Thippareddi, H.; Phebus, R. K.** (2003):

*Modified atmosphere packaging (MAP): Microbial Control and Quality. Pork Fact Sheet.* National Pork Board and American Meat Science Association.

**Todorov, S. D.; Dicks, L. M. T.** (2005 a):

*Pediocin ST18, an antilisterial bacteriocin produced by Pediococcus pentosaceus ST18 isolated from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria.* *Process Biochemistry* 40, p. 365 – 370.

**Todorov, S. D.; Dicks, L. M. T.** (2005 b):

*Effect of growth medium on bacteriocin production by Lactobacillus plantarum ST194BZ, a strain isolated from boza.* *Food Technology and Biotechnology* 43, p. 165 – 173.

**Tomé, E.; Gibbs, P. A.; Teixeira, P. C.** (2008):

*Growth control of Listeria innocua 2030c on vacuum-packaged cold-smoked salmon by lactic acid bacteria.* *International Journal of Food Microbiology*, 121, p. 285 – 294.

**Totosaus, A.; Perez-Chabela, M. L.; Guerrero, I.** (2007):

*Color of Fresh and Frozen Poultry.* In: L.M.L. Nollet, Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Ames, Oxford, Carlton: Blackwell Publishing, p. 455-464.

**Tserovska, L.; Stefanova, S.; Yordanova, T.** (2002):

*Identification of lactic acid bacteria isolated from katyk, goat's milk and cheese.* *Journal of culture collections*, 3, 2000 - 2002, p. 48-52.

**van de Giessen, A. W.; Bouwknegt, M.; Dam-Deisz, W. D. C.; van Pelt, W.; Wannet, W. J. B.; Visser, G.** (2006):

*Surveillance of Salmonella spp. and Campylobacter spp. in poultry flocks in The Netherlands.* *Epidemiol. Infect.* 1 – 10.

**Venema, K.; Kok, J.; Marugg, J. D.; Toonen, M. Y.; Lebeboer, A. M.; Venema, G.; Chikindas, M. L.** (1995):

*Functional analysis of the pediocin operon of *Pediococcus acidilactici* PAC1.0: PedB is the immunity protein and PedD is the precursor processing enzyme.* Mol. Microbiol. 17(3), p. 515-522.

**Vermeiren, L.; Devlieghere, F.; Debevere, J.** (2004)

*Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products.* Int. J. Food Microbiol. 96 (2), p. 149 – 164.

**Vermeiren, L.; Devlieghere, F.; Debevere, J.** (2006):

*Co-culture experiments demonstrate the usefulness of *Lactobacillus sakei* 10A to prolong the shelf-life of a model cooked ham.* Int. J. Food Microbiol., 22.

**Vermeiren, L.; Devlieghere, F.; Vandekinderen, I.; Debevere, J.** (2006):

*The Interaction of the non-bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* 10A and lactocin S producing *Lactobacillus sakei* 148 towards *Listeria monocytogenes* on a model cooked ham.* Food Microbiology, 23, p. 511 – 518.

**Vignolo, G.; Fadda, S.; Kairuz, M. R.; Holgado, A.; Oliver, G.** (1996a.):

*Control of *Listeria monocytogenes* in ground beef by lactocin 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL705.* Int. J. Food Microbiol. 29, p. 397 – 402.

**Vignolo, G.; Cuozzo, S.; Kairuz, M. N.; Holgado, R. A.; Oliver, G.** (1996b):

**Listeria monocytogenes* inhibition in meat slurry by in situ produced lactocin 705.* Microbiol. Alim. Nutr. 14, 363–367.

**Vignolo, G.; Palacios, J.; Farias, E. M.; Schillinger, U.; Holzapfel, H.** (2000):

*Combined effect of bacteriocins on the survival of various *Listeria* species in broth and meat system.* Curr. Microbiol., 41: p. 410 - 416.

**Walsh, H. M.; Kerry, J. P.** (2002):

*Meat packing.* In: J. Kerry, D. Ledward (eds.), Meat processing: Improving quality. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, p. 416-451.

**Warendorf, T.** (2002):

*Sensorik in der Qualitätskontrolle.* In: M. Busch-Stockfisch Praxishandbuch Sensorik in der Produktentwicklung und Qualitätssicherung. Hamburg: Behr's Verlag.

**Weber, H.** (1992):

*Spezielle Anwendungen am Beispiel Rohwurst.* In: L.I. Dehne, K.W. Bögel (Hrsg.), Die biologische Konservierung von Lebensmitteln. Ein Statusbericht. SozEP - Hefte 4, S. 46-62.

**Weber, H.** (1996):

*Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch und Fleischerzeugnisse.* (1. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag.

**Weber, H.** (2003):

*Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch – Fisch – Feinkost.* (1. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag.

**Weise, E.** (1996):

*Mikrobiologie des Geflügels.* in: H. Weber (Hrsg.): Mikrobiologie der Lebensmittel - Fleisch und Fleischerzeugnisse. Behr's Verlag, Hamburg, S. 555 – 632.

---

**Weise, E.** (2003):

*Mikrobiologie des Geflügels. In: H. Weber (Hrsg.) Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch – Fisch – Feinkost.* (1. Aufl.) Hamburg: Behr's Verlag, S. 563 - 618.

**Yang, R.; Johnson, M. C.; Ray, B.** (1992):

*Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria.* Appl. Environment Microbiology, 58, p. 3355 – 3359.

**Young, L. L.; Reverie, R. D.; Cole, A. B.** (1988):

*Fresh red meats: a place to apply modified atmospheres.* Food Technology, 42, p. 64-69.

**Zhao, T.; Doyle, M. P.; Zhao, P.** (2004):

*Control of Listeria monocytogenes in a biofilm by competitive-exclusion microorganisms.* Applied and Environmental Microbiology, 70 (7), p. 3996–4003.

**Zlotkin, A.; Eldar, A.; Ghittino, C.; Bercovier, H.** (1998):

*Identification of Lactococcus garvieae by PCR.* J. Clin. Microbiol. 36, p.983 – 985.

## 9.2 Gesetze und Normen

*Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren; Bekanntmachungen nach §64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB), neugefasst durch Bek. vom 26.04.2006*

*Deutsches Institut für Normung e.V. (2006) DIN EN ISO 8586-2 Sensorische Analyse – Allgemeiner Leitfaden für die Auswahl, und Überprüfung von Prüfpersonen – Teil 2: Sensoriker (ISO/DIN 8586-2: 2006). Berlin: Beuth Verlag.*

*Deutsches Institut für Normung e.V. (1984) DIN 10163 Mikrobiologische Untersuchung von Fleisch und Fleischprodukten – Bestimmung Koagulase-positiver Staphylokokken. Berlin: Beuth Verlag.*

*Deutsches Institut für Normung e.V. (1997) DIN 10963 Sensorische Prüfverfahren – Rangordnungsprüfung. Berlin: Beuth Verlag.*

*Deutsches Institut für Normung e.V. (2006) DIN 10973 (2006-4) Sensorische Prüfverfahren – Innerhalb/Außerhalb-Prüfung (In/out test). Berlin: Beuth Verlag.*

*Deutsches Institut für Normung e.V. (2007) E DIN 10974 (2007-06) Sensorische Prüfverfahren – Verbrauchertests Normentwurf. Berlin: Beuth Verlag.*

*Deutsches Lebensmittelbuch (LmB) (2003): Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse, in der Fassung der Bekanntmachung vom 23.01.2003*

*International Organisation for Standardization (2005). ISO 6658-2005: Sensory analysis – Methodology – General guidance, Second edition 2005-10-01.*

*International Organisation for Standardization (2006). ISO 8587-2006: Sensory analysis – Methodology – Ranking, Second edition 2006-11-01.*

*International Organisation for Standardization (2007). ISO 8589-2007: Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms, Second edition 2007-12-15.*

*Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene*

*Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs*

*Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel (ABl. Nr. L 338 vom 22.12.2005 S. 1)*

*Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen von Lebensmitteln zu technologischen Zwecken (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung – ZzulV), zuletzt geändert am 22.02.2006 (BGBl. I S. 231)*

*Verordnung über Anforderungen an Zusatzstoffe und an das Inverkehrbringen von Zusatzstoffen für technologische Zwecke (Zusatzstoff-Verkehrs-Verordnung – ZverkV), zuletzt geändert am 22.02.2006 (BGBl. I S. 444)*

## 10. Anhang

### 10.1 Tabellenanhang

Tabelle 12: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des Vorversuches 1

VVS 1: Nachweis von Milchsäurebakterien bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,09*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	1,18*10 <sup>3</sup>	5,45*10 <sup>3</sup>	2,18*10 <sup>3</sup>	3,34 ± 0,35	
	3	3,64*10 <sup>3</sup>	8,64*10 <sup>3</sup>	3,64*10 <sup>3</sup>	8,09*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	3,78 ± 0,21	
	5	2,82*10 <sup>4</sup>	2,70*10 <sup>4</sup>	2,45*10 <sup>4</sup>	2,64*10 <sup>4</sup>	2,65*10 <sup>4</sup>	4,42 ± 0,03	
	7	1,00*10 <sup>5</sup>	3,87*10 <sup>5</sup>	1,36*10 <sup>5</sup>	2,00*10 <sup>5</sup>	2,06*10 <sup>5</sup>	5,31 ± 0,25	
	10	5,00*10 <sup>5</sup>	5,23*10 <sup>5</sup>	1,32*10 <sup>6</sup>	2,00*10 <sup>5</sup>	6,37*10 <sup>5</sup>	5,80 ± 0,34	
B-LC 20	0	3,27*10 <sup>7</sup>	2,64*10 <sup>7</sup>	3,27*10 <sup>7</sup>	3,27*10 <sup>7</sup>	3,11*10 <sup>7</sup>	7,49 ± 0,05	0,000
	3	2,45*10 <sup>7</sup>	2,00*10 <sup>7</sup>	2,45*10 <sup>7</sup>	2,45*10 <sup>7</sup>	2,34*10 <sup>7</sup>	7,37 ± 0,04	0,000
	5	1,91*10 <sup>7</sup>	8,27*10 <sup>6</sup>	2,55*10 <sup>7</sup>	2,55*10 <sup>7</sup>	1,96*10 <sup>7</sup>	7,29 ± 0,23	0,017
	7	2,55*10 <sup>7</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	2,09*10 <sup>7</sup>	7,32 ± 0,10	0,003
	10	2,18*10 <sup>7</sup>	1,27*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	1,95*10 <sup>7</sup>	7,29 ± 0,12	0,004
B-SF 43	0	2,91*10 <sup>6</sup>	6,36*10 <sup>6</sup>	8,10*10 <sup>5</sup>	1,08*10 <sup>6</sup>	2,79*10 <sup>6</sup>	6,45 ± 0,41	0,117
	3	7,27*10 <sup>6</sup>	1,64*10 <sup>6</sup>	4,00*10 <sup>5</sup>	4,27*10 <sup>6</sup>	3,40*10 <sup>6</sup>	6,53 ± 0,55	0,113
	5	7,27*10 <sup>6</sup>	5,36*10 <sup>6</sup>	2,00*10 <sup>6</sup>	7,79*10 <sup>6</sup>	5,61*10 <sup>6</sup>	6,75 ± 0,27	0,024
	7	2,73*10 <sup>6</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	4,64*10 <sup>6</sup>	4,18*10 <sup>7</sup>	1,59*10 <sup>7</sup>	7,20 ± 0,53	0,179
	10	5,09*10 <sup>6</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	5,14*10 <sup>6</sup>	9,09*10 <sup>6</sup>	8,47*10 <sup>6</sup>	6,93 ± 0,22	0,045
VVS 1: Nachweis von Milchsäurebakterien bei +7 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,64*10 <sup>3</sup>	1,55*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	1,18*10 <sup>3</sup>	1,34*10 <sup>3</sup>	3,13 ± 0,10	
	3	1,27*10 <sup>4</sup>	1,73*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	1,55*10 <sup>4</sup>	1,39*10 <sup>4</sup>	4,14 ± 0,10	
	5	3,64*10 <sup>5</sup>	1,18*10 <sup>5</sup>	5,45*10 <sup>5</sup>	1,23*10 <sup>5</sup>	2,88*10 <sup>5</sup>	5,46 ± 0,34	
	7	1,91*10 <sup>7</sup>	3,18*10 <sup>7</sup>	1,82*10 <sup>6</sup>	9,27*10 <sup>6</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	7,19 ± 0,54	
	10	7,27*10 <sup>7</sup>	5,91*10 <sup>7</sup>	2,09*10 <sup>7</sup>	5,73*10 <sup>7</sup>	5,25*10 <sup>7</sup>	7,72 ± 0,24	
B-LC 20	0	2,18*10 <sup>7</sup>	1,82*10 <sup>7</sup>	2,64*10 <sup>7</sup>	2,64*10 <sup>7</sup>	2,32*10 <sup>7</sup>	7,37 ± 0,08	0,001
	3	1,91*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	1,80*10 <sup>7</sup>	7,25 ± 0,07	0,001
	5	2,45*10 <sup>7</sup>	2,45*10 <sup>7</sup>	1,91*10 <sup>7</sup>	1,91*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	7,34 ± 0,06	0,001
	7	1,27*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	1,59*10 <sup>7</sup>	7,20 ± 0,10	0,943
	10	1,91*10 <sup>7</sup>	2,00*10 <sup>7</sup>	1,27*10 <sup>7</sup>	1,27*10 <sup>7</sup>	1,61*10 <sup>7</sup>	7,21 ± 0,11	0,035
B-SF 43	0	1,18*10 <sup>7</sup>	4,64*10 <sup>6</sup>	1,08*10 <sup>6</sup>	1,60*10 <sup>6</sup>	4,78*10 <sup>6</sup>	6,68 ± 0,47	0,149
	3	8,18*10 <sup>6</sup>	3,09*10 <sup>6</sup>	2,73*10 <sup>6</sup>	2,55*10 <sup>6</sup>	4,14*10 <sup>6</sup>	6,62 ± 0,24	0,055
	5	2,73*10 <sup>7</sup>	1,18*10 <sup>7</sup>	2,45*10 <sup>7</sup>	6,00*10 <sup>6</sup>	1,74*10 <sup>7</sup>	7,24 ± 0,31	0,042
	7	7,91*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	1,05*10 <sup>8</sup>	6,00*10 <sup>6</sup>	5,29*10 <sup>7</sup>	7,72 ± 0,57	0,109
	10	2,45*10 <sup>8</sup>	1,09*10 <sup>8</sup>	2,55*10 <sup>8</sup>	1,49*10 <sup>7</sup>	1,56*10 <sup>8</sup>	8,19 ± 0,58	0,073

VVS 1: Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i> bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,50*10 <sup>2</sup>	1,90*10 <sup>2</sup>	1,12*10 <sup>2</sup>		1,51*10 <sup>2</sup>	2,18 ± 0,11	
	1	8,55*10 <sup>2</sup>	7,00*10 <sup>2</sup>	7,75*10 <sup>2</sup>		7,77*10 <sup>2</sup>	2,89 ± 0,04	
	3	1,46*10 <sup>5</sup>	6,49*10 <sup>3</sup>	7,13*10 <sup>4</sup>		7,46*10 <sup>4</sup>	4,87 ± 0,71	
	5	2,70*10 <sup>5</sup>	2,00*10 <sup>5</sup>	3,25*10 <sup>5</sup>		2,65*10 <sup>5</sup>	5,42 ± 0,11	
	7	9,46*10 <sup>5</sup>	5,99*10 <sup>5</sup>	7,11*10 <sup>6</sup>		2,88*10 <sup>5</sup>	6,46 ± 0,57	
	10	9,40*10 <sup>6</sup>	8,47*10 <sup>5</sup>	4,73*10 <sup>6</sup>		4,99*10 <sup>5</sup>	6,70 ± 0,54	
B-LC 20	0	2,50*10 <sup>2</sup>	1,50*10 <sup>2</sup>	1,70*10 <sup>2</sup>		1,90*10 <sup>2</sup>	2,28 ± 0,12	0,443
	1	1,36*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>		8,87*10 <sup>2</sup>	2,95 ± 0,35	0,748
	3	4,10*10 <sup>4</sup>	3,73*10 <sup>3</sup>	2,24*10 <sup>5</sup>		2,24*10 <sup>4</sup>	4,35 ± 0,54	0,219
	5	2,20*10 <sup>5</sup>	1,01*10 <sup>5</sup>	1,15*10 <sup>5</sup>		1,45*10 <sup>5</sup>	5,16 ± 0,18	0,127
	7	1,01*10 <sup>5</sup>	2,91*10 <sup>5</sup>	1,95*10 <sup>5</sup>		1,96*10 <sup>5</sup>	5,29 ± 0,23	0,332
	10	2,73*10 <sup>5</sup>	3,00*10 <sup>5</sup>	2,86*10 <sup>5</sup>		2,86*10 <sup>5</sup>	5,46 ± 0,02	0,198
B-SF 43	0	1,00*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	6,00*10 <sup>1</sup>		8,67*10 <sup>1</sup>	1,94 ± 0,13	0,039
	1	5,09*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	3,04*10 <sup>2</sup>		3,04*10 <sup>2</sup>	2,48 ± 0,36	0,023
	3	1,30*10 <sup>4</sup>	8,00*10 <sup>3</sup>	6,90*10 <sup>3</sup>		9,30*10 <sup>3</sup>	3,97 ± 0,14	0,235
	5	1,30*10 <sup>5</sup>	7,00*10 <sup>4</sup>	6,85*10 <sup>4</sup>		8,95*10 <sup>4</sup>	4,95 ± 0,16	0,050
	7	3,01*10 <sup>5</sup>	1,55*10 <sup>5</sup>	2,07*10 <sup>5</sup>		2,21*10 <sup>5</sup>	5,34 ± 0,15	0,336
	10	1,55*10 <sup>5</sup>	6,37*10 <sup>4</sup>	3,96*10 <sup>5</sup>		2,05*10 <sup>5</sup>	5,31 ± 0,40	0,190
VVS 1: Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i> bei +7 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,00*10 <sup>2</sup>	1,90*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>		1,30*10 <sup>2</sup>	2,11 ± 0,16	
	1	8,00*10 <sup>1</sup>	8,00*10 <sup>2</sup>	4,40*10 <sup>2</sup>		4,40*10 <sup>2</sup>	2,64 ± 0,52	
	3	1,34*10 <sup>5</sup>	1,40*10 <sup>4</sup>	7,40*10 <sup>4</sup>		7,40*10 <sup>4</sup>	4,87 ± 0,51	
	5	3,90*10 <sup>5</sup>	9,45*10 <sup>5</sup>	6,68*10 <sup>5</sup>		6,68*10 <sup>5</sup>	5,82 ± 0,19	
	7	1,41*10 <sup>6</sup>	2,30*10 <sup>6</sup>	1,86*10 <sup>6</sup>		1,86*10 <sup>6</sup>	6,27 ± 0,11	
	10	3,50*10 <sup>6</sup>	3,64*10 <sup>6</sup>	3,57*10 <sup>6</sup>		3,57*10 <sup>6</sup>	6,55 ± 0,01	
B-LC 20	0	2,50*10 <sup>2</sup>	1,50*10 <sup>2</sup>	8,75*10 <sup>1</sup>		1,62*10 <sup>2</sup>	2,21 ± 0,23	0,639
	1	2,82*10 <sup>2</sup>	2,00*10 <sup>2</sup>	2,41*10 <sup>2</sup>		2,41*10 <sup>2</sup>	2,38 ± 0,07	0,481
	3	9,70*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	5,50*10 <sup>4</sup>		5,50*10 <sup>4</sup>	4,74 ± 0,45	0,209
	5	2,10*10 <sup>5</sup>	2,60*10 <sup>5</sup>	2,35*10 <sup>5</sup>		2,35*10 <sup>5</sup>	5,37 ± 0,05	0,097
	7	8,27*10 <sup>5</sup>	1,40*10 <sup>6</sup>	1,11*10 <sup>6</sup>		1,11*10 <sup>6</sup>	6,05 ± 0,11	0,015
	10	1,00*10 <sup>6</sup>	9,09*10 <sup>5</sup>	1,55*10 <sup>6</sup>		1,15*10 <sup>6</sup>	6,06 ± 0,12	0,007
B-SF 43	0	5,00*10 <sup>1</sup>	1,10*10 <sup>2</sup>	1,75*10 <sup>2</sup>		1,12*10 <sup>2</sup>	2,05 ± 0,28	0,737
	1	2,00*10 <sup>2</sup>	5,50*10 <sup>2</sup>	3,80*10 <sup>2</sup>		3,77*10 <sup>2</sup>	2,58 ± 0,22	0,613
	3	1,31*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,26*10 <sup>4</sup>		1,26*10 <sup>4</sup>	4,10 ± 0,02	0,215
	5	1,90*10 <sup>5</sup>	1,91*10 <sup>5</sup>	1,90*10 <sup>5</sup>		1,90*10 <sup>5</sup>	5,28 ± 0,00	0,096
	7	3,27*10 <sup>5</sup>	3,00*10 <sup>5</sup>	3,13*10 <sup>5</sup>		3,13*10 <sup>5</sup>	5,50 ± 0,02	0,028
	10	4,90*10 <sup>5</sup>	1,36*10 <sup>6</sup>	9,27*10 <sup>5</sup>		9,27*10 <sup>5</sup>	5,97 ± 0,22	0,006

Tabelle 13: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des VVS 2

VVS 2: Nachweis von Milchsäurebakterien bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
0,2 g B-LC 20 (Lyophilisat)	0	4,55*10 <sup>6</sup>	5,64*10 <sup>6</sup>	2,91*10 <sup>6</sup>		4,21*10 <sup>6</sup>	6,62 ± 0,15	
	3	6,36*10 <sup>6</sup>	1,82*10 <sup>7</sup>	1,00*10 <sup>7</sup>		1,05*10 <sup>7</sup>	7,02 ± 0,23	
	5	1,84*10 <sup>7</sup>	4,33*10 <sup>7</sup>	2,25*10 <sup>7</sup>		1,35*10 <sup>7</sup>	7,13 ± 0,19	
	7	1,75*10 <sup>7</sup>	4,34*10 <sup>7</sup>	2,32*10 <sup>7</sup>		2,30*10 <sup>7</sup>	7,36 ± 0,20	
	10	4,33*10 <sup>7</sup>	5,67*10 <sup>7</sup>	3,26*10 <sup>7</sup>		2,99*10 <sup>7</sup>	7,48 ± 0,12	
0,2 g B-LC 20 (Suspension)	0	4,00*10 <sup>6</sup>	3,27*10 <sup>6</sup>	5,64*10 <sup>6</sup>		4,19*10 <sup>6</sup>	6,62 ± 0,12	0,971
	3	8,18*10 <sup>6</sup>	1,05*10 <sup>7</sup>	7,82*10 <sup>6</sup>		8,77*10 <sup>6</sup>	6,94 ± 0,07	0,433
	5	1,67*10 <sup>7</sup>	3,40*10 <sup>7</sup>	1,08*10 <sup>7</sup>		1,83*10 <sup>7</sup>	7,26 ± 0,25	0,131
	7	3,42*10 <sup>7</sup>	1,09*10 <sup>7</sup>	1,50*10 <sup>7</sup>		1,78*10 <sup>7</sup>	7,25 ± 0,26	0,632
	10	4,84*10 <sup>7</sup>	3,53*10 <sup>7</sup>	2,09*10 <sup>7</sup>		3,29*10 <sup>7</sup>	7,52 ± 0,18	0,350
0,2 g B-LC 20 (Aerosol)	0	4,36*10 <sup>6</sup>	3,27*10 <sup>6</sup>	3,21*10 <sup>6</sup>		3,58*10 <sup>6</sup>	6,55 ± 0,07	0,456
	3	9,41*10 <sup>6</sup>	1,62*10 <sup>7</sup>	1,06*10 <sup>7</sup>		1,17*10 <sup>7</sup>	7,07 ± 0,12	0,737
	5	1,18*10 <sup>7</sup>	8,00*10 <sup>6</sup>	3,02*10 <sup>7</sup>		1,42*10 <sup>7</sup>	7,15 ± 0,30	0,463
	7	1,74*10 <sup>7</sup>	1,57*10 <sup>7</sup>	1,86*10 <sup>7</sup>		1,72*10 <sup>7</sup>	7,24 ± 0,04	0,333
	10	2,13*10 <sup>7</sup>	2,69*10 <sup>7</sup>	2,34*10 <sup>7</sup>		2,37*10 <sup>7</sup>	7,38 ± 0,05	0,077
0,4 g B-LC 20 (Lyophilisat)	0	1,69*10 <sup>7</sup>	1,82*10 <sup>7</sup>	1,27*10 <sup>7</sup>		1,58*10 <sup>7</sup>	7,20 ± 0,08	
	3	1,27*10 <sup>7</sup>	1,35*10 <sup>7</sup>	2,07*10 <sup>7</sup>		1,52*10 <sup>7</sup>	7,18 ± 0,12	
	5	1,46*10 <sup>7</sup>	1,75*10 <sup>7</sup>	3,38*10 <sup>7</sup>		2,05*10 <sup>7</sup>	7,31 ± 0,19	
	7	1,64*10 <sup>7</sup>	2,66*10 <sup>7</sup>	3,75*10 <sup>7</sup>		2,54*10 <sup>7</sup>	7,40 ± 0,18	
	10	2,32*10 <sup>7</sup>	4,71*10 <sup>7</sup>	4,96*10 <sup>7</sup>		3,78*10 <sup>7</sup>	7,58 ± 0,18	
0,4 g B-LC 20 (Suspension)	0	1,40*10 <sup>7</sup>	1,64*10 <sup>7</sup>	2,83*10 <sup>7</sup>		1,86*10 <sup>7</sup>	7,27 ± 0,16	0,608
	3	1,45*10 <sup>7</sup>	2,55*10 <sup>7</sup>	4,18*10 <sup>7</sup>		2,49*10 <sup>7</sup>	7,40 ± 0,23	0,170
	5	2,40*10 <sup>7</sup>	3,96*10 <sup>7</sup>	5,52*10 <sup>7</sup>		3,74*10 <sup>7</sup>	7,57 ± 0,18	0,051
	7	2,49*10 <sup>7</sup>	3,01*10 <sup>7</sup>	9,16*10 <sup>7</sup>		4,10*10 <sup>7</sup>	7,61 ± 0,31	0,305
	10	3,03*10 <sup>7</sup>	4,99*10 <sup>7</sup>	8,26*10 <sup>7</sup>		5,00*10 <sup>7</sup>	7,70 ± 0,22	0,269
0,4 g B-LC 20 (Aerosol)	0	1,51*10 <sup>7</sup>	1,85*10 <sup>7</sup>	1,54*10 <sup>7</sup>		1,62*10 <sup>7</sup>	7,21 ± 0,05	0,802
	3	1,58*10 <sup>7</sup>	9,17*10 <sup>6</sup>	1,49*10 <sup>7</sup>		1,29*10 <sup>7</sup>	7,11 ± 0,13	0,488
	5	1,83*10 <sup>7</sup>	1,43*10 <sup>7</sup>	1,44*10 <sup>7</sup>		1,56*10 <sup>7</sup>	7,19 ± 0,06	0,455
	7	1,78*10 <sup>7</sup>	6,69*10 <sup>6</sup>	2,21*10 <sup>7</sup>		1,38*10 <sup>7</sup>	7,14 ± 0,28	0,224
	10	1,76*10 <sup>7</sup>	1,84*10 <sup>7</sup>	2,25*10 <sup>7</sup>		1,94*10 <sup>7</sup>	7,29 ± 0,06	0,111
0,8 g B-LC 20 (Lyophilisat)	0	2,00*10 <sup>8</sup>	2,55*10 <sup>8</sup>	1,45*10 <sup>8</sup>		1,95*10 <sup>8</sup>	8,29 ± 0,12	
	3	1,29*10 <sup>8</sup>	1,44*10 <sup>8</sup>	1,56*10 <sup>8</sup>		1,43*10 <sup>8</sup>	8,15 ± 0,04	
	5	2,18*10 <sup>8</sup>	1,85*10 <sup>8</sup>	1,71*10 <sup>8</sup>		1,90*10 <sup>8</sup>	8,28 ± 0,05	
	7	2,27*10 <sup>8</sup>	1,83*10 <sup>8</sup>	1,81*10 <sup>8</sup>		1,96*10 <sup>8</sup>	8,29 ± 0,06	
	10	1,89*10 <sup>8</sup>	1,76*10 <sup>8</sup>	1,44*10 <sup>8</sup>		1,69*10 <sup>8</sup>	8,23 ± 0,06	
0,8 g B-LC 20 (Suspension)	0	1,78*10 <sup>8</sup>	2,91*10 <sup>8</sup>	1,62*10 <sup>8</sup>		2,03*10 <sup>8</sup>	8,31 ± 0,14	0,607
	3	1,74*10 <sup>8</sup>	2,55*10 <sup>8</sup>	1,35*10 <sup>8</sup>		1,81*10 <sup>8</sup>	8,26 ± 0,14	0,362
	5	1,43*10 <sup>8</sup>	2,23*10 <sup>8</sup>	1,38*10 <sup>8</sup>		1,64*10 <sup>8</sup>	8,21 ± 0,12	0,550
	7	1,81*10 <sup>8</sup>	2,20*10 <sup>8</sup>	1,77*10 <sup>8</sup>		1,92*10 <sup>8</sup>	8,28 ± 0,05	0,877
	10	1,86*10 <sup>8</sup>	1,75*10 <sup>8</sup>	2,27*10 <sup>8</sup>		1,95*10 <sup>8</sup>	8,29 ± 0,06	0,458
0,8 g B-LC 20 (Aerosol)	0	1,48*10 <sup>8</sup>	1,46*10 <sup>8</sup>	1,18*10 <sup>8</sup>		1,37*10 <sup>8</sup>	8,14 ± 0,05	0,122
	3	1,84*10 <sup>8</sup>	1,87*10 <sup>8</sup>	1,93*10 <sup>8</sup>		1,88*10 <sup>8</sup>	8,27 ± 0,01	0,014
	5	1,82*10 <sup>8</sup>	2,23*10 <sup>8</sup>	1,78*10 <sup>8</sup>		1,93*10 <sup>8</sup>	8,29 ± 0,05	0,896
	7	1,80*10 <sup>8</sup>	1,79*10 <sup>8</sup>	2,35*10 <sup>8</sup>		1,96*10 <sup>8</sup>	8,29 ± 0,07	0,972
	10	1,80*10 <sup>8</sup>	1,45*10 <sup>8</sup>	1,56*10 <sup>8</sup>		1,60*10 <sup>8</sup>	8,20 ± 0,05	0,514

Tabelle 14: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des VVS 3:

VVS 3: Nachweis von Milchsäurebakterien bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	4,51*10 <sup>3</sup>	5,58*10 <sup>3</sup>	5,02*10 <sup>3</sup>	5,29*10 <sup>3</sup>	5,29*10 <sup>3</sup>	3,72 ± 0,08	
	3	9,72*10 <sup>3</sup>	3,39*10 <sup>4</sup>	1,82*10 <sup>4</sup>	2,48*10 <sup>4</sup>	2,48*10 <sup>4</sup>	4,39 ± 0,46	
	5	3,35*10 <sup>4</sup>	1,35*10 <sup>5</sup>	6,73*10 <sup>4</sup>	9,54*10 <sup>4</sup>	9,54*10 <sup>4</sup>	4,98 ± 0,52	
	7	9,69*10 <sup>4</sup>	3,25*10 <sup>5</sup>	1,77*10 <sup>5</sup>	2,40*10 <sup>5</sup>	2,40*10 <sup>5</sup>	5,38 ± 0,45	
	10	7,52*10 <sup>5</sup>	1,48*10 <sup>6</sup>	1,05*10 <sup>6</sup>	1,25*10 <sup>6</sup>	1,25*10 <sup>6</sup>	6,10 ± 0,25	
0,2 g B-LC 20	0	9,41*10 <sup>6</sup>	7,51*10 <sup>6</sup>	8,41*10 <sup>6</sup>	7,95*10 <sup>6</sup>	7,95*10 <sup>6</sup>	6,90 ± 0,08	0,000
	3	2,36*10 <sup>7</sup>	3,77*10 <sup>7</sup>	2,98*10 <sup>7</sup>	3,35*10 <sup>7</sup>	3,35*10 <sup>7</sup>	7,53 ± 0,17	0,002
	5	7,30*10 <sup>7</sup>	6,04*10 <sup>7</sup>	6,64*10 <sup>7</sup>	6,33*10 <sup>7</sup>	6,33*10 <sup>7</sup>	7,80 ± 0,07	0,000
	7	1,25*10 <sup>8</sup>	8,73*10 <sup>7</sup>	1,05*10 <sup>8</sup>	9,56*10 <sup>7</sup>	9,56*10 <sup>7</sup>	7,98 ± 0,13	0,001
	10	1,56*10 <sup>8</sup>	9,67*10 <sup>7</sup>	1,23*10 <sup>8</sup>	1,09*10 <sup>8</sup>	1,09*10 <sup>8</sup>	8,04 ± 0,18	0,003
0,4 g B-LC 20	0	7,64*10 <sup>6</sup>	1,24*10 <sup>7</sup>	9,73*10 <sup>6</sup>	1,10*10 <sup>7</sup>	1,03*10 <sup>7</sup>	7,01 ± 0,09	0,002
	3	7,64*10 <sup>7</sup>	1,84*10 <sup>7</sup>	3,74*10 <sup>7</sup>	2,62*10 <sup>7</sup>	3,13*10 <sup>7</sup>	7,50 ± 0,26	0,054
	5	9,39*10 <sup>7</sup>	4,82*10 <sup>7</sup>	6,72*10 <sup>7</sup>	5,69*10 <sup>7</sup>	6,19*10 <sup>7</sup>	7,79 ± 0,12	0,007
	7	1,18*10 <sup>8</sup>	8,13*10 <sup>7</sup>	9,82*10 <sup>7</sup>	8,94*10 <sup>7</sup>	9,37*10 <sup>7</sup>	7,97 ± 0,07	0,001
	10	1,54*10 <sup>8</sup>	8,00*10 <sup>7</sup>	1,11*10 <sup>8</sup>	9,42*10 <sup>7</sup>	1,02*10 <sup>8</sup>	8,01 ± 0,12	0,007
0,6 g B-LC 20	0	1,51*10 <sup>7</sup>	1,92*10 <sup>7</sup>	1,70*10 <sup>7</sup>	1,81*10 <sup>7</sup>	1,76*10 <sup>7</sup>	7,24 ± 0,04	0,000
	3	7,04*10 <sup>7</sup>	3,74*10 <sup>7</sup>	5,13*10 <sup>7</sup>	4,38*10 <sup>7</sup>	4,74*10 <sup>7</sup>	7,68 ± 0,12	0,006
	5	1,13*10 <sup>8</sup>	6,43*10 <sup>7</sup>	8,54*10 <sup>7</sup>	7,41*10 <sup>7</sup>	7,95*10 <sup>7</sup>	7,90 ± 0,10	0,004
	7	1,25*10 <sup>8</sup>	8,12*10 <sup>7</sup>	1,01*10 <sup>8</sup>	9,05*10 <sup>7</sup>	9,55*10 <sup>7</sup>	7,98 ± 0,08	0,002
	10	1,68*10 <sup>8</sup>	1,07*10 <sup>8</sup>	1,34*10 <sup>8</sup>	1,20*10 <sup>8</sup>	1,27*10 <sup>8</sup>	8,10 ± 0,08	0,002
0,8 g B-LC 20	0	1,71*10 <sup>7</sup>	2,83*10 <sup>7</sup>	2,20*10 <sup>7</sup>	2,49*10 <sup>7</sup>	2,34*10 <sup>7</sup>	7,37 ± 0,09	0,002
	3	3,15*10 <sup>7</sup>	6,06*10 <sup>7</sup>	4,37*10 <sup>7</sup>	5,15*10 <sup>7</sup>	4,75*10 <sup>7</sup>	7,68 ± 0,12	0,005
	5	6,55*10 <sup>7</sup>	1,21*10 <sup>8</sup>	8,91*10 <sup>7</sup>	1,04*10 <sup>8</sup>	9,62*10 <sup>7</sup>	7,98 ± 0,11	0,004
	7	1,25*10 <sup>8</sup>	2,05*10 <sup>8</sup>	1,60*10 <sup>8</sup>	1,81*10 <sup>8</sup>	1,71*10 <sup>8</sup>	8,23 ± 0,09	0,002
	10	1,37*10 <sup>8</sup>	2,65*10 <sup>8</sup>	1,90*10 <sup>8</sup>	2,24*10 <sup>8</sup>	2,07*10 <sup>8</sup>	8,32 ± 0,12	0,005
0,2 g B-SF 43	0	1,51*10 <sup>6</sup>	1,83*10 <sup>6</sup>	2,59*10 <sup>6</sup>	2,18*10 <sup>6</sup>	1,99*10 <sup>6</sup>	6,30 ± 0,10	0,003
	3	1,54*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>6</sup>	3,37*10 <sup>6</sup>	2,90*10 <sup>6</sup>	3,13*10 <sup>6</sup>	6,50 ± 0,15	0,007
	5	6,36*10 <sup>6</sup>	9,52*10 <sup>6</sup>	6,30*10 <sup>6</sup>	7,75*10 <sup>6</sup>	6,99*10 <sup>6</sup>	6,84 ± 0,08	0,002
	7	1,20*10 <sup>7</sup>	2,08*10 <sup>7</sup>	1,34*10 <sup>7</sup>	1,67*10 <sup>7</sup>	1,50*10 <sup>7</sup>	7,18 ± 0,11	0,004
	10	9,95*10 <sup>7</sup>	7,52*10 <sup>7</sup>	4,90*10 <sup>7</sup>	6,07*10 <sup>7</sup>	5,45*10 <sup>7</sup>	7,74 ± 0,13	0,008
0,4 g B-SF 43	0	1,07*10 <sup>6</sup>	2,17*10 <sup>6</sup>	2,62*10 <sup>6</sup>	2,38*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>6</sup>	6,40 ± 0,18	0,009
	3	4,49*10 <sup>6</sup>	3,74*10 <sup>6</sup>	7,24*10 <sup>6</sup>	5,20*10 <sup>6</sup>	6,14*10 <sup>6</sup>	6,79 ± 0,12	0,006
	5	1,57*10 <sup>7</sup>	1,07*10 <sup>7</sup>	7,53*10 <sup>6</sup>	8,98*10 <sup>6</sup>	8,22*10 <sup>6</sup>	6,92 ± 0,14	0,010
	7	2,13*10 <sup>7</sup>	3,77*10 <sup>7</sup>	1,29*10 <sup>7</sup>	2,20*10 <sup>7</sup>	1,68*10 <sup>7</sup>	7,23 ± 0,19	0,020
	10	1,18*10 <sup>8</sup>	9,72*10 <sup>7</sup>	4,75*10 <sup>7</sup>	6,80*10 <sup>7</sup>	5,68*10 <sup>7</sup>	7,75 ± 0,18	0,014
0,6 g B-SF 43	0	8,73*10 <sup>6</sup>	1,50*10 <sup>7</sup>	2,38*10 <sup>7</sup>	1,89*10 <sup>7</sup>	2,12*10 <sup>7</sup>	7,33 ± 0,19	0,014
	3	1,33*10 <sup>7</sup>	2,86*10 <sup>7</sup>	1,88*10 <sup>7</sup>	2,32*10 <sup>7</sup>	2,08*10 <sup>7</sup>	7,32 ± 0,14	0,008
	5	3,73*10 <sup>7</sup>	2,98*10 <sup>7</sup>	4,52*10 <sup>7</sup>	3,67*10 <sup>7</sup>	4,07*10 <sup>7</sup>	7,61 ± 0,07	0,001
	7	4,10*10 <sup>7</sup>	5,79*10 <sup>7</sup>	7,31*10 <sup>7</sup>	6,50*10 <sup>7</sup>	6,89*10 <sup>7</sup>	7,84 ± 0,11	0,003
	10	1,34*10 <sup>8</sup>	9,50*10 <sup>7</sup>	1,84*10 <sup>8</sup>	1,32*10 <sup>8</sup>	1,56*10 <sup>8</sup>	8,19 ± 0,12	0,005
0,8 g B-SF 43	0	1,08*10 <sup>7</sup>	2,12*10 <sup>7</sup>	1,94*10 <sup>7</sup>	2,03*10 <sup>7</sup>	1,98*10 <sup>7</sup>	7,30 ± 0,14	0,005
	3	2,09*10 <sup>7</sup>	2,32*10 <sup>7</sup>	2,90*10 <sup>7</sup>	2,59*10 <sup>7</sup>	2,74*10 <sup>7</sup>	7,44 ± 0,06	0,001
	5	4,00*10 <sup>7</sup>	4,22*10 <sup>7</sup>	5,66*10 <sup>7</sup>	4,89*10 <sup>7</sup>	5,26*10 <sup>7</sup>	7,72 ± 0,07	0,001
	7	6,79*10 <sup>7</sup>	9,71*10 <sup>7</sup>	4,99*10 <sup>7</sup>	6,96*10 <sup>7</sup>	5,90*10 <sup>7</sup>	7,77 ± 0,12	0,005
	10	1,79*10 <sup>8</sup>	1,54*10 <sup>8</sup>	2,45*10 <sup>8</sup>	1,94*10 <sup>8</sup>	2,18*10 <sup>8</sup>	8,34 ± 0,08	0,002

VVS 3: Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	3,80*10 <sup>5</sup>	4,98*10 <sup>5</sup>	6,13*10 <sup>5</sup>	1,94*10 <sup>5</sup>	4,21*10 <sup>5</sup>	5,59 ± 0,22	
	3	1,14*10 <sup>6</sup>	9,95*10 <sup>5</sup>	1,93*10 <sup>6</sup>	1,58*10 <sup>6</sup>	1,41*10 <sup>6</sup>	6,13 ± 0,13	
	5	4,70*10 <sup>6</sup>	1,72*10 <sup>6</sup>	2,92*10 <sup>6</sup>	1,84*10 <sup>6</sup>	2,80*10 <sup>6</sup>	6,41 ± 0,20	
	7	9,46*10 <sup>6</sup>	7,53*10 <sup>6</sup>	7,74*10 <sup>6</sup>	9,96*10 <sup>6</sup>	8,67*10 <sup>6</sup>	6,93 ± 0,06	
	10	2,65*10 <sup>7</sup>	1,50*10 <sup>7</sup>	9,61*10 <sup>6</sup>	1,85*10 <sup>7</sup>	1,74*10 <sup>7</sup>	7,21 ± 0,18	
0,2 g B-LC 20	0	1,47*10 <sup>7</sup>	1,19*10 <sup>7</sup>	1,99*10 <sup>7</sup>	1,54*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	7,18 ± 0,09	0,003
	3	4,70*10 <sup>7</sup>	3,00*10 <sup>7</sup>	2,38*10 <sup>7</sup>	2,67*10 <sup>7</sup>	3,19*10 <sup>7</sup>	7,49 ± 0,13	0,011
	5	4,70*10 <sup>7</sup>	5,66*10 <sup>7</sup>	7,52*10 <sup>7</sup>	6,52*10 <sup>7</sup>	6,10*10 <sup>7</sup>	7,78 ± 0,09	0,003
	7	5,65*10 <sup>7</sup>	9,27*10 <sup>7</sup>	7,92*10 <sup>7</sup>	8,57*10 <sup>7</sup>	7,86*10 <sup>7</sup>	7,89 ± 0,09	0,003
	10	7,31*10 <sup>7</sup>	9,92*10 <sup>7</sup>	6,20*10 <sup>7</sup>	7,84*10 <sup>7</sup>	7,82*10 <sup>7</sup>	7,89 ± 0,08	0,005
0,4 g B-LC 20	0	9,26*10 <sup>6</sup>	1,19*10 <sup>7</sup>	1,27*10 <sup>7</sup>	1,23*10 <sup>7</sup>	1,15*10 <sup>7</sup>	7,06 ± 0,06	0,001
	3	4,65*10 <sup>7</sup>	1,72*10 <sup>7</sup>	3,87*10 <sup>7</sup>	2,58*10 <sup>7</sup>	3,21*10 <sup>7</sup>	7,48 ± 0,19	0,018
	5	4,65*10 <sup>7</sup>	3,77*10 <sup>7</sup>	6,14*10 <sup>7</sup>	4,81*10 <sup>7</sup>	4,84*10 <sup>7</sup>	7,68 ± 0,09	0,002
	7	9,97*10 <sup>7</sup>	1,18*10 <sup>8</sup>	7,52*10 <sup>7</sup>	9,43*10 <sup>7</sup>	9,69*10 <sup>7</sup>	7,98 ± 0,08	0,002
	10	1,04*10 <sup>8</sup>	1,99*10 <sup>8</sup>	1,02*10 <sup>8</sup>	1,42*10 <sup>8</sup>	1,37*10 <sup>8</sup>	8,12 ± 0,14	0,015
0,6 g B-LC 20	0	3,15*10 <sup>7</sup>	3,65*10 <sup>7</sup>	2,38*10 <sup>7</sup>	2,95*10 <sup>7</sup>	3,03*10 <sup>7</sup>	7,48 ± 0,08	0,001
	3	9,06*10 <sup>7</sup>	7,90*10 <sup>7</sup>	1,23*10 <sup>8</sup>	9,85*10 <sup>7</sup>	9,77*10 <sup>7</sup>	7,98 ± 0,08	0,002
	5	3,15*10 <sup>7</sup>	9,25*10 <sup>7</sup>	5,85*10 <sup>7</sup>	7,36*10 <sup>7</sup>	6,40*10 <sup>7</sup>	7,77 ± 0,20	0,020
	7	9,96*10 <sup>7</sup>	7,92*10 <sup>7</sup>	1,22*10 <sup>8</sup>	9,85*10 <sup>7</sup>	9,99*10 <sup>7</sup>	7,99 ± 0,08	0,002
	10	1,09*10 <sup>8</sup>	1,22*10 <sup>8</sup>	9,72*10 <sup>7</sup>	1,09*10 <sup>8</sup>	1,09*10 <sup>8</sup>	8,04 ± 0,04	0,000
0,8 g B-LC 20	0	2,85*10 <sup>7</sup>	3,77*10 <sup>7</sup>	2,38*10 <sup>7</sup>	3,00*10 <sup>7</sup>	3,00*10 <sup>7</sup>	7,47 ± 0,08	0,002
	3	1,11*10 <sup>8</sup>	5,96*10 <sup>7</sup>	1,94*10 <sup>8</sup>	1,07*10 <sup>8</sup>	1,18*10 <sup>8</sup>	8,03 ± 0,21	0,024
	5	2,85*10 <sup>7</sup>	7,70*10 <sup>7</sup>	9,28*10 <sup>7</sup>	8,45*10 <sup>7</sup>	7,07*10 <sup>7</sup>	7,81 ± 0,24	0,020
	7	1,21*10 <sup>8</sup>	9,27*10 <sup>7</sup>	1,50*10 <sup>8</sup>	1,18*10 <sup>8</sup>	1,20*10 <sup>8</sup>	8,07 ± 0,09	0,002
	10	1,88*10 <sup>8</sup>	1,19*10 <sup>8</sup>	2,38*10 <sup>8</sup>	1,69*10 <sup>8</sup>	1,78*10 <sup>8</sup>	8,24 ± 0,12	0,008
0,2 g B-SF 43	0	2,90*10 <sup>6</sup>	2,38*10 <sup>6</sup>	1,85*10 <sup>6</sup>	2,10*10 <sup>6</sup>	2,31*10 <sup>6</sup>	6,36 ± 0,08	0,005
	3	5,82*10 <sup>6</sup>	4,87*10 <sup>6</sup>	7,51*10 <sup>6</sup>	6,05*10 <sup>6</sup>	6,06*10 <sup>6</sup>	6,78 ± 0,08	0,001
	5	1,45*10 <sup>7</sup>	1,22*10 <sup>7</sup>	1,94*10 <sup>7</sup>	1,54*10 <sup>7</sup>	1,54*10 <sup>7</sup>	7,18 ± 0,08	0,004
	7	2,84*10 <sup>7</sup>	1,51*10 <sup>7</sup>	1,89*10 <sup>7</sup>	1,69*10 <sup>7</sup>	1,98*10 <sup>7</sup>	7,28 ± 0,12	0,027
	10	9,17*10 <sup>7</sup>	4,72*10 <sup>7</sup>	5,46*10 <sup>7</sup>	5,08*10 <sup>7</sup>	6,11*10 <sup>7</sup>	7,77 ± 0,13	0,011
0,4 g B-SF 43	0	6,81*10 <sup>6</sup>	4,86*10 <sup>6</sup>	2,98*10 <sup>6</sup>	3,80*10 <sup>6</sup>	4,61*10 <sup>6</sup>	6,64 ± 0,15	0,016
	3	1,18*10 <sup>7</sup>	7,31*10 <sup>6</sup>	9,72*10 <sup>6</sup>	8,43*10 <sup>6</sup>	9,32*10 <sup>6</sup>	6,96 ± 0,09	0,004
	5	2,15*10 <sup>7</sup>	1,21*10 <sup>7</sup>	1,56*10 <sup>7</sup>	1,37*10 <sup>7</sup>	1,57*10 <sup>7</sup>	7,19 ± 0,11	0,003
	7	3,49*10 <sup>7</sup>	1,89*10 <sup>7</sup>	4,53*10 <sup>7</sup>	2,92*10 <sup>7</sup>	3,21*10 <sup>7</sup>	7,49 ± 0,16	0,024
	10	9,67*10 <sup>7</sup>	1,22*10 <sup>8</sup>	7,70*10 <sup>7</sup>	9,70*10 <sup>7</sup>	9,82*10 <sup>7</sup>	7,99 ± 0,08	0,003
0,6 g B-SF 43	0	1,42*10 <sup>7</sup>	1,20*10 <sup>7</sup>	1,94*10 <sup>7</sup>	1,52*10 <sup>7</sup>	1,52*10 <sup>7</sup>	7,17 ± 0,09	0,002
	3	1,94*10 <sup>7</sup>	1,51*10 <sup>7</sup>	2,44*10 <sup>7</sup>	1,92*10 <sup>7</sup>	1,95*10 <sup>7</sup>	7,28 ± 0,09	0,002
	5	3,30*10 <sup>7</sup>	2,39*10 <sup>7</sup>	5,98*10 <sup>7</sup>	3,78*10 <sup>7</sup>	3,86*10 <sup>7</sup>	7,56 ± 0,17	0,018
	7	5,67*10 <sup>7</sup>	3,74*10 <sup>7</sup>	9,63*10 <sup>7</sup>	6,00*10 <sup>7</sup>	6,26*10 <sup>7</sup>	7,77 ± 0,17	0,022
	10	1,16*10 <sup>8</sup>	7,37*10 <sup>7</sup>	1,04*10 <sup>8</sup>	8,76*10 <sup>7</sup>	9,53*10 <sup>7</sup>	7,97 ± 0,09	0,003
0,8 g B-SF 43	0	2,60*10 <sup>7</sup>	3,87*10 <sup>7</sup>	2,87*10 <sup>7</sup>	3,33*10 <sup>7</sup>	3,17*10 <sup>7</sup>	7,50 ± 0,08	0,002
	3	3,65*10 <sup>7</sup>	7,53*10 <sup>7</sup>	5,98*10 <sup>7</sup>	6,71*10 <sup>7</sup>	5,97*10 <sup>7</sup>	7,76 ± 0,14	0,006
	5	4,91*10 <sup>7</sup>	9,95*10 <sup>7</sup>	1,00*10 <sup>8</sup>	9,99*10 <sup>7</sup>	8,72*10 <sup>7</sup>	7,92 ± 0,15	0,008
	7	9,63*10 <sup>7</sup>	1,94*10 <sup>8</sup>	1,22*10 <sup>8</sup>	1,54*10 <sup>8</sup>	1,42*10 <sup>8</sup>	8,14 ± 0,13	0,008
	10	1,71*10 <sup>8</sup>	1,22*10 <sup>8</sup>	2,38*10 <sup>8</sup>	1,71*10 <sup>8</sup>	1,75*10 <sup>8</sup>	8,23 ± 0,12	0,008

VVS 3: Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i> bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	5,20*10 <sup>3</sup>	5,20*10 <sup>3</sup>	3,77*10 <sup>3</sup>	4,43*10 <sup>3</sup>	4,61*10 <sup>3</sup>	3,66 ± 0,07	
	3	1,35*10 <sup>4</sup>	8,68*10 <sup>3</sup>	7,53*10 <sup>3</sup>	8,09*10 <sup>3</sup>	9,18*10 <sup>3</sup>	3,96 ± 0,11	
	5	2,87*10 <sup>4</sup>	2,87*10 <sup>4</sup>	5,83*10 <sup>4</sup>	4,09*10 <sup>3</sup>	3,74*10 <sup>4</sup>	4,57 ± 0,15	
	7	4,77*10 <sup>4</sup>	5,91*10 <sup>4</sup>	9,47*10 <sup>4</sup>	7,48*10 <sup>4</sup>	6,69*10 <sup>4</sup>	4,83 ± 0,13	
	10	1,34*10 <sup>5</sup>	2,84*10 <sup>5</sup>	2,44*10 <sup>5</sup>	2,63*10 <sup>5</sup>	2,22*10 <sup>5</sup>	5,35 ± 0,15	
0,2 g B-LC 20	0	2,35*10 <sup>3</sup>	2,93*10 <sup>3</sup>	3,70*10 <sup>3</sup>	3,29*10 <sup>3</sup>	3,02*10 <sup>3</sup>	3,48 ± 0,08	0,082
	3	2,68*10 <sup>3</sup>	4,87*10 <sup>3</sup>	2,94*10 <sup>3</sup>	3,78*10 <sup>3</sup>	3,47*10 <sup>3</sup>	3,54 ± 0,12	0,037
	5	4,77*10 <sup>3</sup>	6,14*10 <sup>3</sup>	3,66*10 <sup>3</sup>	4,74*10 <sup>3</sup>	4,75*10 <sup>3</sup>	3,68 ± 0,09	0,019
	7	5,96*10 <sup>3</sup>	7,37*10 <sup>3</sup>	4,75*10 <sup>3</sup>	5,92*10 <sup>3</sup>	5,93*10 <sup>3</sup>	3,77 ± 0,08	0,009
	10	7,12*10 <sup>3</sup>	8,49*10 <sup>3</sup>	6,12*10 <sup>3</sup>	7,21*10 <sup>3</sup>	7,19*10 <sup>3</sup>	3,86 ± 0,06	0,007
0,4 g B-LC 20	0	2,45*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	2,92*10 <sup>3</sup>	2,38*10 <sup>3</sup>	2,40*10 <sup>3</sup>	3,38 ± 0,07	0,024
	3	2,44*10 <sup>3</sup>	2,39*10 <sup>3</sup>	1,89*10 <sup>3</sup>	2,13*10 <sup>3</sup>	2,20*10 <sup>3</sup>	3,34 ± 0,05	0,011
	5	4,35*10 <sup>3</sup>	3,77*10 <sup>3</sup>	5,71*10 <sup>3</sup>	4,64*10 <sup>3</sup>	4,57*10 <sup>3</sup>	3,66 ± 0,07	0,014
	7	4,82*10 <sup>3</sup>	3,61*10 <sup>3</sup>	6,14*10 <sup>3</sup>	4,71*10 <sup>3</sup>	4,73*10 <sup>3</sup>	3,68 ± 0,09	0,007
	10	7,08*10 <sup>3</sup>	4,75*10 <sup>3</sup>	5,97*10 <sup>3</sup>	5,32*10 <sup>3</sup>	5,72*10 <sup>3</sup>	3,76 ± 0,07	0,007
0,6 g B-LC 20	0	1,63*10 <sup>3</sup>	1,43*10 <sup>3</sup>	2,32*10 <sup>3</sup>	1,82*10 <sup>3</sup>	1,77*10 <sup>3</sup>	3,25 ± 0,09	0,013
	3	2,33*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	2,92*10 <sup>3</sup>	2,38*10 <sup>3</sup>	2,37*10 <sup>3</sup>	3,37 ± 0,07	0,016
	5	3,37*10 <sup>3</sup>	2,38*10 <sup>3</sup>	4,87*10 <sup>3</sup>	3,41*10 <sup>3</sup>	3,40*10 <sup>3</sup>	3,53 ± 0,13	0,012
	7	5,84*10 <sup>3</sup>	3,70*10 <sup>3</sup>	7,51*10 <sup>3</sup>	5,27*10 <sup>3</sup>	5,40*10 <sup>3</sup>	3,73 ± 0,13	0,007
	10	7,12*10 <sup>3</sup>	4,43*10 <sup>3</sup>	7,51*10 <sup>3</sup>	5,77*10 <sup>3</sup>	6,08*10 <sup>3</sup>	3,78 ± 0,10	0,007
0,8 g B-LC 20	0	9,75*10 <sup>2</sup>	1,02*10 <sup>3</sup>	1,58*10 <sup>3</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	1,19*10 <sup>3</sup>	3,07 ± 0,10	0,006
	3	1,04*10 <sup>3</sup>	1,04*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	1,42*10 <sup>3</sup>	1,32*10 <sup>3</sup>	3,12 ± 0,13	0,013
	5	1,87*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>3</sup>	2,44*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	1,92*10 <sup>3</sup>	3,28 ± 0,08	0,012
	7	1,54*10 <sup>3</sup>	1,26*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	1,56*10 <sup>3</sup>	1,55*10 <sup>3</sup>	3,19 ± 0,08	0,007
	10	1,57*10 <sup>3</sup>	1,31*10 <sup>3</sup>	2,04*10 <sup>3</sup>	1,64*10 <sup>3</sup>	1,62*10 <sup>3</sup>	3,21 ± 0,08	0,006
0,2 g B-SF 43	0	3,16*10 <sup>3</sup>	2,32*10 <sup>3</sup>	4,63*10 <sup>3</sup>	3,28*10 <sup>3</sup>	3,25*10 <sup>3</sup>	3,51 ± 0,12	0,203
	3	5,80*10 <sup>3</sup>	3,77*10 <sup>3</sup>	7,53*10 <sup>3</sup>	5,33*10 <sup>3</sup>	5,44*10 <sup>3</sup>	3,74 ± 0,12	0,099
	5	3,16*10 <sup>3</sup>	3,87*10 <sup>3</sup>	4,65*10 <sup>3</sup>	4,24*10 <sup>3</sup>	3,94*10 <sup>3</sup>	3,60 ± 0,07	0,014
	7	3,75*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	6,28*10 <sup>3</sup>	4,34*10 <sup>3</sup>	4,18*10 <sup>3</sup>	3,62 ± 0,13	0,007
	10	9,71*10 <sup>3</sup>	5,83*10 <sup>3</sup>	1,19*10 <sup>4</sup>	8,34*10 <sup>3</sup>	8,66*10 <sup>3</sup>	3,94 ± 0,13	0,007
0,4 g B-SF 43	0	2,36*10 <sup>3</sup>	1,89*10 <sup>3</sup>	3,07*10 <sup>3</sup>	2,41*10 <sup>3</sup>	2,39*10 <sup>3</sup>	3,38 ± 0,09	0,030
	3	3,65*10 <sup>3</sup>	2,33*10 <sup>3</sup>	3,59*10 <sup>3</sup>	2,89*10 <sup>3</sup>	3,07*10 <sup>3</sup>	3,49 ± 0,09	0,015
	5	2,25*10 <sup>3</sup>	2,94*10 <sup>3</sup>	1,89*10 <sup>3</sup>	2,36*10 <sup>3</sup>	2,33*10 <sup>3</sup>	3,37 ± 0,08	0,014
	7	2,90*10 <sup>3</sup>	2,38*10 <sup>3</sup>	3,77*10 <sup>3</sup>	2,99*10 <sup>3</sup>	2,97*10 <sup>3</sup>	3,47 ± 0,08	0,007
	10	3,10*10 <sup>3</sup>	3,07*10 <sup>3</sup>	4,04*10 <sup>3</sup>	3,52*10 <sup>3</sup>	3,41*10 <sup>3</sup>	3,53 ± 0,06	0,006
0,6 g B-SF 43	0	2,24*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	3,07*10 <sup>3</sup>	2,44*10 <sup>3</sup>	2,38*10 <sup>3</sup>	3,38 ± 0,08	0,030
	3	2,98*10 <sup>3</sup>	2,44*10 <sup>3</sup>	4,42*10 <sup>3</sup>	3,29*10 <sup>3</sup>	3,21*10 <sup>3</sup>	3,51 ± 0,11	0,030
	5	2,16*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	2,94*10 <sup>3</sup>	2,39*10 <sup>3</sup>	2,33*10 <sup>3</sup>	3,37 ± 0,08	0,012
	7	2,47*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	2,86*10 <sup>3</sup>	2,93*10 <sup>3</sup>	2,81*10 <sup>3</sup>	3,45 ± 0,04	0,007
	10	2,24*10 <sup>3</sup>	3,77*10 <sup>3</sup>	1,89*10 <sup>3</sup>	2,67*10 <sup>3</sup>	2,55*10 <sup>3</sup>	3,41 ± 0,13	0,006
0,8 g B-SF 43	0	9,65*10 <sup>2</sup>	7,34*10 <sup>2</sup>	1,17*10 <sup>3</sup>	9,26*10 <sup>2</sup>	9,36*10 <sup>2</sup>	2,97 ± 0,08	0,003
	3	9,95*10 <sup>2</sup>	8,13*10 <sup>2</sup>	1,19*10 <sup>3</sup>	9,84*10 <sup>2</sup>	9,86*10 <sup>2</sup>	2,99 ± 0,07	0,009
	5	1,98*10 <sup>3</sup>	7,51*10 <sup>2</sup>	1,58*10 <sup>3</sup>	1,09*10 <sup>3</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	3,10 ± 0,19	0,012
	7	4,71*10 <sup>3</sup>	2,32*10 <sup>3</sup>	5,83*10 <sup>3</sup>	3,68*10 <sup>3</sup>	3,91*10 <sup>3</sup>	3,59 ± 0,17	0,007
	10	3,52*10 <sup>3</sup>	2,92*10 <sup>3</sup>	4,62*10 <sup>3</sup>	3,67*10 <sup>3</sup>	3,63*10 <sup>3</sup>	3,56 ± 0,08	0,006

VVS 3: Nachweis von <i>Pseudomonas</i> ssp. bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	2,18*10 <sup>4</sup>	2,92*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup>	2,18*10 <sup>4</sup>	2,26*10 <sup>4</sup>	4,35 ± 0,08	
	3	4,70*10 <sup>4</sup>	3,70*10 <sup>4</sup>	5,81*10 <sup>4</sup>	4,70*10 <sup>4</sup>	4,67*10 <sup>4</sup>	4,67 ± 0,08	
	5	7,11*10 <sup>4</sup>	6,12*10 <sup>4</sup>	9,28*10 <sup>4</sup>	7,11*10 <sup>4</sup>	7,32*10 <sup>4</sup>	4,86 ± 0,08	
	7	2,28*10 <sup>5</sup>	1,51*10 <sup>5</sup>	3,00*10 <sup>5</sup>	8,59*10 <sup>4</sup>	1,72*10 <sup>5</sup>	5,24 ± 0,24	
	10	7,16*10 <sup>5</sup>	5,97*10 <sup>5</sup>	9,48*10 <sup>5</sup>	9,44*10 <sup>5</sup>	7,86*10 <sup>5</sup>	5,90 ± 0,10	
0,2 g B-LC 20	0	1,75*10 <sup>4</sup>	1,47*10 <sup>4</sup>	2,22*10 <sup>4</sup>	1,81*10 <sup>4</sup>	1,79*10 <sup>4</sup>	4,25 ± 0,07	0,283
	3	1,33*10 <sup>4</sup>	1,19*10 <sup>4</sup>	1,94*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,47*10 <sup>4</sup>	4,17 ± 0,09	0,001
	5	1,75*10 <sup>4</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>	2,38*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	1,86*10 <sup>4</sup>	4,27 ± 0,08	0,001
	7	2,37*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup>	2,56*10 <sup>4</sup>	2,20*10 <sup>4</sup>	2,24*10 <sup>4</sup>	4,35 ± 0,06	0,034
	10	2,59*10 <sup>4</sup>	2,39*10 <sup>4</sup>	3,68*10 <sup>4</sup>	2,96*10 <sup>4</sup>	2,86*10 <sup>4</sup>	4,46 ± 0,08	0,003
0,4 g B-LC 20	0	1,06*10 <sup>4</sup>	9,72*10 <sup>3</sup>	1,47*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	4,06 ± 0,08	0,039
	3	7,99*10 <sup>3</sup>	7,72*10 <sup>3</sup>	1,17*10 <sup>4</sup>	9,50*10 <sup>3</sup>	9,10*10 <sup>3</sup>	3,96 ± 0,08	0,002
	5	2,09*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	3,70*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	2,29*10 <sup>4</sup>	4,36 ± 0,16	0,000
	7	2,01*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup>	3,08*10 <sup>4</sup>	2,41*10 <sup>4</sup>	2,30*10 <sup>4</sup>	4,36 ± 0,10	0,034
	10	2,90*10 <sup>4</sup>	2,44*10 <sup>4</sup>	3,77*10 <sup>4</sup>	3,04*10 <sup>4</sup>	3,00*10 <sup>4</sup>	4,48 ± 0,08	0,003
0,6 g B-LC 20	0	9,50*10 <sup>3</sup>	7,19*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,03*10 <sup>4</sup>	4,01 ± 0,14	0,049
	3	8,35*10 <sup>3</sup>	6,42*10 <sup>3</sup>	1,31*10 <sup>4</sup>	9,17*10 <sup>3</sup>	8,96*10 <sup>3</sup>	3,95 ± 0,13	0,001
	5	1,05*10 <sup>4</sup>	8,11*10 <sup>3</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	9,96*10 <sup>3</sup>	1,01*10 <sup>4</sup>	4,00 ± 0,07	0,002
	7	1,46*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	2,44*10 <sup>4</sup>	1,73*10 <sup>4</sup>	1,66*10 <sup>4</sup>	4,22 ± 0,13	0,030
	10	1,58*10 <sup>4</sup>	1,26*10 <sup>4</sup>	1,98*10 <sup>4</sup>	1,58*10 <sup>4</sup>	1,58*10 <sup>4</sup>	4,20 ± 0,08	0,003
0,8 g B-LC 20	0	5,30*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>3</sup>	9,05*10 <sup>3</sup>	6,72*10 <sup>3</sup>	6,34*10 <sup>3</sup>	3,80 ± 0,12	0,012
	3	7,91*10 <sup>3</sup>	5,10*10 <sup>3</sup>	1,19*10 <sup>4</sup>	7,80*10 <sup>3</sup>	7,83*10 <sup>3</sup>	3,89 ± 0,15	0,001
	5	1,01*10 <sup>4</sup>	7,53*10 <sup>3</sup>	1,29*10 <sup>4</sup>	9,84*10 <sup>3</sup>	9,90*10 <sup>3</sup>	4,00 ± 0,10	0,001
	7	1,56*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	2,38*10 <sup>4</sup>	1,68*10 <sup>4</sup>	1,65*10 <sup>4</sup>	4,22 ± 0,12	0,030
	10	9,18*10 <sup>3</sup>	7,37*10 <sup>3</sup>	1,47*10 <sup>4</sup>	1,04*10 <sup>4</sup>	1,01*10 <sup>4</sup>	4,00 ± 0,13	0,003
0,2 g B-SF 43	0	1,86*10 <sup>4</sup>	1,49*10 <sup>4</sup>	2,38*10 <sup>4</sup>	1,88*10 <sup>4</sup>	1,88*10 <sup>4</sup>	4,27 ± 0,08	0,398
	3	1,63*10 <sup>4</sup>	1,53*10 <sup>4</sup>	2,92*10 <sup>4</sup>	2,11*10 <sup>4</sup>	1,98*10 <sup>4</sup>	4,30 ± 0,13	0,001
	5	1,86*10 <sup>4</sup>	1,83*10 <sup>4</sup>	3,04*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	2,22*10 <sup>4</sup>	4,35 ± 0,10	0,001
	7	3,74*10 <sup>4</sup>	2,97*10 <sup>4</sup>	4,71*10 <sup>4</sup>	3,74*10 <sup>4</sup>	3,74*10 <sup>4</sup>	4,57 ± 0,08	0,040
	10	2,84*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	3,74*10 <sup>4</sup>	2,97*10 <sup>4</sup>	2,94*10 <sup>4</sup>	4,47 ± 0,08	0,003
0,4 g B-SF 43	0	1,61*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	2,30*10 <sup>4</sup>	1,63*10 <sup>4</sup>	1,63*10 <sup>4</sup>	4,21 ± 0,12	0,261
	3	1,53*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,83*10 <sup>4</sup>	1,67*10 <sup>4</sup>	1,63*10 <sup>4</sup>	4,21 ± 0,04	0,004
	5	1,14*10 <sup>4</sup>	1,19*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,34*10 <sup>4</sup>	1,29*10 <sup>4</sup>	4,11 ± 0,06	0,002
	7	1,32*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	4,16 ± 0,03	0,032
	10	1,45*10 <sup>4</sup>	1,34*10 <sup>4</sup>	1,73*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>	4,18 ± 0,05	0,003
0,6 g B-SF 43	0	1,56*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	1,69*10 <sup>4</sup>	1,66*10 <sup>4</sup>	4,22 ± 0,12	0,280
	3	1,25*10 <sup>4</sup>	9,67*10 <sup>3</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,08	0,002
	5	2,17*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	2,65*10 <sup>4</sup>	1,77*10 <sup>4</sup>	1,86*10 <sup>4</sup>	4,27 ± 0,15	0,001
	7	1,31*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,88*10 <sup>4</sup>	1,69*10 <sup>4</sup>	1,59*10 <sup>4</sup>	4,20 ± 0,07	0,032
	10	1,05*10 <sup>4</sup>	1,13*10 <sup>4</sup>	9,67*10 <sup>3</sup>	1,04*10 <sup>4</sup>	1,04*10 <sup>4</sup>	4,02 ± 0,03	0,003
0,8 g B-SF 43	0	1,00*10 <sup>4</sup>	7,53*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	1,06*10 <sup>4</sup>	4,02 ± 0,13	0,049
	3	1,26*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	1,79*10 <sup>4</sup>	1,47*10 <sup>4</sup>	1,42*10 <sup>4</sup>	4,15 ± 0,08	0,002
	5	1,50*10 <sup>4</sup>	1,28*10 <sup>4</sup>	1,98*10 <sup>4</sup>	1,60*10 <sup>4</sup>	1,57*10 <sup>4</sup>	4,20 ± 0,08	0,002
	7	1,58*10 <sup>4</sup>	1,34*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	1,64*10 <sup>4</sup>	1,62*10 <sup>4</sup>	4,21 ± 0,07	0,031
	10	1,83*10 <sup>4</sup>	1,58*10 <sup>4</sup>	2,43*10 <sup>4</sup>	1,96*10 <sup>4</sup>	1,93*10 <sup>4</sup>	4,29 ± 0,08	0,003

VVS 3: Nachweis von <i>Brochotrix thermosphacta</i> bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,33*10 <sup>4</sup>	6,49*10 <sup>3</sup>	1,24*10 <sup>4</sup>	8,98*10 <sup>3</sup>	9,90*10 <sup>3</sup>	4,00 ± 0,14	
	3	2,03*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup>	1,48*10 <sup>4</sup>	1,60*10 <sup>4</sup>	4,20 ± 0,11	
	5	4,25*10 <sup>4</sup>	4,25*10 <sup>4</sup>	3,66*10 <sup>4</sup>	3,95*10 <sup>4</sup>	4,02*10 <sup>4</sup>	4,60 ± 0,03	
	7	7,71*10 <sup>4</sup>	9,58*10 <sup>4</sup>	9,63*10 <sup>4</sup>	9,60*10 <sup>4</sup>	9,09*10 <sup>4</sup>	4,96 ± 0,05	
	10	1,84*10 <sup>6</sup>	2,36*10 <sup>6</sup>	7,83*10 <sup>5</sup>	1,36*10 <sup>6</sup>	1,47*10 <sup>6</sup>	6,17 ± 0,21	
0,2 g B-LC 20	0	1,33*10 <sup>4</sup>	1,24*10 <sup>4</sup>	1,88*10 <sup>4</sup>	1,53*10 <sup>4</sup>	1,48*10 <sup>4</sup>	4,17 ± 0,08	0,057
	3	9,72*10 <sup>3</sup>	6,77*10 <sup>3</sup>	2,56*10 <sup>4</sup>	1,32*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	4,09 ± 0,24	0,526
	5	4,80*10 <sup>4</sup>	2,99*10 <sup>4</sup>	3,74*10 <sup>4</sup>	3,35*10 <sup>4</sup>	3,66*10 <sup>4</sup>	4,56 ± 0,09	0,490
	7	4,73*10 <sup>4</sup>	3,00*10 <sup>4</sup>	5,83*10 <sup>4</sup>	4,18*10 <sup>4</sup>	4,31*10 <sup>4</sup>	4,63 ± 0,12	0,010
	10	4,90*10 <sup>4</sup>	3,21*10 <sup>4</sup>	6,29*10 <sup>4</sup>	4,50*10 <sup>4</sup>	4,59*10 <sup>4</sup>	4,66 ± 0,12	0,021
0,4 g B-LC 20	0	1,13*10 <sup>4</sup>	9,70*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,08	0,002
	3	7,90*10 <sup>3</sup>	5,87*10 <sup>3</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	8,47*10 <sup>3</sup>	8,32*10 <sup>3</sup>	3,92 ± 0,13	0,268
	5	1,43*10 <sup>4</sup>	1,25*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>	4,18 ± 0,07	0,543
	7	1,20*10 <sup>4</sup>	9,70*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,08	0,002
	10	1,83*10 <sup>4</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	2,38*10 <sup>4</sup>	1,92*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	4,28 ± 0,08	0,001
0,6 g B-LC 20	0	1,41*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,49*10 <sup>4</sup>	4,17 ± 0,08	0,038
	3	7,97*10 <sup>3</sup>	7,53*10 <sup>3</sup>	1,58*10 <sup>4</sup>	1,09*10 <sup>4</sup>	1,01*10 <sup>4</sup>	4,00 ± 0,15	0,073
	5	1,09*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,37*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	4,11 ± 0,06	0,001
	7	1,11*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	4,07 ± 0,02	0,000
	10	9,83*10 <sup>3</sup>	7,54*10 <sup>3</sup>	9,70*10 <sup>3</sup>	8,55*10 <sup>3</sup>	8,86*10 <sup>3</sup>	3,95 ± 0,05	0,018
0,8 g B-LC 20	0	1,05*10 <sup>4</sup>	9,72*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	4,07 ± 0,09	0,335
	3	7,80*10 <sup>3</sup>	7,37*10 <sup>3</sup>	5,97*10 <sup>3</sup>	6,63*10 <sup>3</sup>	6,91*10 <sup>3</sup>	3,84 ± 0,05	0,019
	5	1,17*10 <sup>4</sup>	9,47*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,09	0,002
	7	1,47*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,94*10 <sup>4</sup>	1,53*10 <sup>4</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>	4,18 ± 0,09	0,001
	10	1,18*10 <sup>4</sup>	9,48*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,09	0,019
0,2 g B-SF 43	0	5,70*10 <sup>3</sup>	7,32*10 <sup>3</sup>	4,62*10 <sup>3</sup>	5,82*10 <sup>3</sup>	5,79*10 <sup>3</sup>	3,76 ± 0,08	0,120
	3	9,47*10 <sup>3</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	7,53*10 <sup>3</sup>	9,60*10 <sup>3</sup>	9,57*10 <sup>3</sup>	3,98 ± 0,09	0,098
	5	5,70*10 <sup>4</sup>	7,34*10 <sup>4</sup>	3,86*10 <sup>4</sup>	5,32*10 <sup>4</sup>	5,42*10 <sup>4</sup>	4,73 ± 0,11	0,082
	7	8,44*10 <sup>4</sup>	9,48*10 <sup>4</sup>	6,28*10 <sup>4</sup>	7,71*10 <sup>4</sup>	7,89*10 <sup>4</sup>	4,90 ± 0,07	0,296
	10	5,70*10 <sup>4</sup>	7,74*10 <sup>4</sup>	4,87*10 <sup>4</sup>	6,14*10 <sup>4</sup>	6,03*10 <sup>4</sup>	4,78 ± 0,08	0,019
0,4 g B-SF 43	0	1,16*10 <sup>4</sup>	9,63*10 <sup>3</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,08	0,211
	3	1,89*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	2,67*10 <sup>4</sup>	1,78*10 <sup>4</sup>	1,81*10 <sup>4</sup>	4,26 ± 0,14	0,314
	5	2,27*10 <sup>4</sup>	1,56*10 <sup>4</sup>	3,66*10 <sup>4</sup>	2,39*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	4,37 ± 0,15	0,072
	7	3,07*10 <sup>4</sup>	1,88*10 <sup>4</sup>	4,83*10 <sup>4</sup>	3,01*10 <sup>4</sup>	3,03*10 <sup>4</sup>	4,48 ± 0,17	0,004
	10	2,26*10 <sup>4</sup>	1,92*10 <sup>4</sup>	3,21*10 <sup>4</sup>	2,48*10 <sup>4</sup>	2,43*10 <sup>4</sup>	4,38 ± 0,09	0,019
0,6 g B-SF 43	0	9,12*10 <sup>3</sup>	7,31*10 <sup>3</sup>	1,28*10 <sup>4</sup>	9,68*10 <sup>3</sup>	9,54*10 <sup>3</sup>	3,98 ± 0,10	0,678
	3	1,54*10 <sup>4</sup>	9,95*10 <sup>3</sup>	2,91*10 <sup>4</sup>	1,70*10 <sup>4</sup>	1,66*10 <sup>4</sup>	4,22 ± 0,19	0,680
	5	2,08*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	3,49*10 <sup>4</sup>	2,31*10 <sup>4</sup>	2,25*10 <sup>4</sup>	4,35 ± 0,15	0,056
	7	2,18*10 <sup>4</sup>	1,84*10 <sup>4</sup>	3,22*10 <sup>4</sup>	2,43*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	4,37 ± 0,10	0,001
	10	1,69*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	1,84*10 <sup>4</sup>	4,27 ± 0,08	0,019
0,8 g B-SF 43	0	9,82*10 <sup>3</sup>	5,81*10 <sup>3</sup>	2,32*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	1,11*10 <sup>4</sup>	4,05 ± 0,25	0,505
	3	1,02*10 <sup>4</sup>	7,30*10 <sup>3</sup>	1,84*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	1,12*10 <sup>4</sup>	4,05 ± 0,16	0,112
	5	9,91*10 <sup>3</sup>	5,83*10 <sup>3</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>	9,37*10 <sup>3</sup>	9,50*10 <sup>3</sup>	3,98 ± 0,17	0,003
	7	1,31*10 <sup>4</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	2,39*10 <sup>4</sup>	1,71*10 <sup>4</sup>	1,60*10 <sup>4</sup>	4,20 ± 0,12	0,000
	10	8,96*10 <sup>3</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	1,84*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	1,32*10 <sup>4</sup>	4,12 ± 0,08	0,019

Tabelle 15: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des HVS 1

HVS 1: Nachweis von Milchsäurebakterien									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	5,00*10 <sup>2</sup>	4,80*10 <sup>2</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>2</sup>	3,43*10 <sup>3</sup>	1,32*10 <sup>3</sup>	3,12 ± 0,50	
	3	1,82*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	1,94*10 <sup>4</sup>	7,63*10 <sup>3</sup>	3,88 ± 0,70	
	5	1,27*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>	4,27*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	1,62*10 <sup>4</sup>	1,25*10 <sup>4</sup>	4,10 ± 0,87	
	7	8,18*10 <sup>3</sup>	7,27*10 <sup>3</sup>	2,55*10 <sup>5</sup>	8,00*10 <sup>3</sup>	2,01*10 <sup>4</sup>	5,96*10 <sup>4</sup>	4,78 ± 0,66	
	10	6,27*10 <sup>5</sup>	5,73*10 <sup>5</sup>	2,09*10 <sup>5</sup>	1,09*10 <sup>4</sup>	3,19*10 <sup>4</sup>	2,90*10 <sup>5</sup>	5,46 ± 0,78	
B-LC 20	0	1,64*10 <sup>7</sup>	8,18*10 <sup>6</sup>	4,91*10 <sup>7</sup>	4,38*10 <sup>7</sup>	6,02*10 <sup>7</sup>	3,55*10 <sup>7</sup>	7,55 ± 0,37	0,023
	3	3,64*10 <sup>7</sup>	1,82*10 <sup>7</sup>	3,45*10 <sup>7</sup>	1,44*10 <sup>6</sup>	8,55*10 <sup>7</sup>	6,36*10 <sup>7</sup>	7,80 ± 0,35	0,050
	5	2,91*10 <sup>7</sup>	3,19*10 <sup>7</sup>	3,82*10 <sup>7</sup>	4,91*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	3,40*10 <sup>7</sup>	7,53 ± 0,13	0,002
	7	1,20*10 <sup>7</sup>	2,20*10 <sup>7</sup>	8,09*10 <sup>7</sup>	4,45*10 <sup>7</sup>	2,44*10 <sup>7</sup>	3,68*10 <sup>7</sup>	7,57 ± 0,32	0,040
	10	2,20*10 <sup>7</sup>	3,50*10 <sup>7</sup>	1,25*10 <sup>8</sup>	3,64*10 <sup>7</sup>	4,00*10 <sup>7</sup>	5,18*10 <sup>7</sup>	7,71 ± 0,28	0,051
B-SF 43	0	6,42*10 <sup>6</sup>	5,15*10 <sup>6</sup>	1,82*10 <sup>6</sup>	4,00*10 <sup>6</sup>	2,36*10 <sup>6</sup>	3,95*10 <sup>6</sup>	6,60 ± 0,23	0,010
	3	8,51*10 <sup>6</sup>	1,23*10 <sup>7</sup>	1,90*10 <sup>7</sup>	6,21*10 <sup>6</sup>	3,64*10 <sup>7</sup>	1,65*10 <sup>7</sup>	7,22 ± 0,30	0,038
	5	2,69*10 <sup>7</sup>	1,70*10 <sup>7</sup>	2,50*10 <sup>7</sup>	9,73*10 <sup>6</sup>	3,00*10 <sup>7</sup>	2,17*10 <sup>7</sup>	7,34 ± 0,20	0,004
	7	2,00*10 <sup>7</sup>	2,39*10 <sup>7</sup>	4,00*10 <sup>7</sup>	6,00*10 <sup>7</sup>	7,36*10 <sup>7</sup>	4,35*10 <sup>7</sup>	7,64 ± 0,25	0,014
	10	5,91*10 <sup>7</sup>	7,27*10 <sup>7</sup>	1,08*10 <sup>8</sup>	3,82*10 <sup>7</sup>	4,09*10 <sup>7</sup>	6,38*10 <sup>7</sup>	7,80 ± 0,19	0,008
HVS 1: Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	3,55*10 <sup>4</sup>	3,41*10 <sup>4</sup>	4,00*10 <sup>4</sup>	5,05*10 <sup>4</sup>	4,30*10 <sup>4</sup>	4,06*10 <sup>4</sup>	4,61 ± 0,07	
	3	1,03*10 <sup>5</sup>	9,82*10 <sup>4</sup>	5,14*10 <sup>5</sup>	4,18*10 <sup>4</sup>	1,79*10 <sup>5</sup>	1,87*10 <sup>5</sup>	5,27 ± 0,40	
	5	1,05*10 <sup>5</sup>	1,32*10 <sup>5</sup>	7,45*10 <sup>5</sup>	3,14*10 <sup>6</sup>	1,23*10 <sup>6</sup>	1,07*10 <sup>6</sup>	6,03 ± 0,64	
	7	2,23*10 <sup>6</sup>	5,09*10 <sup>5</sup>	1,18*10 <sup>6</sup>	1,00*10 <sup>7</sup>	4,48*10 <sup>6</sup>	3,68*10 <sup>6</sup>	6,57 ± 0,50	
	10	4,05*10 <sup>6</sup>	4,00*10 <sup>6</sup>	3,68*10 <sup>6</sup>	3,18*10 <sup>6</sup>	2,01*10 <sup>6</sup>	3,38*10 <sup>6</sup>	6,53 ± 0,13	
B-LC 20	0	3,47*10 <sup>7</sup>	7,27*10 <sup>7</sup>	4,21*10 <sup>7</sup>	4,19*10 <sup>7</sup>	6,02*10 <sup>7</sup>	5,03*10 <sup>7</sup>	7,70 ± 0,13	0,002
	3	1,45*10 <sup>7</sup>	7,00*10 <sup>7</sup>	3,45*10 <sup>7</sup>	1,44*10 <sup>7</sup>	8,55*10 <sup>6</sup>	2,84*10 <sup>7</sup>	7,45 ± 0,36	0,067
	5	5,50*10 <sup>7</sup>	5,60*10 <sup>7</sup>	3,82*10 <sup>7</sup>	4,91*10 <sup>7</sup>	2,18*10 <sup>7</sup>	4,40*10 <sup>7</sup>	7,64 ± 0,17	0,003
	7	6,45*10 <sup>7</sup>	4,73*10 <sup>7</sup>	2,09*10 <sup>7</sup>	4,45*10 <sup>7</sup>	2,44*10 <sup>7</sup>	4,03*10 <sup>7</sup>	7,61 ± 0,21	0,011
	10	4,36*10 <sup>7</sup>	3,54*10 <sup>7</sup>	2,55*10 <sup>7</sup>	3,64*10 <sup>7</sup>	4,00*10 <sup>7</sup>	3,62*10 <sup>7</sup>	7,56 ± 0,09	0,000
B-SF 43	0	2,55*10 <sup>6</sup>	3,85*10 <sup>5</sup>	7,75*10 <sup>5</sup>	1,68*10 <sup>6</sup>	1,23*10 <sup>7</sup>	3,53*10 <sup>6</sup>	6,55 ± 0,57	0,190
	3	2,64*10 <sup>6</sup>	2,00*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>5</sup>	7,82*10 <sup>5</sup>	6,36*10 <sup>6</sup>	2,41*10 <sup>6</sup>	6,38 ± 0,54	0,114
	5	2,61*10 <sup>7</sup>	1,98*10 <sup>6</sup>	3,63*10 <sup>5</sup>	6,27*10 <sup>6</sup>	8,91*10 <sup>6</sup>	8,72*10 <sup>6</sup>	6,94 ± 0,71	0,184
	7	4,09*10 <sup>7</sup>	5,59*10 <sup>6</sup>	1,36*10 <sup>6</sup>	7,82*10 <sup>6</sup>	1,70*10 <sup>7</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	7,16 ± 0,55	0,216
	10	5,36*10 <sup>7</sup>	6,77*10 <sup>7</sup>	2,14*10 <sup>7</sup>	8,64*10 <sup>6</sup>	1,14*10 <sup>7</sup>	3,25*10 <sup>7</sup>	7,51 ± 0,40	0,066

<b>HVS 1: Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,95*10 <sup>2</sup>	6,36*10 <sup>2</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	6,82*10 <sup>3</sup>	1,85*10 <sup>3</sup>	<b>3,27 ± 0,73</b>	
	3	1,50*10 <sup>2</sup>	2,27*10 <sup>2</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	2,95*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	3,63*10 <sup>3</sup>	<b>3,56 ± 0,81</b>	
	5	1,82*10 <sup>2</sup>	2,73*10 <sup>2</sup>	2,59*10 <sup>4</sup>	7,73*10 <sup>3</sup>	4,32*10 <sup>3</sup>	7,68*10 <sup>3</sup>	<b>3,89 ± 0,94</b>	
	7	1,82*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	4,00*10 <sup>4</sup>	4,00*10 <sup>3</sup>	6,14*10 <sup>3</sup>	1,10*10 <sup>4</sup>	<b>4,04 ± 0,52</b>	
	10	5,00*10 <sup>3</sup>	5,45*10 <sup>3</sup>	9,00*10 <sup>4</sup>	8,77*10 <sup>3</sup>	2,70*10 <sup>4</sup>	2,72*10 <sup>4</sup>	<b>4,44 ± 0,53</b>	
B-LC 20	0	2,00*10 <sup>3</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	2,59*10 <sup>3</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	1,44*10 <sup>3</sup>	1,54*10 <sup>3</sup>	<b>3,19 ± 0,31</b>	0,822
	3	3,27*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>3</sup>	5,91*10 <sup>3</sup>	5,40*10 <sup>3</sup>	1,98*10 <sup>2</sup>	3,96*10 <sup>3</sup>	<b>3,60 ± 0,63</b>	0,879
	5	1,23*10 <sup>3</sup>	1,91*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	8,40*10 <sup>3</sup>	7,45*10 <sup>2</sup>	3,66*10 <sup>3</sup>	<b>3,56 ± 0,45</b>	0,379
	7	1,95*10 <sup>3</sup>	1,82*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>3</sup>	2,48*10 <sup>3</sup>	5,25*10 <sup>2</sup>	1,86*10 <sup>3</sup>	<b>3,27 ± 0,28</b>	0,271
	10	6,82*10 <sup>2</sup>	1,73*10 <sup>3</sup>	5,82*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>3</sup>	1,77*10 <sup>3</sup>	2,39*10 <sup>3</sup>	<b>3,38 ± 0,33</b>	0,181
B-SF 43	0	1,16*10 <sup>3</sup>	2,18*10 <sup>2</sup>	2,24*10 <sup>3</sup>	9,05*10 <sup>2</sup>	1,82*10 <sup>3</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	<b>3,10 ± 0,40</b>	0,634
	3	1,16*10 <sup>3</sup>	1,32*10 <sup>2</sup>	1,14*10 <sup>3</sup>	1,08*10 <sup>3</sup>	8,18*10 <sup>3</sup>	2,34*10 <sup>3</sup>	<b>3,37 ± 0,63</b>	0,648
	5	2,18*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	3,18*10 <sup>2</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	2,18*10 <sup>3</sup>	1,74*10 <sup>3</sup>	<b>3,24 ± 0,39</b>	0,304
	7	5,60*10 <sup>3</sup>	1,90*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	3,18*10 <sup>3</sup>	1,55*10 <sup>3</sup>	2,85*10 <sup>3</sup>	<b>3,45 ± 0,22</b>	0,343
	10	1,05*10 <sup>4</sup>	2,73*10 <sup>3</sup>	1,82*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>3</sup>	1,73*10 <sup>3</sup>	4,35*10 <sup>3</sup>	<b>3,64 ± 0,33</b>	0,252
<b>HVS 1: Nachweis von <i>Pseudomonas ssp.</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	8,45*10 <sup>3</sup>	3,24*10 <sup>3</sup>	1,60*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	2,42*10 <sup>3</sup>	3,34*10 <sup>3</sup>	<b>3,52 ± 0,35</b>	
	3	5,00*10 <sup>4</sup>	3,36*10 <sup>4</sup>	3,36*10 <sup>4</sup>	3,16*10 <sup>4</sup>	3,36*10 <sup>4</sup>	3,65*10 <sup>4</sup>	<b>4,56 ± 0,08</b>	
	5	9,63*10 <sup>4</sup>	9,69*10 <sup>4</sup>	4,38*10 <sup>4</sup>	4,58*10 <sup>4</sup>	7,04*10 <sup>4</sup>	7,06*10 <sup>4</sup>	<b>4,85 ± 0,17</b>	
	7	1,58*10 <sup>6</sup>	4,92*10 <sup>5</sup>	1,19*10 <sup>5</sup>	3,28*10 <sup>5</sup>	3,05*10 <sup>5</sup>	5,65*10 <sup>5</sup>	<b>5,75 ± 0,41</b>	
	10	2,45*10 <sup>6</sup>	1,40*10 <sup>6</sup>	3,35*10 <sup>5</sup>	1,05*10 <sup>6</sup>	8,68*10 <sup>5</sup>	1,22*10 <sup>6</sup>	<b>6,09 ± 0,32</b>	
B-LC 20	0	9,06*10 <sup>3</sup>	4,64*10 <sup>3</sup>	3,54*10 <sup>3</sup>	1,59*10 <sup>3</sup>	4,09*10 <sup>3</sup>	4,58*10 <sup>3</sup>	<b>3,66 ± 0,27</b>	0,011
	3	1,00*10 <sup>4</sup>	3,60*10 <sup>3</sup>	6,60*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	5,10*10 <sup>3</sup>	6,26*10 <sup>3</sup>	<b>3,80 ± 0,16</b>	0,000
	5	2,55*10 <sup>4</sup>	2,02*10 <sup>4</sup>	1,49*10 <sup>4</sup>	1,35*10 <sup>4</sup>	1,75*10 <sup>4</sup>	1,83*10 <sup>4</sup>	<b>4,26 ± 0,11</b>	0,006
	7	6,36*10 <sup>4</sup>	8,16*10 <sup>4</sup>	7,07*10 <sup>4</sup>	6,95*10 <sup>4</sup>	7,62*10 <sup>4</sup>	7,23*10 <sup>4</sup>	<b>4,86 ± 0,04</b>	0,134
	10	1,21*10 <sup>5</sup>	1,37*10 <sup>5</sup>	1,17*10 <sup>5</sup>	1,35*10 <sup>5</sup>	1,52*10 <sup>5</sup>	1,32*10 <sup>5</sup>	<b>5,12 ± 0,05</b>	0,037
B-SF 43	0	3,98*10 <sup>3</sup>	4,64*10 <sup>3</sup>	4,91*10 <sup>3</sup>	7,90*10 <sup>3</sup>	2,52*10 <sup>3</sup>	4,79*10 <sup>3</sup>	<b>3,68 ± 0,18</b>	0,482
	3	1,10*10 <sup>4</sup>	1,60*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	3,30*10 <sup>4</sup>	3,40*10 <sup>3</sup>	2,14*10 <sup>3</sup>	<b>4,33 ± 0,23</b>	0,113
	5	2,17*10 <sup>4</sup>	2,02*10 <sup>4</sup>	2,72*10 <sup>4</sup>	1,55*10 <sup>5</sup>	4,10*10 <sup>4</sup>	5,29*10 <sup>4</sup>	<b>4,72 ± 0,36</b>	0,628
	7	3,19*10 <sup>4</sup>	2,48*10 <sup>5</sup>	9,73*10 <sup>4</sup>	4,27*10 <sup>5</sup>	8,06*10 <sup>4</sup>	1,77*10 <sup>5</sup>	<b>5,25 ± 0,44</b>	0,262
	10	1,52*10 <sup>5</sup>	1,37*10 <sup>5</sup>	6,73*10 <sup>5</sup>	7,27*10 <sup>5</sup>	1,91*10 <sup>5</sup>	3,76*10 <sup>5</sup>	<b>5,58 ± 0,36</b>	0,132

HVS 1: Nachweis von <i>Brochotrix thermosphacta</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	8,95*10 <sup>3</sup>	4,35*10 <sup>3</sup>	6,72*10 <sup>3</sup>	6,65*10 <sup>3</sup>	5,53*10 <sup>3</sup>	6,44*10 <sup>3</sup>	3,81 ± 0,12	
	3	4,75*10 <sup>3</sup>	5,36*10 <sup>3</sup>	7,63*10 <sup>3</sup>	5,05*10 <sup>3</sup>	6,49*10 <sup>3</sup>	5,86*10 <sup>3</sup>	3,77 ± 0,08	
	5	1,02*10 <sup>4</sup>	1,46*10 <sup>4</sup>	1,28*10 <sup>4</sup>	1,24*10 <sup>4</sup>	1,37*10 <sup>4</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	4,10 ± 0,06	
	7	4,80*10 <sup>4</sup>	4,24*10 <sup>4</sup>	5,39*10 <sup>4</sup>	4,52*10 <sup>4</sup>	4,81*10 <sup>4</sup>	4,75*10 <sup>4</sup>	4,68 ± 0,04	
	10	4,32*10 <sup>5</sup>	2,16*10 <sup>5</sup>	3,10*10 <sup>6</sup>	3,24*10 <sup>5</sup>	1,66*10 <sup>6</sup>	1,15*10 <sup>6</sup>	6,06 ± 0,49	
B-LC 20	0	8,53*10 <sup>3</sup>	4,38*10 <sup>3</sup>	6,45*10 <sup>3</sup>	5,42*10 <sup>3</sup>	5,20*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	3,78 ± 0,11	0,103
	3	1,09*10 <sup>4</sup>	5,62*10 <sup>3</sup>	8,24*10 <sup>3</sup>	6,93*10 <sup>3</sup>	6,41*10 <sup>3</sup>	7,61*10 <sup>3</sup>	3,88 ± 0,11	0,199
	5	1,37*10 <sup>4</sup>	1,09*10 <sup>4</sup>	1,23*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	9,15*10 <sup>3</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	4,06 ± 0,07	0,453
	7	1,66*10 <sup>4</sup>	1,92*10 <sup>4</sup>	1,79*10 <sup>4</sup>	1,86*10 <sup>4</sup>	1,67*10 <sup>4</sup>	1,78*10 <sup>4</sup>	4,25 ± 0,03	0,000
	10	8,95*10 <sup>4</sup>	8,69*10 <sup>4</sup>	8,82*10 <sup>4</sup>	8,75*10 <sup>4</sup>	6,86*10 <sup>4</sup>	8,41*10 <sup>4</sup>	4,92 ± 0,05	0,128
B-SF 43	0	2,58*10 <sup>3</sup>	5,36*10 <sup>3</sup>	2,58*10 <sup>3</sup>	6,38*10 <sup>3</sup>	3,97*10 <sup>3</sup>	4,18*10 <sup>3</sup> E	3,62 ± 0,18	0,165
	3	5,78*10 <sup>3</sup>	7,56*10 <sup>3</sup>	5,38*10 <sup>3</sup>	8,15*10 <sup>3</sup>	6,47*10 <sup>3</sup>	6,67*10 <sup>3</sup> E	3,82 ± 0,08	0,431
	5	8,75*10 <sup>3</sup>	1,03*10 <sup>4</sup>	1,62*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,33*10 <sup>4</sup>	1,26*10 <sup>4</sup>	4,10 ± 0,11	0,931
	7	2,95*10 <sup>4</sup>	9,96*10 <sup>3</sup>	2,77*10 <sup>4</sup>	3,35*10 <sup>4</sup>	1,88*10 <sup>4</sup>	2,39*10 <sup>4</sup>	4,38 ± 0,21	0,003
	10	3,28*10 <sup>4</sup>	3,40*10 <sup>4</sup>	1,04*10 <sup>5</sup>	1,14*10 <sup>5</sup>	1,19*10 <sup>5</sup>	8,08*10 <sup>4</sup>	4,91 ± 0,29	0,122

Tabelle 16: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des HVS 2

HVS 2: Nachweis von Milchsäurebakterien									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	2,02*10 <sup>2</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	4,84*10 <sup>3</sup>	3,68 ± 0,69	
	3	2,56*10 <sup>2</sup>	2,80*10 <sup>4</sup>	4,87*10 <sup>3</sup>	1,75*10 <sup>3</sup>	1,94*10 <sup>4</sup>	1,09*10 <sup>4</sup>	4,04 ± 0,83	
	5	9,25*10 <sup>3</sup>	5,50*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	1,80*10 <sup>3</sup>	1,70*10 <sup>5</sup>	5,02*10 <sup>4</sup>	4,70 ± 0,75	
	7	1,50*10 <sup>4</sup>	7,00*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>5</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	6,72*10 <sup>5</sup>	1,85*10 <sup>5</sup>	5,27 ± 0,68	
	10	3,82*10 <sup>5</sup>	4,00*10 <sup>5</sup>	6,00*10 <sup>5</sup>	1,95*10 <sup>5</sup>	3,50*10 <sup>5</sup>	3,85*10 <sup>5</sup>	5,59 ± 0,18	
B-LC 20	0	1,97*10 <sup>7</sup>	2,20*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>6</sup>	4,10*10 <sup>7</sup>	2,86*10 <sup>7</sup>	7,46 ± 0,39	0,030
	3	1,47*10 <sup>7</sup>	4,60*10 <sup>7</sup>	7,46*10 <sup>7</sup>	5,00*10 <sup>6</sup>	3,77*10 <sup>7</sup>	3,56*10 <sup>7</sup>	7,55 ± 0,47	0,044
	5	4,13*10 <sup>7</sup>	5,00*10 <sup>7</sup>	8,00*10 <sup>7</sup>	2,50*10 <sup>7</sup>	2,30*10 <sup>7</sup>	4,39*10 <sup>7</sup>	7,64 ± 0,22	0,013
	7	5,23*10 <sup>7</sup>	7,50*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>7</sup>	2,39*10 <sup>7</sup>	4,72*10 <sup>7</sup>	5,07*10 <sup>7</sup>	7,70 ± 0,18	0,004
	10	1,30*10 <sup>7</sup>	4,00*10 <sup>7</sup>	4,00*10 <sup>7</sup>	2,25*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	2,62*10 <sup>7</sup>	7,42 ± 0,23	0,011
B-SF 43	0	2,10*10 <sup>6</sup>	4,00*10 <sup>5</sup>	6,50*10 <sup>6</sup>	2,69*10 <sup>6</sup>	9,00*10 <sup>6</sup>	4,14*10 <sup>6</sup>	6,62 ± 0,53	0,058
	3	1,06*10 <sup>7</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	5,98*10 <sup>6</sup>	2,05*10 <sup>5</sup>	3,61*10 <sup>6</sup>	6,99*10 <sup>6</sup>	6,84 ± 0,74	0,051
	5	2,68*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	4,00*10 <sup>6</sup>	1,00*10 <sup>6</sup>	2,00*10 <sup>6</sup>	9,86*10 <sup>6</sup>	6,99 ± 0,60	0,120
	7	9,94*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>7</sup>	7,50*10 <sup>6</sup>	1,51*10 <sup>6</sup>	3,77*10 <sup>6</sup>	9,55*10 <sup>6</sup>	6,98 ± 0,46	0,088
	10	3,43*10 <sup>6</sup>	2,00*10 <sup>7</sup>	9,00*10 <sup>6</sup>	1,15*10 <sup>6</sup>	1,80*10 <sup>7</sup>	1,03*10 <sup>6</sup>	7,01 ± 0,52	0,058
HVS 2: Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	2,96*10 <sup>3</sup>	8,50*10 <sup>5</sup>	4,00*10 <sup>4</sup>	3,81*10 <sup>4</sup>	1,40*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>5</sup>	5,28 ± 0,90	
	3	4,44*10 <sup>3</sup>	7,00*10 <sup>5</sup>	1,85*10 <sup>5</sup>	2,50*10 <sup>4</sup>	4,75*10 <sup>4</sup>	1,92*10 <sup>5</sup>	5,28 ± 0,84	
	5	1,45*10 <sup>4</sup>	9,50*10 <sup>5</sup>	4,50*10 <sup>5</sup>	5,00*10 <sup>4</sup>	8,75*10 <sup>5</sup>	4,68*10 <sup>5</sup>	5,67 ± 0,81	
	7	3,64*10 <sup>4</sup>	2,95*10 <sup>6</sup>	7,00*10 <sup>5</sup>	1,26*10 <sup>5</sup>	3,09*10 <sup>6</sup>	1,38*10 <sup>6</sup>	6,14 ± 0,85	
	10	2,25*10 <sup>5</sup>	3,00*10 <sup>6</sup>	1,35*10 <sup>6</sup>	2,05*10 <sup>6</sup>	7,00*10 <sup>6</sup>	2,73*10 <sup>6</sup>	6,44 ± 0,55	
B-LC 20	0	2,43*10 <sup>6</sup>	1,35*10 <sup>7</sup>	8,50*10 <sup>7</sup>	8,50*10 <sup>6</sup>	4,70*10 <sup>7</sup>	3,13*10 <sup>7</sup>	7,50 ± 0,61	0,116
	3	7,90*10 <sup>6</sup>	7,00*10 <sup>7</sup>	8,50*10 <sup>7</sup>	8,50*10 <sup>6</sup>	3,79*10 <sup>7</sup>	4,19*10 <sup>7</sup>	7,62 ± 0,49	0,056
	5	3,55*10 <sup>7</sup>	9,50*10 <sup>7</sup>	1,35*10 <sup>8</sup>	5,00*10 <sup>7</sup>	2,60*10 <sup>7</sup>	6,83*10 <sup>7</sup>	7,83 ± 0,30	0,029
	7	3,14*10 <sup>7</sup>	6,50*10 <sup>7</sup>	9,50*10 <sup>7</sup>	3,70*10 <sup>7</sup>	7,56*10 <sup>7</sup>	6,08*10 <sup>7</sup>	7,78 ± 0,21	0,007
	10	1,27*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>7</sup>	1,60*10 <sup>8</sup>	3,05*10 <sup>7</sup>	4,95*10 <sup>7</sup>	6,15*10 <sup>7</sup>	7,79 ± 0,40	0,085

HVS 2: Fortsetzung Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
B-SF 43	0	7,39*10 <sup>6</sup>	1,60*10 <sup>7</sup>	1,50*10 <sup>7</sup>	1,50*10 <sup>7</sup>	1,75*10 <sup>7</sup>	1,42*10 <sup>7</sup>	7,15 ± 0,15	0,001
	3	1,22*10 <sup>7</sup>	3,50*10 <sup>7</sup>	2,00*10 <sup>7</sup>	2,00*10 <sup>6</sup>	2,92*10 <sup>7</sup>	1,97*10 <sup>7</sup>	7,29 ± 0,50	0,028
	5	1,77*10 <sup>7</sup>	7,00*10 <sup>7</sup>	6,50*10 <sup>7</sup>	3,30*10 <sup>7</sup>	3,25*10 <sup>7</sup>	4,36*10 <sup>7</sup>	7,64 ± 0,25	0,013
	7	2,85*10 <sup>7</sup>	6,50*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>8</sup>	3,68*10 <sup>7</sup>	7,91*10 <sup>7</sup>	7,29*10 <sup>7</sup>	7,86 ± 0,29	0,033
	10	3,82*10 <sup>7</sup>	4,50*10 <sup>7</sup>	1,70*10 <sup>8</sup>	4,25*10 <sup>7</sup>	1,93*10 <sup>8</sup>	9,76*10 <sup>7</sup>	7,99 ± 0,35	0,048
HVS 2: Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,11*10 <sup>2</sup>	5,35*10 <sup>2</sup>	4,50*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	7,25*10 <sup>2</sup>	3,84*10 <sup>2</sup>	2,58 ± 0,40	
	3	1,87*10 <sup>2</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	1,85*10 <sup>2</sup>	7,54*10 <sup>2</sup>	2,88 ± 0,46	
	5	9,82*10 <sup>2</sup>	1,70*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	2,50*10 <sup>2</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	3,10 ± 0,44	
	7	9,39*10 <sup>2</sup>	6,00*10 <sup>2</sup>	3,60*10 <sup>3</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	3,15*10 <sup>2</sup>	1,39*10 <sup>3</sup>	3,14 ± 0,40	
	10	1,98*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>5</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	3,25*10 <sup>3</sup>	6,50*10 <sup>2</sup>	2,32*10 <sup>4</sup>	4,37 ± 0,83	
B-LC 20	0	4,91*10 <sup>2</sup>	1,04*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	5,35*10 <sup>2</sup>	4,82*10 <sup>2</sup>	2,68 ± 0,38	0,537
	3	1,32*10 <sup>2</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>2</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>	5,96*10 <sup>2</sup>	2,78 ± 0,44	0,358
	5	1,80*10 <sup>2</sup>	1,45*10 <sup>3</sup>	1,20*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>	2,75*10 <sup>2</sup>	6,81*10 <sup>2</sup>	2,83 ± 0,41	0,155
	7	2,30*10 <sup>2</sup>	1,03*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>2</sup>	1,70*10 <sup>2</sup>	9,36*10 <sup>2</sup>	2,97 ± 0,53	0,183
	10	2,47*10 <sup>2</sup>	1,05*10 <sup>3</sup>	2,20*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>2</sup>	1,55*10 <sup>2</sup>	8,00*10 <sup>2</sup>	2,90 ± 0,47	0,308
B-SF 43	0	2,28*10 <sup>2</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	6,80*10 <sup>2</sup>	5,36*10 <sup>2</sup>	2,73 ± 0,43	0,367
	3	1,84*10 <sup>2</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>2</sup>	4,50*10 <sup>2</sup>	3,90*10 <sup>2</sup>	7,25*10 <sup>2</sup>	2,86 ± 0,38	0,781
	5	3,07*10 <sup>2</sup>	1,20*10 <sup>3</sup>	1,30*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>2</sup>	3,05*10 <sup>2</sup>	6,72*10 <sup>2</sup>	2,83 ± 0,35	0,123
	7	7,40*10 <sup>2</sup>	3,50*10 <sup>3</sup>	6,30*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>	3,00*10 <sup>2</sup>	2,23*10 <sup>3</sup>	3,35 ± 0,61	0,369
	10	3,84*10 <sup>2</sup>	8,50*10 <sup>3</sup>	2,55*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>2</sup>	2,80*10 <sup>2</sup>	2,41*10 <sup>3</sup>	3,38 ± 0,65	0,306
HVS 2: Nachweis von <i>Pseudomonas ssp.</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,12*10 <sup>2</sup>	1,10*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>2</sup>	5,15*10 <sup>2</sup>	8,15*10 <sup>2</sup>	2,91 ± 0,48	
	3	3,07*10 <sup>2</sup>	1,60*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	9,30*10 <sup>2</sup>	4,67*10 <sup>3</sup>	3,67 ± 0,71	
	5	6,49*10 <sup>2</sup>	2,20*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>3</sup>	2,83*10 <sup>3</sup>	5,37*10 <sup>3</sup>	3,73 ± 0,57	
	7	9,92*10 <sup>2</sup>	7,90*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>4</sup>	3,05*10 <sup>3</sup>	4,75*10 <sup>3</sup>	1,03*10 <sup>4</sup>	4,01 ± 0,57	
	10	6,41*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	8,00*10 <sup>4</sup>	3,10*10 <sup>3</sup>	2,54*10 <sup>4</sup>	2,70*10 <sup>4</sup>	4,43 ± 0,55	
B-LC 20	0	9,09*10 <sup>1</sup>	8,95*10 <sup>2</sup>	3,50*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	5,70*10 <sup>2</sup>	1,11*10 <sup>3</sup>	3,05 ± 0,57	0,389
	3	8,93*10 <sup>1</sup>	9,50*10 <sup>2</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	1,20*10 <sup>3</sup>	6,15*10 <sup>2</sup>	1,97*10 <sup>3</sup>	3,29 ± 0,68	0,356
	5	2,31*10 <sup>2</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	3,10*10 <sup>2</sup>	2,61*10 <sup>3</sup>	3,42 ± 0,65	0,212
	7	1,73*10 <sup>2</sup>	2,48*10 <sup>3</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	8,00*10 <sup>2</sup>	2,70*10 <sup>2</sup>	3,65*10 <sup>3</sup>	3,56 ± 0,78	0,132
	10	3,76*10 <sup>2</sup>	6,68*10 <sup>3</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	9,50*10 <sup>2</sup>	3,50*10 <sup>2</sup>	3,77*10 <sup>3</sup>	3,58 ± 0,70	0,130
B-SF 43	0	8,45*10 <sup>1</sup>	2,25*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	1,30*10 <sup>3</sup>	9,26*10 <sup>2</sup>	2,97 ± 0,54	0,820
	3	2,35*10 <sup>2</sup>	2,35*10 <sup>3</sup>	2,55*10 <sup>3</sup>	1,60*10 <sup>3</sup>	6,85*10 <sup>2</sup>	1,48*10 <sup>3</sup>	3,17 ± 0,44	0,424
	5	3,01*10 <sup>2</sup>	2,70*10 <sup>3</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	1,05*10 <sup>3</sup>	8,40*10 <sup>2</sup>	2,38*10 <sup>3</sup>	3,38 ± 0,52	0,304
	7	4,67*10 <sup>2</sup>	4,65*10 <sup>3</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	9,40*10 <sup>2</sup>	3,51*10 <sup>3</sup>	3,55 ± 0,56	0,200
	10	1,40*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>3</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	5,50*10 <sup>3</sup>	7,00*10 <sup>2</sup>	4,39*10 <sup>3</sup>	3,64 ± 0,47	0,146

HVS 2: Nachweis von <i>Brochotrix thermosphacta</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	5,00*10 <sup>1</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>3</sup>	1,40*10 <sup>2</sup>	2,20*10 <sup>2</sup>	1,18*10 <sup>3</sup>	3,07 ± 0,79	
	3	1,50*10 <sup>2</sup>	4,00*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	1,42*10 <sup>3</sup>	2,41*10 <sup>3</sup>	3,38 ± 0,66	
	5	7,51*10 <sup>2</sup>	5,15*10 <sup>3</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>2</sup>	7,70*10 <sup>3</sup>	4,16*10 <sup>3</sup>	3,62 ± 0,70	
	7	1,34*10 <sup>3</sup>	4,35*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	8,00*10 <sup>3</sup>	1,48*10 <sup>4</sup>	4,17 ± 0,72	
	10	2,21*10 <sup>3</sup>	4,00*10 <sup>4</sup>	2,50*10 <sup>4</sup>	3,25*10 <sup>3</sup>	5,19*10 <sup>4</sup>	2,45*10 <sup>4</sup>	4,39 ± 0,64	
B-LC 20	0	5,00*10 <sup>1</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	2,72*10 <sup>2</sup>	9,72*10 <sup>2</sup>	5,39*10 <sup>2</sup>	2,73 ± 0,53	0,354
	3	9,45*10 <sup>1</sup>	5,79*10 <sup>2</sup>	3,39*10 <sup>3</sup>	7,52*10 <sup>2</sup>	1,06*10 <sup>3</sup>	1,17*10 <sup>3</sup>	3,07 ± 0,56	0,171
	5	2,02*10 <sup>2</sup>	5,55*10 <sup>2</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>2</sup>	9,65*10 <sup>2</sup>	1,79*10 <sup>3</sup>	3,25 ± 0,62	0,165
	7	2,32*10 <sup>2</sup>	1,92*10 <sup>3</sup>	3,30*10 <sup>3</sup>	4,95*10 <sup>2</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	1,49*10 <sup>3</sup>	3,17 ± 0,47	0,158
	10	3,14*10 <sup>2</sup>	1,70*10 <sup>3</sup>	1,95*10 <sup>3</sup>	1,05*10 <sup>3</sup>	1,70*10 <sup>3</sup>	1,34*10 <sup>3</sup>	3,13 ± 0,33	0,074
B-SF 43	0	1,69*10 <sup>2</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	2,40*10 <sup>2</sup>	1,37*10 <sup>3</sup>	3,14 ± 0,70	0,828
	3	1,88*10 <sup>2</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	5,85*10 <sup>2</sup>	1,85*10 <sup>3</sup>	3,27 ± 0,58	0,687
	5	2,61*10 <sup>2</sup>	8,50*10 <sup>3</sup>	1,85*10 <sup>3</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	9,05*10 <sup>2</sup>	2,70*10 <sup>3</sup>	3,43 ± 0,55	0,498
	7	3,95*10 <sup>2</sup>	5,60*10 <sup>4</sup>	2,05*10 <sup>3</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	1,30*10 <sup>3</sup>	1,22*10 <sup>4</sup>	4,09 ± 0,81	0,639
	10	7,28*10 <sup>2</sup>	6,00*10 <sup>4</sup>	2,90*10 <sup>3</sup>	1,80*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	1,43*10 <sup>4</sup>	4,15 ± 0,72	0,412

Tabelle 17: Ergebnisse der qualitativen Nachweise humanpathogener Mikroorganismen

HVS 2: qualitativer Nachweis von <i>Campylobacter</i> ssp.													
Probe	Lagertag	Anzahl positiver Proben von 10										MW (%)	Signifikanz
		V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	V 8	V 9	V 10		
Kontrolle	0	2	3	5	4	1	1	2	3	4	5	30	
	3	1	2	4	3	3	2	3	2	1	4	25	
	5	3	5	4	5	2	1	3	2	4	1	30	
	7	2	5	3	4	4	1	2	3	3	3	30	
	10	2	2	4	4	3	1	5	3	2	4	30	
B-LC 20	0	2	3	2	3	2	2	2	3	3	3	25	1,000
	3	1	1	2	2	3	2	2	2	2	3	20	0,096
	5	1	1	2	2	1	1	3	1	1	2	15	0,015
	7	2	3	1	2	1	1	2	2	3	3	20	0,023
	10	0	1	2	1	1	0	1	2	1	1	10	0,000
B-SF 43	0	3	2	2	3	3	2	2	3	2	3	25	1,000
	3	2	3	3	2	2	3	3	2	2	3	25	0,096
	5	1	3	2	2	1	2	1	1	1	1	15	1,000
	7	1	0	0	1	2	1	1	1	1	2	10	0,015
	10	0	1	1	0	2	1	1	1	1	2	10	1,000
VVS 3: qualitativer Nachweis von <i>Listeria</i> ssp.													
Probe	Lagertag	Anzahl positiver Proben von 10										MW (%)	Signifikanz
		V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	V 8	V 9	V 10		
Kontrolle	0	3	3	4	4	3	5	2	2	4	5	35	
	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	30	
	5	3	3	3	3	2	3	3	3	4	3	30	
	7	3	4	3	4	4	3	4	4	3	3	35	
	10	2	2	3	3	3	3	3	2	2	2	25	

VVS 3: Fortsetzung qualitativer Nachweis von <i>Listeria</i> ssp.													
Probe	Lagertag	Anzahl positiver Proben von 10										MW (%)	Signifikanz
		V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	V 8	V 9	V 10		
B-LC 20	0	3	4	4	4	3	2	4	3	4	4	35	1,000
	3	2	3	4	3	3	3	3	2	3	4	30	1,000
	5	2	3	2	4	2	3	2	2	2	3	25	0,096
	7	3	2	2	3	3	2	2	2	3	3	25	0,004
	10	2	2	3	3	2	1	1	2	1	3	20	0,138
B-SF 43	0	3	2	4	5	3	2	3	2	3	3	30	0,096
	3	3	3	4	3	3	4	3	4	4	4	35	0,052
	5	2	3	3	2	2	3	3	2	2	3	25	1,000
	7	1	2	2	1	2	1	1	0	2	3	15	0,004
	10	3	2	1	0	0	1	2	2	2	2	15	0,299

Tabelle 18: HVS 3: Ergebnisse des quantitativen Nachweises von *L. monocytogenes* in BHI

HVS 3: quantitativer Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	8,64*10 <sup>3</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	1,02*10 <sup>4</sup>	2,72*10 <sup>4</sup>	1,16*10 <sup>4</sup>	1,37*10 <sup>4</sup>	4,14 ± 0,20	
	3	1,90*10 <sup>4</sup>	1,69*10 <sup>4</sup>	5,54*10 <sup>4</sup>	9,59*10 <sup>4</sup>	3,17*10 <sup>4</sup>	4,38*10 <sup>4</sup>	4,64 ± 0,32	
	5	7,27*10 <sup>4</sup>	8,18*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>5</sup>	3,64*10 <sup>5</sup>	6,41*10 <sup>4</sup>	1,41*10 <sup>5</sup>	5,15 ± 0,31	
	7	1,61*10 <sup>5</sup>	9,09*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>5</sup>	8,05*10 <sup>5</sup>	7,54*10 <sup>4</sup>	2,50*10 <sup>5</sup>	5,40 ± 0,41	
	10	8,00*10 <sup>5</sup>	6,32*10 <sup>5</sup>	6,58*10 <sup>5</sup>	4,01*10 <sup>5</sup>	8,22*10 <sup>5</sup>	6,62*10 <sup>5</sup>	5,82 ± 0,13	
B-LC 20	0	3,73*10 <sup>4</sup>	1,70*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	2,55*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	2,05*10 <sup>4</sup>	4,31 ± 0,23	0,289
	3	1,73*10 <sup>3</sup>	4,50*10 <sup>3</sup>	1,21*10 <sup>3</sup>	4,15*10 <sup>3</sup>	1,11*10 <sup>3</sup>	2,54*10 <sup>3</sup>	3,40 ± 0,29	0,047
	5	1,05*10 <sup>3</sup>	1,30*10 <sup>3</sup>	7,20*10 <sup>2</sup>	1,27*10 <sup>3</sup>	7,36*10 <sup>2</sup>	1,01*10 <sup>3</sup>	3,01 ± 0,12	0,069
	7	4,40*10 <sup>2</sup>	2,00*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	2,85*10 <sup>2</sup>	2,45*10 <sup>2</sup>	2,54*10 <sup>2</sup>	2,40 ± 0,24	0,149
	10	2,73*10 <sup>2</sup>	1,80*10 <sup>2</sup>	1,40*10 <sup>2</sup>	1,10*10 <sup>2</sup>	1,10*10 <sup>2</sup>	1,63*10 <sup>2</sup> E	2,21 ± 0,17	0,001
B-SF 43	0	3,27*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	2,11*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup>	2,77*10 <sup>4</sup>	2,48*10 <sup>4</sup>	4,39 ± 0,09	0,107
	3	1,70*10 <sup>4</sup>	2,19*10 <sup>4</sup>	5,45*10 <sup>4</sup>	6,59*10 <sup>3</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	2,03*10 <sup>4</sup>	4,31 ± 0,59	0,252
	5	1,55*10 <sup>4</sup>	2,15*10 <sup>4</sup>	5,43*10 <sup>3</sup>	5,43*10 <sup>3</sup>	1,27*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,27	0,093
	7	1,36*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>3</sup>	1,40*10 <sup>3</sup>	2,85*10 <sup>2</sup>	5,77*10 <sup>3</sup>	3,76 ± 0,70	0,158
	10	3,67*10 <sup>3</sup>	4,27*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>2</sup>	4,00*10 <sup>2</sup>	1,00*10 <sup>2</sup>	1,81*10 <sup>3</sup>	3,26 ± 0,69	0,001
HVS 3: Nachweis von <i>Pediococcus acidilactici</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-LC 20	0	5,27*10 <sup>6</sup>	4,00*10 <sup>6</sup>	4,20*10 <sup>6</sup>	1,89*10 <sup>6</sup>	3,05*10 <sup>6</sup>	3,68*10 <sup>6</sup>	6,57 ± 0,17	
	3	3,91*10 <sup>6</sup>	2,60*10 <sup>6</sup>	3,25*10 <sup>6</sup>	2,93*10 <sup>6</sup>	3,09*10 <sup>6</sup>	3,16*10 <sup>6</sup>	6,50 ± 0,07	
	5	8,36*10 <sup>6</sup>	5,73*10 <sup>6</sup>	7,05*10 <sup>6</sup>	6,39*10 <sup>6</sup>	6,72*10 <sup>6</sup>	6,85*10 <sup>6</sup>	6,84 ± 0,06	
	7	4,00*10 <sup>7</sup>	6,00*10 <sup>7</sup>	5,00*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>7</sup>	5,25*10 <sup>7</sup>	5,15*10 <sup>7</sup>	7,71 ± 0,07	
	10	5,62*10 <sup>7</sup>	5,28*10 <sup>7</sup>	2,60*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>7</sup>	4,05*10 <sup>7</sup>	4,61*10 <sup>7</sup>	7,66 ± 0,14	

HVS 3: Nachweis von <i>Leuconostoc carnosum</i>								
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD
B-SF 43	0	1,73*10 <sup>6</sup>	1,80*10 <sup>6</sup>	1,90*10 <sup>6</sup>	1,80*10 <sup>6</sup>	1,85*10 <sup>6</sup>	1,82*10 <sup>6</sup>	6,26 ± 0,02
	3	4,09*10 <sup>6</sup>	7,45*10 <sup>6</sup>	5,77*10 <sup>6</sup>	6,61*10 <sup>6</sup>	6,19*10 <sup>6</sup>	6,02*10 <sup>6</sup>	6,78 ± 0,10
	5	1,36*10 <sup>7</sup>	9,27*10 <sup>6</sup>	1,15*10 <sup>7</sup>	1,04*10 <sup>7</sup>	1,09*10 <sup>7</sup>	1,11*10 <sup>7</sup>	7,05 ± 0,06
	7	2,00*10 <sup>7</sup>	4,60*10 <sup>7</sup>	3,30*10 <sup>7</sup>	3,95*10 <sup>7</sup>	3,63*10 <sup>7</sup>	3,50*10 <sup>7</sup>	7,54 ± 0,14
	10	2,62*10 <sup>7</sup>	5,82*10 <sup>7</sup>	3,10*10 <sup>7</sup>	5,50*10 <sup>7</sup>	4,30*10 <sup>7</sup>	4,27*10 <sup>7</sup>	7,63 ± 0,15

Tabelle 19: HVS 3: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von *S. enterica* in BHI

HVS 3: quantitativer Nachweis von <i>Salmonella enterica</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,45*10 <sup>4</sup>	9,09*10 <sup>3</sup>	2,15*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	1,53*10 <sup>4</sup>	1,44*10 <sup>4</sup>	4,16 ± 0,14	
	3	6,64*10 <sup>4</sup>	6,00*10 <sup>4</sup>	7,00*10 <sup>4</sup>	6,32*10 <sup>4</sup>	6,50*10 <sup>4</sup>	6,49*10 <sup>4</sup>	4,81 ± 0,02	
	5	7,27*10 <sup>4</sup>	5,00*10 <sup>4</sup>	1,85*10 <sup>4</sup>	6,14*10 <sup>4</sup>	3,43*10 <sup>4</sup>	4,74*10 <sup>4</sup>	4,68 ± 0,24	
	7	5,00*10 <sup>4</sup>	5,99*10 <sup>4</sup>	3,70*10 <sup>4</sup>	5,50*10 <sup>4</sup>	4,85*10 <sup>4</sup>	5,01*10 <sup>4</sup>	4,70 ± 0,08	
	10	4,00*10 <sup>4</sup>	6,36*10 <sup>4</sup>	4,50*10 <sup>4</sup>	5,18*10 <sup>4</sup>	5,43*10 <sup>4</sup>	5,10*10 <sup>4</sup>	4,71 ± 0,08	
B-LC 20	0	1,06*10 <sup>4</sup>	1,12*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	1,02*10 <sup>4</sup>	4,01 ± 0,12	0,097
	3	9,27*10 <sup>3</sup>	1,11*10 <sup>4</sup>	9,00*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>3</sup>	8,55*10 <sup>3</sup>	8,58*10 <sup>3</sup>	3,93 ± 0,13	0,000
	5	4,00*10 <sup>3</sup>	7,36*10 <sup>3</sup>	8,50*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	8,00*10 <sup>3</sup>	6,17*10 <sup>3</sup>	3,79 ± 0,20	0,018
	7	4,64*10 <sup>3</sup>	8,00*10 <sup>3</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	5,63*10 <sup>3</sup>	3,75 ± 0,20	0,000
	10	4,00*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	3,80*10 <sup>3</sup>	3,58 ± 0,31	0,000
B-SF 43	0	2,04*10 <sup>4</sup>	1,18*10 <sup>4</sup>	1,57*10 <sup>4</sup>	1,26*10 <sup>4</sup>	1,11*10 <sup>4</sup>	1,43*10 <sup>4</sup>	4,16 ± 0,11	0,952
	3	1,25*10 <sup>4</sup>	1,09*10 <sup>4</sup>	9,98*10 <sup>3</sup>	1,23*10 <sup>4</sup>	1,81*10 <sup>4</sup>	1,28*10 <sup>4</sup>	4,11 ± 0,10	0,000
	5	1,10*10 <sup>4</sup>	1,36*10 <sup>4</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,36*10 <sup>4</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	1,19*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,06	0,019
	7	1,34*10 <sup>4</sup>	1,75*10 <sup>4</sup>	1,09*10 <sup>4</sup>	2,50*10 <sup>3</sup>	5,98*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	4,00 ± 0,34	0,001
	10	1,57*10 <sup>4</sup>	1,59*10 <sup>4</sup>	9,90*10 <sup>3</sup>	9,90*10 <sup>2</sup>	6,50*10 <sup>3</sup>	9,80*10 <sup>3</sup>	3,99 ± 0,50	0,001
HVS 3: Nachweis von <i>Pediococcus acidilactici</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-LC 20	0	5,82*10 <sup>6</sup>	2,30*10 <sup>6</sup>	4,20*10 <sup>6</sup>	1,64*10 <sup>6</sup>	4,06*10 <sup>6</sup>	3,60*10 <sup>6</sup>	6,56 ± 0,22	
	3	4,27*10 <sup>6</sup>	2,70*10 <sup>6</sup>	3,49*10 <sup>6</sup>	3,09*10 <sup>6</sup>	3,49*10 <sup>6</sup>	3,41*10 <sup>6</sup>	6,53 ± 0,07	
	5	5,55*10 <sup>6</sup>	7,18*10 <sup>6</sup>	6,36*10 <sup>6</sup>	6,77*10 <sup>6</sup>	6,36*10 <sup>6</sup>	6,45*10 <sup>6</sup>	6,81 ± 0,04	
	7	6,00*10 <sup>6</sup>	1,60*10 <sup>7</sup>	1,10*10 <sup>7</sup>	1,35*10 <sup>7</sup>	1,10*10 <sup>7</sup>	1,15*10 <sup>7</sup>	7,06 ± 0,16	
	10	7,00*10 <sup>6</sup>	1,57*10 <sup>7</sup>	4,82*10 <sup>7</sup>	2,61*10 <sup>7</sup>	1,14*10 <sup>7</sup>	2,17*10 <sup>7</sup>	7,34 ± 0,32	
HVS 3: Nachweis von <i>Leuconostoc carnosum</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-SF 43	0	8,18*10 <sup>5</sup>	3,30*10 <sup>6</sup>	4,20*10 <sup>6</sup>	4,00*10 <sup>6</sup>	2,06*10 <sup>6</sup>	2,88*10 <sup>6</sup>	6,46 ± 0,30	
	3	2,73*10 <sup>6</sup>	8,70*10 <sup>6</sup>	5,71*10 <sup>6</sup>	7,21*10 <sup>6</sup>	5,71*10 <sup>6</sup>	6,01*10 <sup>6</sup>	6,78 ± 0,19	
	5	5,45*10 <sup>6</sup>	1,18*10 <sup>7</sup>	8,64*10 <sup>6</sup>	1,02*10 <sup>7</sup>	8,64*10 <sup>6</sup>	8,95*10 <sup>6</sup>	6,95 ± 0,13	
	7	6,90*10 <sup>6</sup>	2,60*10 <sup>7</sup>	1,65*10 <sup>7</sup>	2,12*10 <sup>7</sup>	1,65*10 <sup>7</sup>	1,74*10 <sup>7</sup>	7,24 ± 0,22	
	10	9,20*10 <sup>6</sup>	5,77*10 <sup>7</sup>	2,30*10 <sup>7</sup>	5,70*10 <sup>7</sup>	3,35*10 <sup>7</sup>	3,61*10 <sup>7</sup>	7,56 ± 0,33	

**Tabelle 20: HVS 3: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von *Staph. Aureus* in BHI**

<b>HVS 3: quantitativer Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,27*10 <sup>4</sup>	8,45*10 <sup>3</sup>	2,19*10 <sup>4</sup>	1,06*10 <sup>4</sup>	1,52*10 <sup>4</sup>	1,38*10 <sup>4</sup>	4,14 ± 0,16	
	3	5,64*10 <sup>4</sup>	1,25*10 <sup>4</sup>	2,91*10 <sup>4</sup>	3,44*10 <sup>4</sup>	2,08*10 <sup>4</sup>	3,06*10 <sup>4</sup>	4,49 ± 0,24	
	5	6,18*10 <sup>4</sup>	6,91*10 <sup>4</sup>	1,21*10 <sup>5</sup>	6,55*10 <sup>4</sup>	9,50*10 <sup>4</sup>	8,25*10 <sup>4</sup>	4,92 ± 0,12	
	7	4,55*10 <sup>4</sup>	1,09*10 <sup>5</sup>	2,40*10 <sup>5</sup>	7,72*10 <sup>4</sup>	1,75*10 <sup>5</sup>	1,29*10 <sup>5</sup>	5,11 ± 0,29	
	10	6,99*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>5</sup>	1,10*10 <sup>5</sup>	8,50*10 <sup>4</sup>	1,05*10 <sup>5</sup>	9,40*10 <sup>4</sup>	4,97 ± 0,08	
B-LC 20	0	2,27*10 <sup>4</sup>	2,36*10 <sup>4</sup>	1,01*10 <sup>4</sup>	8,36*10 <sup>3</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>	4,18 ± 0,21	0,804
	3	6,73*10 <sup>4</sup>	8,73*10 <sup>4</sup>	6,00*10 <sup>4</sup>	6,00*10 <sup>4</sup>	1,94*10 <sup>4</sup>	5,88*10 <sup>4</sup>	4,77 ± 0,25	0,096
	5	6,36*10 <sup>4</sup>	6,45*10 <sup>4</sup>	4,55*10 <sup>4</sup>	6,36*10 <sup>4</sup>	1,40*10 <sup>4</sup>	5,03*10 <sup>4</sup>	4,70 ± 0,29	0,163
	7	5,73*10 <sup>4</sup>	6,19*10 <sup>4</sup>	3,18*10 <sup>4</sup>	4,55*10 <sup>4</sup>	3,18*10 <sup>4</sup>	4,57*10 <sup>4</sup>	4,66 ± 0,14	0,105
	10	4,00*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	2,73*10 <sup>4</sup>	2,77*10 <sup>4</sup>	2,50*10 <sup>4</sup>	2,80*10 <sup>4</sup>	4,45 ± 0,11	0,003
B-SF 43	0	2,67*10 <sup>4</sup>	1,86*10 <sup>4</sup>	2,41*10 <sup>4</sup>	1,03*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,89*10 <sup>4</sup> E	4,28 ± 0,17	0,161
	3	3,52*10 <sup>4</sup>	4,13*10 <sup>4</sup>	3,00*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	3,19*10 <sup>4</sup>	3,15*10 <sup>4</sup>	4,50 ± 0,13	0,930
	5	4,16*10 <sup>4</sup>	6,11*10 <sup>4</sup>	5,51*10 <sup>4</sup>	1,26*10 <sup>4</sup>	3,14*10 <sup>4</sup>	4,04*10 <sup>4</sup>	4,61 ± 0,27	0,023
	7	5,13*10 <sup>4</sup>	6,00*10 <sup>4</sup>	4,18*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	3,12*10 <sup>4</sup>	3,98*10 <sup>4</sup>	4,60 ± 0,24	0,069
	10	6,50*10 <sup>4</sup>	4,00*10 <sup>4</sup>	2,93*10 <sup>4</sup>	3,27*10 <sup>4</sup>	2,20*10 <sup>4</sup>	3,78*10 <sup>4</sup>	4,58 ± 0,18	0,016
<b>HVS 3: Nachweis von <i>Pediococcus acidilactici</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-LC 20	0	2,77*10 <sup>6</sup>	1,80*10 <sup>6</sup>	3,50*10 <sup>6</sup>	2,18*10 <sup>6</sup>	2,84*10 <sup>6</sup>	2,62*10 <sup>6</sup>	6,42 ± 0,11	
	3	3,55*10 <sup>6</sup>	2,30*10 <sup>7</sup>	1,33*10 <sup>7</sup>	1,81*10 <sup>7</sup>	1,57*10 <sup>7</sup>	1,47*10 <sup>7</sup>	7,17 ± 0,32	
	5	5,91*10 <sup>6</sup>	1,03*10 <sup>7</sup>	8,09*10 <sup>6</sup>	9,18*10 <sup>6</sup>	8,64*10 <sup>6</sup>	8,42*10 <sup>6</sup>	6,93 ± 0,09	
	7	5,00*10 <sup>6</sup>	1,90*10 <sup>7</sup>	1,20*10 <sup>7</sup>	1,55*10 <sup>7</sup>	1,38*10 <sup>7</sup>	1,31*10 <sup>7</sup>	7,12 ± 0,22	
	10	5,90*10 <sup>6</sup>	1,59*10 <sup>7</sup>	6,30*10 <sup>6</sup>	2,24*10 <sup>7</sup>	1,44*10 <sup>7</sup>	1,30*10 <sup>7</sup>	7,11 ± 0,26	
<b>HVS 3: Nachweis von <i>Leuconostoc carnosum</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-SF 43	0	7,68*10 <sup>6</sup>	4,30*10 <sup>6</sup>	3,40*10 <sup>6</sup>	3,80*10 <sup>6</sup>	5,47*10 <sup>6</sup>	4,93*10 <sup>6</sup>	6,69 ± 0,14	
	3	7,93*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>6</sup>	7,42*10 <sup>6</sup>	6,61*10 <sup>6</sup>	5,71*10 <sup>6</sup>	6,03*10 <sup>6</sup>	6,78 ± 0,20	
	5	8,55*10 <sup>6</sup>	5,92*10 <sup>6</sup>	9,18*10 <sup>6</sup>	3,75*10 <sup>7</sup>	2,43*10 <sup>7</sup>	1,71*10 <sup>7</sup>	7,23 ± 0,34	
	7	1,90*10 <sup>7</sup>	3,80*10 <sup>7</sup>	3,90*10 <sup>7</sup>	4,67*10 <sup>7</sup>	5,48*10 <sup>7</sup>	3,95*10 <sup>7</sup>	7,60 ± 0,18	
	10	2,10*10 <sup>7</sup>	3,66*10 <sup>7</sup>	4,10*10 <sup>7</sup>	5,67*10 <sup>7</sup>	6,22*10 <sup>7</sup>	4,35*10 <sup>7</sup>	7,64 ± 0,19	

**Tabelle 21: HVS 4: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von *Listeria monocytogenes* in Putenoberkeulenhackfleisch**

HVS 4: quantitativer Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	1,57*10 <sup>4</sup>	2,05*10 <sup>4</sup>	2,06*10 <sup>4</sup>	2,15*10 <sup>4</sup>	2,30*10 <sup>4</sup>	2,02*10 <sup>4</sup>	4,31 ± 0,06	
	3	2,45*10 <sup>4</sup>	2,80*10 <sup>4</sup>	3,00*10 <sup>4</sup>	3,30*10 <sup>4</sup>	3,70*10 <sup>4</sup>	3,05*10 <sup>4</sup>	4,48 ± 0,07	
	5	2,52*10 <sup>4</sup>	2,55*10 <sup>4</sup>	3,48*10 <sup>4</sup>	3,94*10 <sup>4</sup>	4,24*10 <sup>4</sup>	3,34*10 <sup>4</sup>	4,52 ± 0,11	
	7	3,06*10 <sup>4</sup>	3,32*10 <sup>4</sup>	3,56*10 <sup>4</sup>	3,80*10 <sup>4</sup>	4,35*10 <sup>4</sup>	3,61*10 <sup>4</sup>	4,56 ± 0,06	
	10	9,50*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>5</sup>	1,30*10 <sup>5</sup>	1,40*10 <sup>5</sup>	1,50*10 <sup>5</sup>	1,26*10 <sup>5</sup>	5,10 ± 0,08	
B-LC 20	0	1,53*10 <sup>4</sup>	1,67*10 <sup>4</sup>	2,09*10 <sup>4</sup>	2,28*10 <sup>4</sup>	2,55*10 <sup>4</sup>	2,02*10 <sup>4</sup>	4,31 ± 0,09	0,986
	3	1,35*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	2,20*10 <sup>4</sup>	1,61*10 <sup>4</sup>	4,21 ± 0,11	0,000
	5	2,80*10 <sup>3</sup>	3,75*10 <sup>3</sup>	2,70*10 <sup>3</sup>	7,10*10 <sup>3</sup>	6,50*10 <sup>3</sup>	4,57*10 <sup>3</sup>	3,66 ± 0,20	0,001
	7	8,50*10 <sup>2</sup>	5,55*10 <sup>3</sup>	8,50*10 <sup>3</sup>	1,90*10 <sup>3</sup>	1,90*10 <sup>3</sup>	3,74*10 <sup>3</sup>	3,57 ± 0,40	0,000
	10	8,50*10 <sup>2</sup>	6,50*10 <sup>2</sup>	1,75*10 <sup>3</sup>	4,50*10 <sup>2</sup>	1,30*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>3</sup>	3,00 ± 0,23	0,000
B-SF 43	0	1,05*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,60*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	1,80*10 <sup>4</sup>	1,39*10 <sup>4</sup>	4,14 ± 0,09	0,305
	3	1,20*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	1,55*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	1,48*10 <sup>4</sup>	4,17 ± 0,10	0,038
	5	7,00*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>3</sup>	6,50*10 <sup>3</sup>	7,00*10 <sup>3</sup>	8,00*10 <sup>3</sup>	6,20*10 <sup>3</sup>	3,79 ± 0,21	0,013
	7	7,50*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	1,50*10 <sup>3</sup>	3,50*10 <sup>3</sup>	3,00*10 <sup>3</sup>	3,70*10 <sup>3</sup>	3,57 ± 0,25	0,006
	10	3,50*10 <sup>3</sup>	5,00*10 <sup>2</sup>	3,50*10 <sup>3</sup>	4,50*10 <sup>3</sup>	2,50*10 <sup>3</sup>	2,90*10 <sup>3</sup>	3,46 ± 0,38	0,001
HVS 4: Nachweis von <i>Pediococcus acidilactici</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-LC 20	0	1,62*10 <sup>6</sup>	1,58*10 <sup>6</sup>	2,10*10 <sup>6</sup>	1,92*10 <sup>6</sup>	2,61*10 <sup>6</sup>	1,97*10 <sup>6</sup>	6,29 ± 0,09	
	3	2,94*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>6</sup>	4,94*10 <sup>6</sup>	3,69*10 <sup>6</sup>	6,06*10 <sup>6</sup>	4,02*10 <sup>6</sup>	6,60 ± 0,16	
	5	7,31*10 <sup>6</sup>	5,73*10 <sup>6</sup>	8,98*10 <sup>6</sup>	6,71*10 <sup>6</sup>	9,66*10 <sup>6</sup>	7,68*10 <sup>6</sup>	6,89 ± 0,09	
	7	9,10*10 <sup>6</sup>	1,18*10 <sup>7</sup>	1,70*10 <sup>7</sup>	1,48*10 <sup>7</sup>	2,01*10 <sup>7</sup>	1,45*10 <sup>7</sup>	7,16 ± 0,14	
	10	1,99*10 <sup>7</sup>	3,50*10 <sup>7</sup>	4,84*10 <sup>7</sup>	3,71*10 <sup>7</sup>	5,75*10 <sup>7</sup>	3,96*10 <sup>7</sup>	7,60 ± 0,18	
HVS 4: Nachweis von <i>Leuconostoc carnosum</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-SF 43	0	1,54*10 <sup>6</sup>	1,22*10 <sup>6</sup>	1,61*10 <sup>6</sup>	1,34*10 <sup>6</sup>	1,55*10 <sup>6</sup>	1,45*10 <sup>6</sup>	6,16 ± 0,05	
	3	2,13*10 <sup>6</sup>	1,71*10 <sup>6</sup>	2,97*10 <sup>6</sup>	2,17*10 <sup>6</sup>	2,91*10 <sup>6</sup>	2,38*10 <sup>6</sup>	6,38 ± 0,10	
	5	7,48*10 <sup>6</sup>	6,17*10 <sup>6</sup>	1,13*10 <sup>7</sup>	9,19*10 <sup>6</sup>	1,04*10 <sup>7</sup>	8,91*10 <sup>6</sup>	6,95 ± 0,11	
	7	1,18*10 <sup>7</sup>	1,49*10 <sup>7</sup>	2,36*10 <sup>7</sup>	2,71*10 <sup>7</sup>	2,91*10 <sup>7</sup>	2,13*10 <sup>7</sup>	7,33 ± 0,17	
	10	2,76*10 <sup>7</sup>	2,37*10 <sup>7</sup>	3,75*10 <sup>7</sup>	5,88*10 <sup>7</sup>	7,31*10 <sup>7</sup>	4,41*10 <sup>7</sup>	7,64 ± 0,21	

**Tabelle 22: HVS 4: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von *Salmonella enterica* in Putenoberkeulenhackfleisch**

HVS 4: quantitativer Nachweis von <i>Salmonella enterica</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	3,50*10 <sup>3</sup>	8,05*10 <sup>3</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,23*10 <sup>4</sup>	2,55*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	4,08 ± 0,31	
	3	3,70*10 <sup>3</sup>	8,25*10 <sup>3</sup>	1,63*10 <sup>4</sup>	1,70*10 <sup>4</sup>	2,20*10 <sup>4</sup>	1,35*10 <sup>4</sup>	4,13 ± 0,31	
	5	4,30*10 <sup>3</sup>	9,20*10 <sup>3</sup>	1,70*10 <sup>4</sup>	2,25*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	1,46*10 <sup>4</sup>	4,16 ± 0,30	
	7	6,50*10 <sup>3</sup>	1,40*10 <sup>4</sup>	2,90*10 <sup>4</sup>	2,90*10 <sup>4</sup>	1,90*10 <sup>4</sup>	1,95*10 <sup>5</sup>	4,29 ± 0,27	
	10	8,50*10 <sup>3</sup>	2,55*10 <sup>4</sup>	3,70*10 <sup>4</sup>	3,30*10 <sup>5</sup>	2,30*10 <sup>4</sup>	2,54*10 <sup>5</sup>	4,40 ± 0,25	

HVS 4: Fortsetzung quantitativer Nachweis von <i>Salmonella enterica</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
B-LC 20	0	6,03*10 <sup>3</sup>	7,28*10 <sup>3</sup>	8,30*10 <sup>3</sup>	1,13*10 <sup>4</sup>	2,13*10 <sup>4</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	4,04 ± 0,21	0,362
	3	6,25*10 <sup>3</sup>	7,25*10 <sup>3</sup>	8,25*10 <sup>3</sup>	9,50*10 <sup>3</sup>	1,58*10 <sup>4</sup>	9,40*10 <sup>3</sup>	3,97 ± 0,15	0,122
	5	5,75*10 <sup>3</sup>	6,00*10 <sup>3</sup>	7,50*10 <sup>3</sup>	8,75*10 <sup>3</sup>	9,00*10 <sup>3</sup>	7,40*10 <sup>3</sup>	3,87 ± 0,09	0,060
	7	4,70*10 <sup>3</sup>	5,98*10 <sup>3</sup>	4,80*10 <sup>3</sup>	8,05*10 <sup>3</sup>	8,95*10 <sup>3</sup>	6,49*10 <sup>3</sup>	3,81 ± 0,13	0,036
	10	2,65*10 <sup>3</sup>	3,80*10 <sup>3</sup>	4,50*10 <sup>3</sup>	5,85*10 <sup>3</sup>	7,60*10 <sup>3</sup>	4,88*10 <sup>3</sup>	3,69 ± 0,18	0,011
B-SF 43	0	1,00*10 <sup>4</sup>	0,80*10 <sup>4</sup>	1,35*10 <sup>4</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	1,10*10 <sup>4</sup>	4,04 ± 0,09	0,128
	3	0,85*10 <sup>4</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	1,65*10 <sup>4</sup>	1,75*10 <sup>4</sup>	1,29*10 <sup>4</sup>	4,11 ± 0,13	0,125
	5	0,80*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	1,35*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,25*10 <sup>4</sup>	1,17*10 <sup>4</sup>	4,07 ± 0,11	0,003
	7	1,30*10 <sup>4</sup>	0,70*10 <sup>4</sup>	1,35*10 <sup>4</sup>	1,05*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	1,11*10 <sup>4</sup>	4,05 ± 0,11	0,003
	10	1,15*10 <sup>4</sup>	0,85*10 <sup>4</sup>	0,75*10 <sup>4</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	1,50*10 <sup>4</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	4,03 ± 0,12	0,014
HVS 4: Nachweis von <i>Pediococcus acidilactici</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-LC 20	0	2,32*10 <sup>6</sup>	2,06*10 <sup>6</sup>	2,99*10 <sup>6</sup>	1,95*10 <sup>6</sup>	2,84*10 <sup>6</sup>	2,43*10 <sup>6</sup>	6,39 ± 0,08	
	3	2,84*10 <sup>6</sup>	5,67*10 <sup>6</sup>	4,81*10 <sup>6</sup>	2,85*10 <sup>6</sup>	7,36*10 <sup>6</sup>	4,71*10 <sup>6</sup>	6,67 ± 0,18	
	5	5,91*10 <sup>6</sup>	8,40*10 <sup>6</sup>	9,67*10 <sup>6</sup>	4,17*10 <sup>6</sup>	9,85*10 <sup>6</sup>	7,60*10 <sup>6</sup>	6,88 ± 0,16	
	7	9,66*10 <sup>6</sup>	1,66*10 <sup>7</sup>	2,04*10 <sup>7</sup>	7,94*10 <sup>6</sup>	2,49*10 <sup>7</sup>	1,59*10 <sup>7</sup>	7,20 ± 0,21	
	10	2,37*10 <sup>7</sup>	3,84*10 <sup>7</sup>	4,24*10 <sup>7</sup>	1,95*10 <sup>7</sup>	3,83*10 <sup>7</sup>	3,25*10 <sup>7</sup>	7,51 ± 0,15	
HVS 4: Nachweis von <i>Leuconostoc carnosum</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-SF 43	0	1,22*10 <sup>6</sup>	1,35*10 <sup>6</sup>	1,60*10 <sup>6</sup>	1,48*10 <sup>6</sup>	2,14*10 <sup>6</sup>	1,56*10 <sup>6</sup>	6,19 ± 0,09	
	3	1,78*10 <sup>6</sup>	1,58*10 <sup>6</sup>	2,91*10 <sup>6</sup>	3,49*10 <sup>6</sup>	4,71*10 <sup>6</sup>	2,90*10 <sup>6</sup>	6,46 ± 0,20	
	5	3,67*10 <sup>6</sup>	5,66*10 <sup>6</sup>	7,29*10 <sup>6</sup>	1,02*10 <sup>7</sup>	7,83*10 <sup>6</sup>	6,94*10 <sup>6</sup>	6,84 ± 0,17	
	7	6,90*10 <sup>6</sup>	1,98*10 <sup>7</sup>	1,65*10 <sup>7</sup>	2,51*10 <sup>7</sup>	1,58*10 <sup>7</sup>	1,68*10 <sup>7</sup>	7,23 ± 0,21	
	10	2,32*10 <sup>7</sup>	3,17*10 <sup>7</sup>	5,79*10 <sup>7</sup>	5,70*10 <sup>7</sup>	2,83*10 <sup>7</sup>	3,96*10 <sup>7</sup>	7,60 ± 0,18	

Tabelle 23: HVS 4: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von *Staphylococcus aureus* in Putenoberkeulenhackfleisch

HVS 4: quantitativer Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	8,80*10 <sup>3</sup>	9,10*10 <sup>3</sup>	9,35*10 <sup>3</sup>	9,40*10 <sup>3</sup>	9,75*10 <sup>3</sup>	9,28*10 <sup>3</sup>	3,97 ± 0,02	
	3	4,15*10 <sup>4</sup>	4,35*10 <sup>4</sup>	4,65*10 <sup>4</sup>	4,80*10 <sup>4</sup>	5,30*10 <sup>4</sup>	4,65*10 <sup>4</sup>	4,67 ± 0,04	
	5	3,00*10 <sup>4</sup>	5,50*10 <sup>4</sup>	6,00*10 <sup>4</sup>	7,00*10 <sup>4</sup>	1,10*10 <sup>5</sup>	6,50*10 <sup>4</sup>	4,81 ± 0,20	
	7	3,70*10 <sup>4</sup>	4,40*10 <sup>5</sup>	4,55*10 <sup>5</sup>	4,75*10 <sup>5</sup>	5,65*10 <sup>4</sup>	2,93*10 <sup>5</sup>	5,47 ± 0,55	
	10	1,75*10 <sup>5</sup>	3,30*10 <sup>5</sup>	3,85*10 <sup>5</sup>	4,20*10 <sup>5</sup>	5,55*10 <sup>5</sup>	3,73*10 <sup>5</sup>	5,57 ± 0,19	
B-LC 20	0	8,50*10 <sup>3</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	1,10*10 <sup>4</sup>	1,25*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	1,10*10 <sup>4</sup>	4,04 ± 0,07	0,062
	3	1,15*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,70*10 <sup>4</sup>	2,00*10 <sup>4</sup>	2,60*10 <sup>4</sup>	1,78*10 <sup>4</sup>	4,25 ± 0,13	0,000
	5	1,00*10 <sup>4</sup>	3,00*10 <sup>4</sup>	5,00*10 <sup>4</sup>	4,50*10 <sup>4</sup>	4,50*10 <sup>4</sup>	3,60*10 <sup>4</sup>	4,56 ± 0,29	0,037
	7	2,00*10 <sup>4</sup>	3,40*10 <sup>4</sup>	3,55*10 <sup>4</sup>	3,80*10 <sup>4</sup>	4,30*10 <sup>4</sup>	3,41*10 <sup>4</sup>	4,53 ± 0,13	0,060
	10	3,55*10 <sup>4</sup>	3,80*10 <sup>4</sup>	3,45*10 <sup>4</sup>	3,75*10 <sup>4</sup>	3,50*10 <sup>4</sup>	3,61*10 <sup>4</sup>	4,56 ± 0,02	0,006

<b>HVS 4: Fortsetzung quantitativer Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	Signifikanz
B-SF 43	0	1,20*10 <sup>4</sup>	9,50*10 <sup>3</sup>	1,15*10 <sup>4</sup>	1,10*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	1,08*10 <sup>4</sup>	4,03 ± 0,04	0,799
	3	1,45*10 <sup>4</sup>	1,65*10 <sup>4</sup>	1,00*10 <sup>4</sup>	1,10*10 <sup>4</sup>	1,45*10 <sup>4</sup>	1,33*10 <sup>4</sup>	4,12 ± 0,09	0,628
	5	2,65*10 <sup>4</sup>	4,00*10 <sup>4</sup>	1,30*10 <sup>4</sup>	1,20*10 <sup>4</sup>	1,95*10 <sup>4</sup>	2,22*10 <sup>4</sup>	4,35 ± 0,22	0,120
	7	5,50*10 <sup>4</sup>	9,25*10 <sup>4</sup>	1,17*10 <sup>5</sup>	1,01*10 <sup>5</sup>	7,55*10 <sup>4</sup>	8,81*10 <sup>4</sup>	4,94 ± 0,13	0,722
	10	1,28*10 <sup>5</sup>	1,68*10 <sup>5</sup>	1,44*10 <sup>5</sup>	1,99*10 <sup>5</sup>	1,86*10 <sup>5</sup>	1,65*10 <sup>5</sup>	5,22 ± 0,08	0,175
<b>HVS 4: Nachweis von <i>Pediococcus acidilactici</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-LC 20	0	1,55*10 <sup>6</sup>	1,95*10 <sup>6</sup>	1,11*10 <sup>6</sup>	1,68*10 <sup>6</sup>	2,19*10 <sup>6</sup>	1,70*10 <sup>6</sup>	6,23 ± 0,11	
	3	2,51*10 <sup>6</sup>	3,83*10 <sup>6</sup>	2,40*10 <sup>6</sup>	3,91*10 <sup>6</sup>	5,54*10 <sup>6</sup>	3,64*10 <sup>6</sup>	6,56 ± 0,15	
	5	4,87*10 <sup>6</sup>	7,04*10 <sup>6</sup>	8,38*10 <sup>6</sup>	7,39*10 <sup>6</sup>	1,29*10 <sup>7</sup>	8,11*10 <sup>6</sup>	6,91 ± 0,15	
	7	8,02*10 <sup>6</sup>	1,25*10 <sup>7</sup>	1,52*10 <sup>7</sup>	1,65*10 <sup>7</sup>	2,95*10 <sup>7</sup>	1,63*10 <sup>7</sup>	7,21 ± 0,21	
	10	1,32*10 <sup>7</sup>	2,85*10 <sup>7</sup>	3,71*10 <sup>7</sup>	5,66*10 <sup>7</sup>	7,81*10 <sup>7</sup>	4,27*10 <sup>7</sup>	7,63 ± 0,30	
<b>HVS 4: Nachweis von <i>Leuconostoc carnosum</i></b>									
Probe	Lagertag	V 1 (KbE/g)	V 2 (KbE/g)	V 3 (KbE/g)	V 4 (KbE/g)	V 5 (KbE/g)	MW (KbE/g)	log KbE/g ± SD	
B-SF 43	0	1,84*10 <sup>6</sup>	1,50*10 <sup>6</sup>	1,17*10 <sup>6</sup>	1,89*10 <sup>6</sup>	1,26*10 <sup>6</sup>	1,53*10 <sup>6</sup>	6,19 ± 0,09	
	3	2,88*10 <sup>6</sup>	2,50*10 <sup>6</sup>	2,98*10 <sup>6</sup>	4,69*10 <sup>6</sup>	2,25*10 <sup>6</sup>	3,06*10 <sup>6</sup>	6,49 ± 0,12	
	5	5,69*10 <sup>6</sup>	5,96*10 <sup>6</sup>	6,06*10 <sup>6</sup>	9,20*10 <sup>6</sup>	7,52*10 <sup>6</sup>	6,88*10 <sup>6</sup>	6,84 ± 0,09	
	7	1,19*10 <sup>7</sup>	9,68*10 <sup>6</sup>	9,09*10 <sup>6</sup>	2,36*10 <sup>7</sup>	1,20*10 <sup>7</sup>	1,32*10 <sup>7</sup>	7,12 ± 0,16	
	10	2,10*10 <sup>7</sup>	1,93*10 <sup>7</sup>	2,97*10 <sup>7</sup>	4,81*10 <sup>7</sup>	2,41*10 <sup>7</sup>	2,85*10 <sup>7</sup>	7,45 ± 0,16	

Tabelle 24: Physikalische Untersuchungsergebnisse des Vorversuches 1

VVS 1: Ermittelte pH-Werte der Hackfleischproben bei +2 °C								
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	5,87	5,88	5,87			5,87 ± 0,01	
	1	5,85	5,89	5,85			5,86 ± 0,02	
	3	5,51	5,89	5,77			5,72 ± 0,19	
	5	5,68	6,01	5,71			5,80 ± 0,18	
	7	5,78	5,85	5,66			5,76 ± 0,10	
	9	5,86	5,86	5,70			5,81 ± 0,09	
	10	5,91	6,02	5,82			5,92 ± 0,10	
B-LC 20	0	5,87	5,84	5,87			5,86 ± 0,02	0,423
	1	5,8	5,81	5,76			5,79 ± 0,03	0,026
	3	5,7	5,82	5,68			5,73 ± 0,08	0,922
	5	5,6	5,75	5,56			5,64 ± 0,10	0,089
	7	5,61	5,78	5,57			5,65 ± 0,11	0,069
	9	5,59	5,81	5,57			5,66 ± 0,13	0,145
	10	5,69	5,87	5,67			5,74 ± 0,11	0,018
B-SF 43	0	5,87	5,87	5,88			5,87 ± 0,01	1,000
	1	5,76	5,82	5,79			5,79 ± 0,03	0,014
	3	5,68	5,53	5,45			5,55 ± 0,12	0,424
	5	5,65	5,54	5,42			5,54 ± 0,12	0,175
	7	5,57	5,48	5,4			5,48 ± 0,09	0,027
	9	5,68	5,51	5,52			5,57 ± 0,10	0,053
	10	5,69	5,55	5,55			5,60 ± 0,08	0,053
VVS 1: Ermittelte pH-Werte der Hackfleischproben bei +7 °C								
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	5,87	5,88	5,87			5,87 ± 0,01	
	1	5,84	5,89	5,8			5,84 ± 0,05	
	3	5,8	5,91	5,8			5,84 ± 0,06	
	5	5,77	6,05	6,01			5,94 ± 0,15	
	7	5,95	6,1	6,2			6,08 ± 0,13	
	9	6,15	6,13	6,29			6,19 ± 0,09	
	10	6,27	6,19	6,23			6,23 ± 0,04	
B-LC 20	0	5,84	5,87	5,87			5,86 ± 0,02	0,270
	1	5,86	5,85	5,8			5,84 ± 0,03	0,742
	3	5,82	5,82	5,7			5,78 ± 0,07	0,278
	5	5,9	5,49	5,7			5,70 ± 0,21	0,346
	7	5,73	5,51	5,68			5,64 ± 0,12	0,060
	9	5,99	6,07	5,89			5,98 ± 0,09	0,177
	10	6,05	6,09	5,93			6,02 ± 0,08	0,071
B-SF 43	0	5,87	5,87	5,83			5,86 ± 0,02	0,300
	1	5,8	5,85	5,81			5,82 ± 0,03	0,296
	3	5,7	5,82	5,76			5,76 ± 0,06	0,054
	5	5,37	5,49	5,55			5,47 ± 0,09	0,010
	7	5,6	5,51	5,53			5,55 ± 0,05	0,031
	9	5,65	5,97	5,79			5,80 ± 0,16	0,076
	10	5,73	5,99	5,81			5,84 ± 0,13	0,060

Tabelle 25: Ermittelte pH-Werte des VVS 3

VVS 3: Ermittelte pH-Werte der Hackfleischproben									
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	MW $\pm$ SD		Signifikanz
Kontrolle	0	5,81	5,98	5,88	5,88	5,87	5,88	0,06	
	3	5,80	5,86	5,75	5,86	5,70	5,79	0,07	
	5	5,74	5,84	5,74	5,84	5,76	5,78	0,05	
	7	5,90	5,83	5,90	5,83	5,73	5,84	0,07	
	10	6,03	5,95	6,03	5,95	5,91	5,97	0,05	
B-LC 20 0,2 g/kg	0	5,78	5,79	5,78	5,79	5,86	5,80	0,03	0,056
	3	5,73	5,71	5,73	5,71	5,68	5,71	0,02	0,048
	5	5,67	5,79	5,67	5,70	5,63	5,67	0,03	0,003
	7	5,75	5,70	5,74	5,69	5,62	5,70	0,05	0,000
	10	5,67	5,80	5,67	5,90	5,72	5,73	0,07	0,008
B-LC 20 0,4 g/kg	0	5,74	5,77	5,75	5,74	5,75	5,75	0,01	0,004
	3	5,71	5,70	5,69	5,71	5,70	5,70	0,01	0,036
	5	5,64	5,65	5,63	5,60	5,65	5,63	0,02	0,006
	7	5,69	5,70	5,72	5,69	5,67	5,69	0,02	0,005
	10	5,71	5,72	5,70	5,72	5,69	5,71	0,01	0,001
B-LC 20 0,6 g/kg	0	5,75	5,73	5,74	5,72	5,71	5,73	0,02	0,007
	3	5,66	5,70	5,70	5,69	5,68	5,69	0,02	0,024
	5	5,63	5,63	5,65	5,62	5,64	5,63	0,01	0,005
	7	5,70	5,68	5,69	5,64	5,65	5,67	0,03	0,002
	10	5,70	5,71	5,69	5,66	5,64	5,68	0,00	0,000
B-LC 20 0,8 g/kg	0	5,70	5,70	5,68	5,70	5,69	5,69	0,01	0,002
	3	5,62	5,67	5,66	5,64	5,65	5,65	0,02	0,011
	5	5,64	5,62	5,61	5,62	5,63	5,62	0,01	0,003
	7	5,63	5,64	5,60	5,62	5,65	5,63	0,02	0,005
	10	5,65	5,64	5,61	5,63	5,68	5,64	0,03	0,001
B-SF 43 0,2 g/kg	0	5,78	5,75	5,72	5,86	5,68	5,76	0,07	0,042
	3	5,72	5,64	5,72	5,78	5,57	5,69	0,08	0,029
	5	5,63	5,62	5,68	5,60	5,55	5,62	0,05	0,009
	7	5,67	5,65	5,78	5,64	5,58	5,66	0,07	0,001
	10	5,60	5,69	5,66	5,65	5,56	5,63	0,05	0,000
B-SF 43 0,4 g/kg	0	5,73	5,72	5,71	5,76	5,73	5,73	0,02	0,007
	3	5,70	5,61	5,71	5,63	5,59	5,65	0,05	0,022
	5	5,60	5,57	5,62	5,58	5,54	5,58	0,03	0,003
	7	5,65	5,62	5,64	5,61	5,59	5,62	0,02	0,001
	10	5,63	5,61	5,59	5,58	5,61	5,60	0,02	0,000
B-SF 43 0,6 g/kg	0	5,72	5,67	5,72	5,70	5,69	5,70	0,02	0,007
	3	5,65	5,61	5,63	5,60	5,61	5,62	0,02	0,007
	5	5,58	5,55	5,52	5,50	5,54	5,54	0,03	0,001
	7	5,60	5,58	5,55	5,61	5,57	5,58	0,02	0,001
	10	5,59	5,60	5,57	5,61	5,58	5,59	0,02	0,001
B-SF 43 0,8 g/kg	0	5,67	5,68	5,68	5,69	5,66	5,58	0,01	0,001
	3	5,60	5,59	5,60	5,58	5,60	5,59	0,01	0,004
	5	5,51	5,53	5,51	5,47	5,46	5,50	0,03	0,000
	7	5,55	5,52	5,48	5,47	5,49	5,50	0,03	0,000
	10	5,57	5,58	5,52	5,50	5,49	5,53	0,04	0,000

Tabelle 26: Physikalische Untersuchungsergebnisse des HVS 1

HVS 1: Ermittelte pH-Werte der Hackfleischproben								
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	5,81	5,98	5,88	5,88	5,87	5,88 ± 0,06	
	3	5,80	5,86	5,75	5,86	5,70	5,79 ± 0,07	
	5	5,74	5,84	5,74	5,84	5,76	5,78 ± 0,05	
	7	5,90	5,83	5,90	5,83	5,73	5,84 ± 0,07	
	10	6,03	5,95	6,03	5,95	5,91	5,97 ± 0,05	
B-LC 20	0	5,78	5,79	5,78	5,79	5,86	5,80 ± 0,03	0,056
	3	5,73	5,71	5,73	5,71	5,68	5,71 ± 0,02	0,051
	5	5,67	5,70	5,67	5,70	5,63	5,67 ± 0,03	0,003
	7	5,89	5,79	5,79	5,79	5,62	5,78 ± 0,10	0,037
	10	5,67	5,80	5,67	5,8	5,72	5,73 ± 0,07	0,008
B-SF 43	0	5,78	5,75	5,72	5,86	5,68	5,76 ± 0,07	0,042
	3	5,72	5,64	5,72	5,78	5,57	5,69 ± 0,08	0,029
	5	5,63	5,62	5,68	5,60	5,55	5,62 ± 0,05	0,009
	7	5,67	5,65	5,78	5,64	5,58	5,66 ± 0,07	0,001
	10	5,60	5,69	5,66	5,65	5,56	5,63 ± 0,05	0,001
HVS 1: Ermittelte a <sub>w</sub> -Werte der Hackfleischproben								
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	0,99	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99 ± 0,004	
	3	0,99	0,98	0,99	0,98	0,99	0,99 ± 0,005	
	5	0,98	0,98	0,97	0,99	0,99	0,98 ± 0,008	
	7	0,98	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98 ± 0,005	
	10	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,004	
B-LC 20	0	0,98	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98 ± 0,005	0,178
	3	0,98	0,98	0,99	0,98	0,98	0,98 ± 0,004	0,178
	5	0,98	0,98	0,98	0,99	0,98	0,98 ± 0,004	1,000
	7	0,98	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98 ± 0,005	1,000
	10	0,99	0,98	0,99	0,99	0,98	0,99 ± 0,005	0,374
B-SF 43	0	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99 ± 0,004	1,000
	3	0,98	0,98	0,99	0,98	0,97	0,98 ± 0,007	0,208
	5	0,98	0,98	0,97	0,99	0,97	0,98 ± 0,008	0,374
	7	0,98	0,99	0,98	0,99	0,97	0,98 ± 0,008	0,374
	10	0,99	0,99	0,98	0,98	0,98	0,98 ± 0,005	0,374

Tabelle 27: Physikalische Untersuchungsergebnisse des HVS 2

HVS 2: Ermittelte pH-Werte der Hackfleischproben										
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	6,09	6,06	5,92	6,09	6,13	6,04	6,04	6,06 ± 0,07	
	3	6,02	6,05	6,00	6,07	6,10	6,05	6,05	6,05 ± 0,03	
	5	5,97	5,96	5,99	6,00	6,10	6,13	5,98	6,02 ± 0,07	
	7	6,06	5,98	5,99	6,03	6,12	6,03	6,10	6,04 ± 0,05	
	10	6,06	6,05	6,02	6,07	6,16	6,01	6,01	6,05 ± 0,05	
B-LC 20	0	6,00	6,03	5,95	6,01	6,13	6,03	5,97	6,02 ± 0,06	0,075
	3	5,99	6,00	5,98	6,02	6,08	6,00	5,96	6,00 ± 0,04	0,005
	5	6,00	5,96	6,02	6,06	6,16	6,03	5,94	6,03 ± 0,07	0,784
	7	6,10	5,97	5,92	6,00	6,12	5,99	5,98	6,01 ± 0,07	0,130
	10	6,00	6,01	6,00	6,00	6,04	5,91	5,99	5,99 ± 0,04	0,006
B-SF 43	0	5,99	6,01	5,98	6,01	6,14	5,94	5,96	6,00 ± 0,07	0,070
	3	5,91	5,91	5,96	5,96	6,08	5,91	5,71	5,92 ± 0,11	0,022
	5	5,90	5,70	5,80	5,74	6,01	5,70	5,69	5,79 ± 0,12	0,003
	7	5,81	5,82	5,73	5,89	5,93	5,50	5,57	5,75 ± 0,16	0,004
	10	5,61	5,71	5,78	5,85	5,98	5,50	5,55	5,71 ± 0,17	0,001
HVS 2: Ermittelte a <sub>w</sub> -Werte der Hackfleischproben										
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	MW ± SD	Signifikanz	
Kontrolle	0	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,003	
	3	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,002	
	5	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,002	
	7	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99 ± 0,003	
	10	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,001	
B-LC 20	0	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,003	0,902
	3	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,002	0,876
	5	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,002	0,901
	7	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99 ± 0,003	0,958
	10	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,001	0,945
B-SF 43	0	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,003	0,902
	3	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,003	0,855
	5	0,99	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,003	0,885
	7	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,002	0,941
	10	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99 ± 0,002	0,988

Tabelle 28: Ergebnisse der chemischen Vollanalysen

Chemische Vollanalyse der Hackfleischproben										
Probe	Parameter	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	MW ± SD	Signifikanz	
									Flügel/ Brust	Keule/ Flügel
Putenflügel	Asche	1,01	1,02	1,03	1,08	0,89	1,07	<b>1,02 ± 0,07</b>	0,988	0,848
	Trockensubstanz	25,45	26,57	26,71	27,49	30,66	25,12	<b>27,00 ± 1,99</b>	0,995	0,853
	Gesamtwasser	74,55	73,43	73,29	72,51	69,34	74,88	<b>73,00 ± 1,99</b>	0,995	0,853
	Gesamtfett	5,53	1,96	1,02	1,97	12,60	2,99	<b>4,34 ± 4,33</b>	0,510	0,922
	Gesamteiweiß	18,45	24,35	24,61	24,35	17,28	20,52	<b>21,59 ± 3,29</b>	0,301	0,884
	ONF	18,91	23,60	24,66	24,44	17,18	21,05	<b>21,64 ± 3,11</b>	0,390	0,786
	HP	0,13	0,08	0,07	0,04	0,12	0,11	<b>0,09 ± 0,03</b>	0,671	0,342
	BE	1,02	0,64	0,58	0,30	1,00	0,86	<b>0,73 ± 0,28</b>	0,671	0,342
	BEFFE	17,43	23,71	24,03	24,05	16,28	19,67	<b>20,86 ± 3,54</b>	0,817	0,826
	BEFFE/FE	94,48	97,39	97,65	98,77	94,23	95,83	<b>96,39 ± 1,84</b>	0,422	0,541
	BE/FE	5,52	2,61	2,35	1,23	5,77	4,17	<b>3,61 ± 1,84</b>	0,422	0,541
Fremd H <sub>2</sub> O	-0,76	-23,95	-25,15	-24,91	-0,22	-7,20	<b>-13,37 ± 12,70</b>	0,305	0,848	
Analysensumme	99,53	100,75	99,95	99,91	100,10	99,47	<b>99,95 ± 0,46</b>	0,167	0,525	
Putenbrust	Asche	0,93	1,01	0,98	1,00	1,10	1,06	<b>1,02 ± 0,06</b>	0,988	0,657
	Trockensubstanz	27,61	26,89	26,87	27,13	27,76	25,73	<b>27,00 ± 0,72</b>	0,995	0,819
	Gesamtwasser	72,39	73,11	73,13	72,87	72,24	74,27	<b>73,00 ± 0,72</b>	0,995	0,819
	Gesamtfett	5,56	1,67	1,60	4,86	1,90	2,24	<b>2,97 ± 1,76</b>	0,510	0,341
	Gesamteiweiß	21,83	25,02	24,47	21,56	24,92	21,79	<b>23,26 ± 1,70</b>	0,301	0,090
	ONF	21,12	24,21	24,29	21,26	24,76	22,42	<b>23,01 ± 1,62</b>	0,390	0,075
	HP	0,16	0,04	0,07	0,23	0,06	0,10	<b>0,11 ± 0,07</b>	0,671	0,826
	BE	1,25	0,30	0,58	1,81	0,48	0,77	<b>0,86 ± 0,57</b>	0,671	0,826
	BEFFE	20,58	24,73	10,13	19,75	24,44	21,02	<b>20,11 ± 5,31</b>	0,817	0,921
	BEFFE/FE	94,26	98,82	87,29	91,60	98,09	96,46	<b>94,42 ± 4,38</b>	0,422	0,414
	BE/FE	5,74	1,18	12,71	8,40	1,91	3,54	<b>5,58 ± 4,38</b>	0,422	0,414
Fremd H <sub>2</sub> O	-14,93	-26,97	-23,10	-13,36	27,44	-12,90	<b>-19,78 ± 6,83</b>	0,305	0,067	
Analysensumme	100,72	100,82	100,18	100,30	100,16	99,37	<b>100,26 ± 0,51</b>	0,167	0,815	
Putenkeule	Asche	0,98	1,03	1,00	0,88	1,09	1,05	<b>1,00 ± 0,07</b>	0,848	0,657
	Trockensubstanz	26,23	25,97	27,57	31,37	25,23	24,17	<b>26,76 ± 2,52</b>	0,853	0,819
	Gesamtwasser	73,77	74,03	72,43	68,63	74,77	75,83	<b>73,24 ± 2,52</b>	0,853	0,819
	Gesamtfett	2,03	3,92	4,50	13,09	1,64	2,75	<b>4,65 ± 4,27</b>	0,922	0,341
	Gesamteiweiß	23,66	20,53	22,25	17,31	23,14	20,75	<b>21,27 ± 2,31</b>	0,884	0,090
	ONF	23,22	21,02	22,07	17,40	22,49	20,38	<b>21,10 ± 2,08</b>	0,786	0,075
	HP	0,12	0,11	0,18	0,11	0,10	0,08	<b>0,12 ± 0,04</b>	0,342	0,826
	BE	0,97	0,88	1,47	0,86	0,78	0,60	<b>0,93 ± 0,29</b>	0,342	0,826
	BEFFE	22,69	19,65	20,79	16,45	22,36	20,14	<b>20,35 ± 2,26</b>	0,826	0,921
	BEFFE/FE	95,89	95,72	93,41	95,01	96,64	97,09	<b>95,63 ± 1,31</b>	0,541	0,414
	BE/FE	4,11	4,28	6,59	4,99	3,36	2,91	<b>4,37 ± 1,31</b>	0,541	0,414
Fremd H <sub>2</sub> O	-20,87	-8,08	-16,58	-0,62	-17,79	-7,16	<b>-11,85 ± 7,76</b>	0,848	0,067	
Analysensumme	100,44	99,50	100,18	99,92	100,65	100,37	<b>100,18 ± 0,41</b>	0,525	0,815	

Tabelle 29: HVS 2: Ergebnisse der instrumentellen Farbmessungen

HVS 2: Ermittelte L*-Werte der Hackfleischproben										
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	50,72	50,24	51,85	55,08	53,78	52,94	50,97	52,23 ± 1,78	
	3	51,44	50,02	51,32	54,73	53,55	52,28	53,99	52,47 ± 1,68	
	5	51,81	50,86	51,86	56,76	53,73	52,73	56,02	53,40 ± 2,24	
	7	50,15	51,39	52,37	57,36	55,27	54,22	57,36	54,02 ± 2,84	
	10	50,32	52,79	53,48	58,27	55,34	54,64	58,12	54,71 ± 2,86	
B-LC 20	0	51,20	51,12	51,39	54,86	52,13	51,35	51,20	51,89 ± 1,35	0,407
	3	51,62	50,53	50,90	53,91	51,83	52,39	52,42	51,94 ± 1,12	0,160
	5	51,58	50,79	51,41	55,59	52,24	53,13	54,93	52,81 ± 1,84	0,063
	7	50,42	50,79	51,22	55,63	52,18	53,13	57,65	53,00 ± 2,71	0,064
	10	52,12	52,43	52,41	56,93	52,46	55,86	60,56	54,68 ± 3,23	0,970
B-SF 43	0	51,10	50,44	52,51	53,61	54,58	51,49	51,44	52,17 ± 1,48	0,882
	3	52,17	50,89	52,41	54,14	53,01	52,11	54,56	52,76 ± 1,27	0,324
	5	51,31	51,36	52,79	54,61	54,22	53,60	57,00	53,56 ± 2,00	0,724
	7	51,72	51,77	53,86	57,14	53,77	54,64	59,02	54,56 ± 2,69	0,261
	10	53,55	53,54	53,94	56,99	54,20	56,12	59,57	55,42 ± 2,27	0,281
HVS 2: Ermittelte a*-Werte der Hackfleischproben										
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	12,45	17,65	16,83	09,98	14,13	15,61	12,29	14,13 ± 2,75	
	3	16,56	16,60	15,89	09,25	11,90	14,16	11,27	13,66 ± 2,90	
	5	14,35	14,76	14,34	08,76	11,67	12,09	08,93	12,13 ± 2,53	
	7	14,86	14,43	14,20	07,89	11,42	11,26	08,27	11,76 ± 2,89	
	10	13,97	13,05	12,80	07,29	10,68	11,59	07,25	10,95 ± 2,72	
B-LC 20	0	13,79	16,72	17,24	11,40	13,84	11,81	14,29	14,16 ± 2,21	0,978
	3	13,77	16,58	15,85	10,51	12,71	14,25	14,79	14,06 ± 2,02	0,591
	5	15,42	15,44	14,16	09,68	12,65	13,52	08,82	12,81 ± 2,64	0,024
	7	15,59	14,30	14,47	08,72	12,29	12,91	07,04	12,19 ± 3,17	0,264
	10	13,99	12,47	12,38	07,74	10,52	09,44	06,24	10,40 ± 2,78	0,137
B-SF 43	0	09,69	17,36	17,16	12,13	13,92	10,18	14,41	13,55 ± 3,07	0,589
	3	13,64	16,12	16,26	09,90	12,11	11,25	12,53	13,12 ± 2,39	0,429
	5	15,69	15,47	14,66	10,74	11,49	09,26	11,14	12,64 ± 2,58	0,457
	7	15,23	14,60	13,58	10,10	11,23	11,66	09,43	12,26 ± 2,24	0,203
	10	13,29	14,10	11,35	08,80	10,69	08,73	07,74	10,67 ± 2,41	0,651

HVS 2: Ermittelte b*-Werte der Hackfleischproben										
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	MW ± SD	Signifikanz
Kontrolle	0	13,77	17,08	17,59	14,87	16,46	13,41	15,00	15,46 ± 1,62	
	3	17,05	16,69	16,98	14,81	16,23	15,06	15,65	16,07 ± 0,91	
	5	16,39	16,37	16,56	16,60	16,18	15,30	16,79	16,31 ± 0,49	
	7	15,36	16,71	16,90	15,70	16,57	15,60	16,93	16,25 ± 0,67	
	10	15,50	17,01	16,77	16,81	16,20	15,71	17,60	16,51 ± 0,75	
B-LC 20	0	13,11	17,24	15,20	15,77	16,44	14,58	17,74	15,73 ± 1,60	0,671
	3	16,89	16,98	17,02	14,50	15,11	15,08	16,06	15,94 ± 1,05	0,538
	5	16,69	16,40	16,49	14,98	15,40	15,19	15,51	15,81 ± 0,70	0,117
	7	16,72	17,07	16,49	15,18	14,90	15,11	16,74	16,03 ± 0,92	0,552
	10	16,32	16,64	16,65	15,68	14,15	15,64	18,02	16,16 ± 1,19	0,365
B-SF 43	0	12,81	17,17	18,29	14,99	16,55	13,42	16,13	15,62 ± 1,99	0,523
	3	17,46	16,78	17,48	14,87	15,47	15,71	16,78	16,36 ± 1,02	0,232
	5	16,50	16,81	17,50	14,99	14,61	17,18	15,26	16,12 ± 1,15	0,733
	7	16,15	16,91	17,26	16,56	15,37	15,32	18,00	16,51 ± 0,98	0,423
	10	16,50	17,67	16,93	15,89	15,16	15,67	18,26	16,58 ± 1,12	0,827

Tabelle 30: Auswertung der hedonischen Prüfung (Rohproben)

HVS 2: Auswertung Aussehen						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	7,21	7,17	7,25	7,21 ± 0,03	
	3	6,71	7,50	7,29	7,17 ± 0,33	
	5	6,00	6,57	6,86	6,48 ± 0,36	
	7	5,52	6,43	7,25	6,43 ± 0,67	
	10	6,00	5,50	4,50	5,33 ± 0,62	
B-LC 20	0	6,90	6,67	7,13	6,90 ± 0,19	0,027
	3	6,43	7,20	7,43	7,02 ± 0,43	0,246
	5	4,93	6,50	6,29	5,90 ± 0,70	0,068
	7	5,14	6,29	6,75	6,06 ± 0,68	0,083
	10	5,31	4,50	4,50	4,77 ± 0,38	0,074

HVS 2: Fortsetzung Auswertung Aussehen						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
B-SF 43	0	5,75	6,00	5,50	5,75 ± 0,20	0,001
	3	3,50	6,67	7,14	5,77 ± 1,62	0,124
	5	3,29	5,79	5,14	4,74 ± 1,06	0,022
	7	5,31	6,57	6,88	6,25 ± 0,68	0,215
	10	3,92	5,00	4,17	4,36 ± 0,46	0,090
Unbekannter Produktstandard	0	6,54	6,83	6,25	6,54 ± 0,24	0,016
	3	4,71	7,50	7,29	6,50 ± 1,27	0,252
	5	5,50	6,29	6,00	5,93 ± 0,32	0,081
	7	6,83	6,43	6,75	6,67 ± 0,17	0,554
	10	6,38	5,67	6,00	6,02 ± 0,29	0,101
HVS 2: Auswertung Geruch						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	6,83	5,63	6,23	6,23 ± 0,60	
	3	6,21	6,17	5,71	6,03 ± 0,23	
	5	5,85	4,43	5,14	5,14 ± 0,58	
	7	5,00	3,86	4,63	4,49 ± 0,48	
	10	5,23	5,50	3,50	4,74 ± 0,89	
B-LC 20	0	6,50	5,50	6,00	6,00 ± 0,50	0,062
	3	5,07	7,00	6,57	6,21 ± 0,83	0,723
	5	4,86	4,64	4,86	4,79 ± 0,10	0,247
	7	5,64	3,86	4,50	4,67 ± 0,74	0,543
	10	5,64	4,67	2,67	4,26 ± 0,18	0,152
B-SF 43	0	6,67	6,02	5,38	6,02 ± 0,65	0,126
	3	4,93	6,17	4,57	5,22 ± 0,68	0,067
	5	4,50	4,00	3,86	4,12 ± 0,28	0,075
	7	4,15	3,43	4,25	3,94 ± 0,37	0,066
	10	3,23	4,17	2,33	3,24 ± 0,75	0,004
Unbekannter Produktstandard	0	6,67	6,27	5,88	6,27 ± 0,40	0,762
	3	4,71	6,33	5,29	5,44 ± 0,67	0,187
	5	4,50	4,21	4,86	4,52 ± 0,26	0,235
	7	5,67	3,00	4,38	4,35 ± 1,09	0,671
	10	5,31	4,67	2,83	4,27 ± 1,05	0,096
HVS 2: Auswertung Textur						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	6,00	6,25	6,50	6,25 ± 0,25	
	3	6,86	7,33	6,57	6,92 ± 0,31	
	5	6,46	6,36	6,71	6,51 ± 0,15	
	7	6,23	7,00	5,63	6,29 ± 0,56	
	10	6,15	5,80	6,83	6,26 ± 0,43	
B-LC 20	0	6,02	6,17	5,88	6,02 ± 0,15	0,062
	3	6,14	7,17	6,14	6,48 ± 0,48	0,110
	5	5,50	6,50	5,57	5,86 ± 0,46	0,245
	7	5,29	6,71	5,88	5,96 ± 0,59	0,444
	10	5,58	5,00	5,25	5,28 ± 0,24	0,085

HVS 2: Fortsetzung Auswertung Textur						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
B-SF 43	0	6,48	6,33	6,63	6,48 ± 0,15	0,666
	3	4,69	7,17	7,00	6,29 ± 1,13	0,336
	5	4,07	5,71	5,71	5,17 ± 0,77	0,128
	7	5,69	6,00	6,00	5,90 ± 0,15	0,438
	10	5,54	6,40	6,67	6,20 ± 0,48	0,880
Unbekannter Produktstandard	0	6,52	6,33	6,71	6,52 ± 0,19	0,394
	3	5,00	7,00	6,86	6,29 ± 0,91	0,253
	5	5,71	5,71	5,86	5,76 ± 0,08	0,007
	7	6,50	6,00	4,88	5,79 ± 0,68	0,170
	10	6,23	6,00	5,67	5,97 ± 0,23	0,567
HVS 2: Auswertung Farbe						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	7,00	7,19	7,38	7,19 ± 0,19	
	3	6,79	7,50	7,29	7,19 ± 0,30	
	5	6,15	6,64	6,57	6,46 ± 0,22	
	7	6,15	6,43	7,00	6,53 ± 0,35	
	10	5,38	6,00	5,33	5,57 ± 0,30	
B-LC 20	0	6,44	5,50	7,38	6,44 ± 0,94	0,500
	3	5,86	7,17	7,43	6,82 ± 0,69	0,352
	5	5,07	6,86	6,43	6,12 ± 0,76	0,475
	7	5,79	4,86	6,13	5,59 ± 0,54	0,115
	10	5,38	4,83	4,67	4,96 ± 0,31	0,212
B-SF 43	0	5,88	5,00	6,75	5,88 ± 0,88	0,307
	3	4,29	7,00	6,86	6,05 ± 1,25	0,234
	5	3,29	5,79	5,43	4,83 ± 1,10	0,123
	7	5,15	5,71	6,88	5,91 ± 0,72	0,140
	10	3,00	5,50	5,33	4,61 ± 1,14	0,316
Unbekannter Produktstandard	0	7,15	7,17	7,13	7,15 ± 0,02	0,874
	3	5,64	7,50	7,43	6,86 ± 0,86	0,499
	5	5,79	6,00	6,43	6,07 ± 0,33	0,117
	7	6,58	5,86	6,25	6,23 ± 0,30	0,503
	10	5,85	5,50	6,33	5,89 ± 0,34	0,541

Tabelle 31: Auswertung der hedonischen Prüfungen der Kochproben

HVS 2: Auswertung Geruch						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	5,50	6,50	6,50	6,17 ± 0,47	
	3	4,21	5,50	6,16	5,29 ± 0,81	
	5	5,50	5,50	6,16	5,72 ± 0,31	
	7	6,15	6,80	5,83	6,26 ± 0,40	
	10	6,50	6,60	6,00	6,37 ± 0,26	
B-LC 20	0	6,50	6,00	6,00	6,17 ± 0,24	1,000
	3	4,64	5,50	6,33	5,49 ± 0,69	0,109
	5	5,30	5,50	6,00	5,60 ± 0,29	0,069
	7	6,30	6,80	5,66	6,25 ± 0,47	0,949
	10	6,07	6,40	6,00	6,16 ± 0,17	0,097

HVS 2: Fortsetzung Auswertung Geruch						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
B-SF 43	0	6,00	6,13	6,13	6,08 ± 0,07	0,738
	3	4,28	5,00	6,16	5,15 ± 0,79	0,807
	5	5,15	5,00	4,50	4,88 ± 0,65	0,072
	7	6,60	6,00	5,50	6,03 ± 0,75	0,597
	10	4,85	5,80	5,25	5,30 ± 0,61	0,014
Unbekannter Produktstandard	0	5,25	5,38	5,38	5,33 ± 0,06	0,645
	3	4,35	5,66	6,33	5,45 ± 0,82	0,928
	5	4,92	5,28	5,83	5,34 ± 0,37	0,071
	7	6,00	5,40	5,66	5,69 ± 0,25	0,145
	10	6,20	6,00	6,00	6,07 ± 0,09	0,092
HVS 2: Auswertung Geschmack						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	6,10	5,90	6,00	6,00 ± 0,08	
	3	5,71	5,50	5,50	5,57 ± 0,10	
	5	5,84	5,71	6,16	5,90 ± 0,19	
	7	6,46	6,60	4,33	5,80 ± 1,04	
	10	6,35	6,60	6,50	6,48 ± 0,10	
B-LC 20	0	5,52	5,32	5,42	5,42 ± 0,08	0,778
	3	5,07	5,50	6,00	5,52 ± 0,38	0,854
	5	5,69	5,28	6,60	5,86 ± 0,55	0,814
	7	6,30	6,20	4,16	5,55 ± 0,99	0,090
	10	6,21	6,40	6,75	6,45 ± 0,22	0,783
B-SF 43	0	5,81	5,61	5,71	5,71 ± 0,08	0,891
	3	4,92	5,50	5,16	5,19 ± 0,24	0,102
	5	5,61	5,50	4,50	5,20 ± 0,50	0,282
	7	6,00	5,80	4,66	5,49 ± 0,59	0,452
	10	5,64	6,00	6,25	5,96 ± 0,25	0,013
Unbekannter Produktstandard	0	4,67	4,47	4,57	4,57 ± 0,08	0,464
	3	4,42	5,66	5,50	5,19 ± 0,55	0,330
	5	5,23	5,00	6,37	5,53 ± 0,60	0,332
	7	5,76	5,40	4,33	5,16 ± 0,61	0,082
	10	5,71	5,40	6,25	5,79 ± 0,35	0,037
HVS 2: Auswertung Textur						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
Standard	0	5,50	5,50	6,00	5,67 ± 0,24	
	3	5,40	5,33	5,83	5,52 ± 0,22	
	5	5,76	5,42	6,00	5,73 ± 0,24	
	7	5,46	6,60	6,33	6,13 ± 0,49	
	10	6,21	6,00	6,75	6,32 ± 0,32	
B-LC 20	0	6,00	6,00	6,25	6,08 ± 0,12	0,005
	3	4,92	5,00	6,16	5,36 ± 0,57	0,430
	5	5,76	5,14	5,83	5,58 ± 0,31	0,080
	7	5,53	7,00	5,00	5,84 ± 0,95	0,643
	10	6,28	6,80	7,25	6,78 ± 0,40	0,055

HVS 2: Fortsetzung Auswertung Textur						
Probe	Lagertag	V 1	V 2	V 3	MW ± SD	Signifikanz
B-SF 43	0	5,75	5,75	6,63	5,71 ± 0,06	0,656
	3	4,92	4,66	6,00	5,19 ± 0,58	0,167
	5	5,38	4,78	5,00	5,05 ± 0,25	0,064
	7	5,53	6,40	5,00	5,64 ± 0,58	0,374
	10	6,00	5,80	6,75	6,18 ± 0,41	0,066
Unbekannter Produktstandard	0	5,50	5,50	5,25	5,42 ± 0,12	0,092
	3	5,83	5,83	5,50	5,72 ± 0,16	0,705
	5	5,61	4,28	5,83	5,24 ± 0,68	0,275
	7	5,84	6,40	5,00	5,75 ± 0,58	0,359
	10	5,85	5,25	6,00	5,70 ± 0,32	0,768

Tabelle 32: Auswertung der Rangordnungsprüfung

HVS 2: Auswertung Rangordnungsprüfung (Rohproben)						
Probe	Lagertag	Probenrang (arithmetisches Mittel)			MW ± SD	Signifikanz
		V 1	V 2	V 3		
Standard	0	1,67	2,13	1,90	1,90 ± 0,32	
	3	2,01	2,33	3,00	2,46 ± 0,20	
	5	1,31	2,31	2,39	1,97 ± 0,71	
	7	2,12	1,93	1,88	1,97 ± 0,13	
	10	1,62	2,58	2,08	2,09 ± 0,68	
B-LC 20	0	3,08	2,44	2,76	2,76 ± 0,46	0,362
	3	2,18	2,58	2,75	2,51 ± 0,28	0,792
	5	2,58	2,38	2,64	2,53 ± 0,14	0,255
	7	2,50	2,07	2,88	2,48 ± 0,30	0,184
	10	2,23	2,67	2,42	2,44 ± 0,31	0,155
B-SF 43	0	2,92	3,00	2,96	2,96 ± 0,06	0,111
	3	3,64	2,58	2,25	2,82 ± 0,74	0,642
	5	3,58	2,85	2,71	3,05 ± 0,52	0,198
	7	3,54	2,57	2,31	2,81 ± 0,68	0,561
	10	3,65	2,67	3,25	3,19 ± 0,70	0,210
Unbekannter Produktstandard	0	2,33	2,44	2,39	2,39 ± 0,07	0,221
	3	2,14	2,50	2,00	2,21 ± 0,26	0,305
	5	2,54	2,46	2,36	2,45 ± 0,05	0,117
	7	1,85	3,43	2,94	2,74 ± 1,12	0,939
	10	2,50	2,08	2,25	2,28 ± 0,29	0,033

HVS 2: Auswertung Rangordnungsprüfung (Kochproben)						
Probe	Lagertag	Probenrang (arithmetisches Mittel)			MW ± SD	Signifikanz
		V 1	V 2	V 3		
Standard	0	2,15	2,35	2,25	2,25 ± 0,14	
	3	2,08	2,08	2,41	2,25 ± 0,23	
	5	2,09	2,14	2,33	2,19 ± 0,04	
	7	2,11	1,88	1,28	1,76 ± 0,17	
	10	1,58	2,70	2,50	2,26 ± 0,79	
B-LC 20	0	2,48	2,28	2,38	2,38 ± 0,14	0,392
	3	2,46	2,58	2,33	2,46 ± 0,18	0,601
	5	2,54	1,92	2,41	2,29 ± 0,44	0,647
	7	2,61	3,13	3,07	2,94 ± 0,36	0,088
	10	2,50	3,00	1,75	2,42 ± 0,35	0,778
B-SF 43	0	2,65	2,85	2,75	2,75 ± 0,14	0,083
	3	2,29	2,41	2,16	2,29 ± 0,18	0,913
	5	2,95	2,82	2,75	2,84 ± 0,09	0,089
	7	2,84	2,25	3,07	2,72 ± 0,42	0,588
	10	3,16	2,00	2,75	2,64 ± 0,82	0,756
Unbekannter Produktstandard	0	2,73	2,53	2,63	2,63 ± 0,14	0,083
	3	2,91	3,00	3,08	3,00 ± 0,12	0,068
	5	2,40	3,10	2,50	2,67 ± 0,49	0,549
	7	2,42	2,75	2,57	2,58 ± 0,23	0,705
	10	2,83	2,30	3,00	2,71 ± 0,37	0,752

Tabelle 33: Auswertung der In / Out-Tests

HVS 2: Auswertung In / Out-Test Produktstandard roh					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
0	1	87,50	12,50	-	-
	2	100,00	-	-	-
	3	75,00	25,00	-	-
	MW ± SD	87,50 ± 12,50	12,50 ± 12,50	-	-
	Sign.				
3	1	30,70	30,70	15,30	23,00
	2	50,00	33,33	16,66	-
	3	57,14	14,28	28,57	-
	MW ± SD	45,95 ± 11,17	26,10 ± 8,43	20,18 ± 5,96	7,67 ± 10,84
	Sign.				
5	1	57,14	21,42	21,42	-
	2	64,28	28,57	-	7,14
	3	85,71	-	14,28	-
	MW ± SD	69,04 ± 12,14	16,66 ± 12,14	11,90 ± 8,91	2,38 ± 3,37
	Sign.				
7	1	76,93	23,07	-	-
	2	14,28	42,85	28,57	14,28
	3	50,00	25,00	12,50	12,50
	MW ± SD	47,07 ± 25,66	30,31 ± 8,90	13,69 ± 11,69	8,93 ± 6,35
	Sign.				

HVS 2: Fortsetzung Auswertung In / Out-Test Produktstandard roh					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
10	1	64,61	15,38	10,00	10,00
	2	33,33	33,33	16,66	16,66
	3	66,66	16,66	-	16,66
	<b>MW ± SD</b>	<b>54,87 ± 15,25</b>	<b>21,79 ± 8,18</b>	<b>8,89 ± 6,85</b>	<b>14,44 ± 3,14</b>
	Sign.				
HVS 2: Auswertung In / Out-Test Rohe Probe B-LC 20					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
0	1	47,92	52,08	-	-
	2	33,33	66,66	-	-
	3	62,50	37,50	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>47,92 ± 14,59</b>	<b>52,08 ± 14,58</b>	-	-
	Sign.	0,382	0,382		
3	1	46,10	38,40	15,30	-
	2	83,33	16,66	-	-
	3	85,71	14,28	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>71,71 ± 18,14</b>	<b>23,11 ± 10,85</b>	<b>5,10 ± 7,21</b>	-
	Sign.	0,041	0,718	0,210	0,423
5	1	42,85	50,00	-	7,14
	2	71,42	14,28	14,28	-
	3	100,00	-	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>71,42 ± 23,33</b>	<b>21,43 ± 21,03</b>	<b>4,76 ± 6,73</b>	<b>2,38 ± 3,37</b>
	Sign.	0,808	0,742	0,580	1,000
7	1	53,84	38,46	7,69	-
	2	57,14	-	14,28	28,57
	3	50,00	25,00	25,00	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>53,66 ± 2,92</b>	<b>21,15 ± 15,94</b>	<b>15,66 ± 7,13</b>	<b>9,52 ± 13,47</b>
	Sign.	0,766	0,652	0,834	0,946
10	1	51,53	23,07	15,38	10,00
	2	50,00	33,33	16,66	-
	3	56,66	-	10,00	33,33
	<b>MW ± SD</b>	<b>52,73 ± 2,85</b>	<b>18,80 ± 13,94</b>	<b>14,01 ± 2,89</b>	<b>14,44 ± 13,96</b>
	Sign.	0,842	0,718	0,218	1,000
HVS 2: Auswertung In / Out-Test Rohe Probe B-SF 43					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
0	1	62,50	22,92	8,33	6,25
	2	50,00	33,33	16,66	-
	3	75,00	12,50	-	12,50
	<b>MW ± SD</b>	<b>62,50 ± 12,50</b>	<b>22,92 ± 10,42</b>	<b>8,33 ± 8,33</b>	<b>6,25 ± 6,25</b>
	Sign.	0,500	0,728	0,500	0,500

HVS 2: Fortsetzung Auswertung In / Out-Test Rohe Probe B-SF 43					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
3	1	-	30,70	38,40	30,70
	2	83,33	16,66	-	-
	3	42,85	-	42,85	14,28
	<b>MW ± SD</b>	<b>42,06 ± 34,02</b>	<b>15,79 ± 12,55</b>	<b>27,08 ± 19,24</b>	<b>14,99 ± 12,54</b>
	Sign.	0,858	0,186	0,625	0,218
5	1	21,42	21,42	50,00	7,14
	2	57,14	28,57	-	14,28
	3	57,14	-	28,57	14,28
	<b>MW ± SD</b>	<b>45,23 ± 16,84</b>	<b>16,66 ± 12,14</b>	<b>26,19 ± 20,48</b>	<b>11,90 ± 3,37</b>
	Sign.	0,109	1,000	0,225	0,057
7	1	38,46	23,07	30,76	7,69
	2	28,57	14,28	14,28	42,85
	3	50,00	25,00	25,00	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>39,01 ± 8,76</b>	<b>20,78 ± 4,67</b>	<b>23,35 ± 6,83</b>	<b>16,85 ± 18,65</b>
	Sign.	0,660	0,423	0,537	0,573
HVS 2: Auswertung In / Out-Test Rohe Probe B-SF 43					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
10	1	23,07	-	30,76	46,15
	2	23,33	50,00	16,66	10,00
	3	23,33	-	10,00	66,66
	<b>MW ± SD</b>	<b>23,24 ± 0,12</b>	<b>16,67 ± 23,57</b>	<b>19,14 ± 8,65</b>	<b>40,94 ± 23,42</b>
	Sign.	0,100	0,685	0,229	0,260
HVS 2: Auswertung In / Out-Test Produktstandard gekocht					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
0	1	45,00	30,00	30,00	-
	2	40,00	35,00	25,00	-
	3	50,00	25,00	25,00	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>45,00 ± 5,00</b>	<b>30,00 ± 5,00</b>	<b>25,00 ± 0,00</b>	<b>-</b>
	Sign.				
3	1	66,66	33,33	-	-
	2	66,66	16,66	16,66	-
	3	66,66	25,00	8,33	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>66,66 ± 0,00-</b>	<b>25,00 ± 6,81</b>	<b>8,33 ± 6,80</b>	<b>-</b>
	Sign.				
5	1	50,00	41,66	-	8,33
	2	53,84	30,76	7,69	7,69
	3	83,33	-	-	16,66
	<b>MW ± SD</b>	<b>62,39 ± 14,89</b>	<b>24,14 ± 17,64</b>	<b>2,56 ± 3,63</b>	<b>10,89 ± 4,09</b>
	Sign.				

HVS 2: Fortsetzung Auswertung In / Out-Test Produktstandard gekocht					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
7	1	53,84	15,38	30,76	-
	2	25,00	-	75,00	-
	3	42,85	42,85	14,28	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>40,56 ± 11,88</b>	<b>19,41 ± 17,72</b>	<b>40,01 ± 25,64</b>	-
	Sign.				
10	1	42,85	35,71	21,42	-
	2	33,33	33,33	16,66	-
	3	100,00	-	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>58,73 ± 29,44</b>	<b>23,01 ± 16,30</b>	<b>12,69 ± 9,18</b>	-
	Sign.				
HVS 2: Auswertung In / Out-Test gekochte Probe B-LC 20					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
0	1	60,00	37,00	3,00	-
	2	40,00	48,00	12,00	-
	3	50,00	37,50	12,50	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>45,00 ± 5,00</b>	<b>42,75 ± 5,25</b>	<b>12,25 ± 0,25</b>	-
	Sign.	0,423	0,030	0,066	-
3	1	50,00	50,00	-	-
	2	83,33	16,66	-	-
	3				
	<b>MW ± SD</b>	<b>66,67 ± 16,67</b>	<b>33,33 ± 16,67</b>	-	-
	Sign.	1,000	0,500	0,500	-
5	1	66,66	25,00	8,33	-
	2	76,92	23,07	-	-
	3	83,33	16,66	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>75,64 ± 6,87</b>	<b>21,58 ± 3,56</b>	<b>2,78 ± 3,93</b>	-
	Sign.	0,194	0,821	0,967	0,064
7	1	46,15	46,15	7,69	-
	2	25,00	50,00	25,00	-
	3	42,85	-	42,85	14,28
	<b>MW ± SD</b>	<b>38,00 ± 9,29</b>	<b>32,05 ± 22,72</b>	<b>25,18 ± 14,35</b>	<b>4,76 ± 6,73</b>
	Sign.	0,423	0,699	0,586	0,423
10	1	57,14	42,85	-	-
	2	33,33	50,00	-	-
	3	100,00	-	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>63,49 ± 27,59</b>	<b>30,95 ± 22,08</b>	-	-
	Sign.	0,423	0,242	0,190	-

HVS 2: Auswertung In / Out-Test gekochte Probe B-SF 43					
Lagertag	V	Prüferantworten (%)			
		Innerhalb des Standards	Noch innerhalb des Standards	Schon außerhalb des Standards	außerhalb des Standards
0	1	65,00	30,00	5,00	-
	2	60,00	25,00	15,00	-
	3	50,00	37,50	12,50	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>55,00 ± 5,00</b>	<b>31,25 ± 6,25</b>	<b>13,75 ± 1,25</b>	-
	Sign.	0,065	0,866	0,010	-
3	1	66,66	33,33	-	-
	2	50,00	33,33	16,66	-
	3				
	<b>MW ± SD</b>	<b>58,33 ± 8,33</b>	<b>33,33 ± 0,00</b>	<b>8,33 ± 8,33</b>	-
	Sign.	0,272	0,272	1,000	-
5	1	41,66	33,33	25,00	-
	2	61,53	23,07	15,38	-
	3	83,33	-	16,66	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>62,17 ± 17,02</b>	<b>18,80 ± 13,94</b>	<b>19,01 ± 4,27</b>	-
	Sign.	0,990	0,754	0,014	0,020
7	1	46,15	38,46	7,69	7,69
	2	50,00	25,00	-	25,00
	3	28,57	28,57	42,85	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>41,57 ± 9,33</b>	<b>30,68 ± 5,69</b>	<b>16,85 ± 18,65</b>	<b>10,90 ± 10,46</b>
	Sign.	0,929	0,440	0,360	0,215
10	1	28,57	14,28	50,00	7,14
	2	50,00	16,66	16,66	-
	3	50,00	50,00	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>42,86 ± 10,10</b>	<b>26,98 ± 16,31</b>	<b>22,22 ± 20,79</b>	<b>2,38 ± 3,37</b>
	Sign.	0,511	0,820	0,585	0,374

Tabelle 34: Auswertung des deskriptiven In / Out-Tests in VVS 3

VVS 3: Auswertung deskriptiver In / Out-Test Probe B-LC 20								
Lagertag	V	Prüferantworten (%)						
		Inakzeptabel	schlechter als Standard	geringfügig schlechter als Standard	wie Standard	geringfügig besser als Standard	besser als Standard	Hervorragend
0	1	-	3,13	12,20	69,05	11,90	3,72	-
	2	-	6,25	8,33	79,17	4,17	2,08	-
	3	-	-	16,07	58,93	19,64	5,36	-
	MW ± SD	-	3,13 ± 3,13	12,20 ± 3,87	69,05 ± 10,12	11,90 ± 7,74	3,72 ± 1,64	-
3	1	3,57	8,04	25,00	32,14	14,29	16,96	-
	2	-	8,33	14,58	72,92	4,17	-	-
	3	-	-	8,93	69,64	21,43	-	-
	MW ± SD	1,19 ± 2,06	5,46 ± 4,73	16,17 ± 8,15	58,23 ± 22,65	13,29 ± 8,67	5,65 ± 9,79	-
5	1	0,99	5,94	15,84	62,38	12,87	1,98	-
	2	1,80	3,60	16,22	58,56	14,41	5,41	-
	3	-	-	10,71	62,50	26,79	-	-
	MW ± SD	0,93 ± 0,90	3,18 ± 2,99	14,26 ± 3,07	61,14 ± 2,24	18,02 ± 7,63	2,46 ± 2,73	-
7	1	-	4,81	16,35	50,96	21,15	3,85	2,88
	2	-	3,57	16,07	62,50	14,29	1,79	3,57
	3	-	1,79	14,29	66,07	10,71	3,57	3,57
	MW ± SD	-	3,39 ± 1,52	15,57 ± 1,12	59,84 ± 7,90	15,38 ± 5,31	3,07 ± 1,12	3,34 ± 0,40
10	1	-	1,92	22,12	59,62	10,58	5,77	-
	2	2,08	10,42	10,42	58,33	14,58	2,08	2,08
	3	4,26	-	21,28	44,68	27,66	-	2,13
	MW ± SD	2,11 ± 2,13	4,11 ± 5,54	17,94 ± 6,53	54,21 ± 8,28	17,61 ± 8,93	2,62 ± 2,92	1,40 ± 1,22

VVS 3: Auswertung deskriptiver In / Out-Test Probe B-SF 43								
Lagertag	V	Prüferantworten (%)						
		Inakzeptabel	schlechter als Standard	geringfügig schlechter als Standard	wie Standard	geringfügig besser als Standard	besser als Standard	hervorragend
0	1	1,00	8,21	23,42	58,29	8,08	-	1,00
	2	-	10,42	20,83	64,58	4,17	-	-
	3	2,00	6,00	26,00	52,00	12,00	-	2,00
	MW ± SD	1,00 ± 1,00	8,21 ± 2,21	23,42 ± 2,58	58,29 ± 6,29	8,08 ± 3,92	-	1,00 ± 1,00
3	1	20,00	12,38	25,71	24,76	5,71	7,62	3,81
	2	-	8,33	10,42	79,17	2,08	-	-
	3	-	3,57	21,43	50,00	21,43	1,79	1,79
	MW ± SD	6,67 ± 11,55	8,10 ± 4,41	19,19 ± 7,89	51,31 ± 27,23	9,74 ± 10,28	3,13 ± 3,98	1,87 ± 1,91
5	1	15,84	12,87	24,75	36,63	7,92	0,99	0,99
	2	3,57	8,93	18,75	43,75	19,64	4,46	0,89
	3	7,14	8,93	10,71	58,93	12,50	1,79	-
	MW ± SD	8,85 ± 6,31	10,24 ± 2,28	18,07 ± 7,04	46,44 ± 11,39	13,35 ± 5,91	2,41 ± 1,82	0,63 ± 0,55
7	1	2,88	13,46	14,42	49,04	15,38	4,81	-
	2	8,93	1,79	14,29	58,93	10,71	5,36	-
	3	-	1,56	17,19	73,44	7,81	-	-
	MW ± SD	3,94 ± 4,56	5,60 ± 6,81	15,30 ± 1,64	60,47 ± 12,27	11,30 ± 3,82	3,39 ± 2,95	-
10	1	11,54	18,27	9,62	47,12	6,73	4,81	1,92
	2	2,08	4,17	22,92	52,08	10,42	4,17	4,17
	3	12,50	-	10,42	52,08	20,83	-	4,17
	MW ± SD	8,71 ± 5,76	7,48 ± 9,57	14,32 ± 7,46	50,43 ± 2,87	12,66 ± 7,31	2,99 ± 2,61	3,42 ± 1,30

VVS 3: Auswertung deskriptiver In / Out-Test Probe unbekannter Produktstandard								
Lagertag	V	Prüferantworten (%)						
		Inakzeptabel	schlechter als Standard	geringfügig schlechter als Standard	wie Standard	geringfügig besser als Standard	besser als Standard	hervorragend
0	1	-	1,79	8,18	76,49	12,65	0,89	-
	2	-	-	2,08	95,83	2,08	-	-
	3	-	3,57	14,29	57,14	23,21	1,79	-
	<b>MW ± SD</b>	-	<b>1,79 ± 1,79</b>	<b>8,18 ± 6,10</b>	<b>76,49 ± 19,35</b>	<b>12,65 ± 10,57</b>	<b>0,89 ± 0,89</b>	-
3	1	8,74	8,74	27,18	19,42	24,27	8,74	2,91
	2	-	-	12,50	68,75	12,50	6,25	-
	3	-	3,57	25,00	53,57	16,07	-	1,79
	<b>MW ± SD</b>	<b>2,91 ± 5,04</b>	<b>4,10 ± 4,39</b>	<b>21,56 ± 7,92</b>	<b>47,25 ± 25,27</b>	<b>17,61 ± 6,04</b>	<b>5,00 ± 4,50</b>	<b>1,57 ± 1,47</b>
5	1	-	7,92	14,85	51,49	17,82	6,93	0,99
	2	1,79	7,14	11,61	59,82	15,18	4,46	-
	3	1,79	1,79	8,93	69,64	17,86	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>1,19 ± 1,03</b>	<b>5,62 ± 3,34</b>	<b>11,80 ± 2,97</b>	<b>60,32 ± 9,09</b>	<b>16,95 ± 1,54</b>	<b>3,80 ± 3,51</b>	<b>0,33 ± 0,57</b>
7	1	-	-	11,65	62,14	20,39	-	5,83
	2	9,09	7,27	14,55	43,64	25,45	-	-
	3	-	1,56	9,38	67,19	21,88	-	-
	<b>MW ± SD</b>	<b>3,03 ± 5,25</b>	<b>2,95 ± 3,83</b>	<b>11,86 ± 2,59</b>	<b>57,65 ± 12,40</b>	<b>22,57 ± 2,60</b>	-	<b>1,94 ± 3,36</b>
10	1	-	-	6,80	80,58	10,68	2,91	-
	2	2,08	2,08	16,67	43,75	29,17	6,25	-
	3	2,08	-	2,08	89,58	4,17	-	2,08
	<b>MW ± SD</b>	<b>1,39 ± 1,20</b>	<b>0,69 ± 1,20</b>	<b>8,52 ± 7,44</b>	<b>71,31 ± 24,28</b>	<b>14,67 ± 12,97</b>	<b>3,05 ± 3,13</b>	<b>0,69 ± 1,20</b>

Tabelle 35: Ergebnisse der Signifikanzberechnungen der Rangordnungsprüfung

HVS 2: Rangordnungsprüfung Signifikanzberechnungen der rohen Hackfleischproben					
Lagertag		Proben			
		Kontrollprobe	B-LC 20	B-SF 43	Unbekannte Kontrollprobe
0	Rangmittel	1,896	2,76	2,958	2,385
	Standardabweichung	0,324	0,457	0,059	0,074
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 1254,37				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 2,517				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		5,5	7,25	3,25
	Kritischer Wert		3,8	3,8	3,8
	Signifikanz		signifikant	signifikant	nicht signifikant
3	Rangmittel	2,46	2,505	2,823	2,212
	StabW	0,204	0,284	0,745	0,257
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 1490,96				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 3,707				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		0,5	4,83	1,34
	Kritischer Wert		4,02	4,02	4,02
	Signifikanz		nicht signifikant	signifikant	nicht signifikant
5	Rangmittel	1,967	2,535	3,046	2,452
	StabW	0,707	0,136	0,517	0,054
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 3311,66				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 15,636				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		7	14,17	6,84
	Kritischer Wert		4,91	4,91	4,91
	Signifikanz		signifikant	signifikant	signifikant
7	Rangmittel	1,973	2,482	2,807	2,737
	StabW	0,132	0,303	0,684	1,119
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 2216,97				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 12,798				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		4,66	8,83	5,16
	Kritischer Wert		4,45	4,45	4,45
	Signifikanz		signifikant	signifikant	signifikant
10	Rangmittel	2,094	2,438	3,19	2,278
	StabW	0,684	0,308	0,698	0,295
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 1959,38				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 4,374				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		3,83	12,33	3,83
	Kritischer Wert		4,45	4,45	4,45
	Signifikanz		nicht signifikant	signifikant	nicht signifikant

<b>HVS 2: Rangordnungsprüfung Signifikanzberechnungen der Kochproben</b>					
Lagertag		Proben			
		Kontrollprobe	B-LC 20	B-SF 43	Unbekannte Kontrollprobe
0	<b>Rangmittel</b>	2,25	2,375	2,75	2,625
	StabW	0	0	0	0
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 1610				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 0,75				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		1	4	3
	Kritischer Wert		4,13	4,13	4,13
	<b>Signifikanz</b>		<b>nicht signifikant</b>	<b>nicht signifikant</b>	<b>nicht signifikant</b>
3	<b>Rangmittel</b>	2,245	2,455	2,285	2,995
	StabW	0,233	0,177	0,177	0,120
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 912,87				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 1,287				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		1,25	0,25	4,5
	Kritischer Wert		3,57	3,57	3,57
	<b>Signifikanz</b>		<b>nicht signifikant</b>	<b>nicht signifikant</b>	<b>signifikant</b>
5	<b>Rangmittel</b>	2,187	2,290	2,840	2,667
	StabW	0,035	0,438	0,092	0,495
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 2201,53				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 17,9				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		1,5	6	5,17
	Kritischer Wert		4,61	4,61	4,61
	<b>Signifikanz</b>		<b>nicht signifikant</b>	<b>signifikant</b>	<b>signifikant</b>
7	<b>Rangmittel</b>	1,755	2,935	2,720	2,580
	StabW	0,165	0,364	0,417	0,233
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 1393,33				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 15,5				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		8	8,83	7,2
	Kritischer Wert		4,13	4,13	4,13
	<b>Signifikanz</b>		<b>signifikant</b>	<b>signifikant</b>	<b>signifikant</b>
10	<b>Rangmittel</b>	2,260	2,417	2,637	2,710
	StabW	0,792	0,354	0,820	0,375
	R= Summe der k quadrierten Rangsummen 1024,71				
	$F_R = 12/n \cdot k(k+1) \cdot R - 3n^2(k+1)$ 17,22				
	Überprüfung der Einzeldifferenzen ( $R_1 - R_2 \geq 1,96 \cdot \sqrt{1/n \cdot k \cdot (k+1)/6}$ )				
	Differenz zur Kontrollprobe		3,5	4	4,16
	Kritischer Wert		3,86	3,86	3,86
	<b>Signifikanz</b>		<b>nicht signifikant</b>	<b>signifikant</b>	<b>signifikant</b>

**Tabelle 36: Approximierte kritische Werte (F) des Friedman-Tests (Busch-Stockfisch 2002, Anhang: 1.II-5a)**

Anzahl der Prüfpersonen (n)	Anzahl der Prüfproben oder Prüfprodukte (k)					
	3	4	5	3	4	5
	Irrtumswahrscheinlichkeit = 5 %			Irrtumswahrscheinlichkeit = 1 %		
2	-	6,00	7,60*	-	-	8,00
3	6,00	7,00*	8,53	-	8,20*	10,13
4	6,50	7,50*	8,80	8,00	9,30*	11,00
5	6,40	7,80	8,96	8,40	9,96	11,52
6	6,33	7,60	9,49**	9,00	10,20	13,28*
7	6,00	7,62	9,49**	8,85	10,37	13,28*
8	6,25	7,65	9,49**	9,00	10,35*	13,28*
9	6,22	7,81**	9,49**	8,66	11,34**	13,28*
10	6,20	7,81**	9,49**	8,60*	11,34**	13,28*
11	6,54	7,81**	9,49**	8,90*	11,34**	13,28*
12	6,16	7,81**	9,49**	8,66*	11,34**	13,28*
13	6,00	7,81**	9,49**	8,76*	11,34**	13,28*
14	6,14	7,81**	9,49**	9,00	11,34**	13,28*
15	6,40	7,81*	9,49**	8,93	11,34**	13,28*

\* leicht höhere Irrtumswahrscheinlichkeit

\*\* Werte der  $\chi^2$ -Verteilung angenähert

**Tabelle 37: Reaktionsprofil des API 50 CHL Teststreifens**

Probe	Kontrolle	Glycerol	Erythritol	D-Arabinose	L-Arabinose	Ribose	D-Xylose	L-Xylose	Adonitol	Methyl-D-Xyloside
a	-	-	-	-	(-)	+	-	-	-	-
A	-	-	-	-	(+)	+	(+)	-	-	-
Probe	Galactose	Glucose	Fructose	Mannose	Sorbose	Rhamnose	Dulcitol	Inositol	Mannitol	Sorbitol
a	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Probe	Methyl-D-Mannoside	Methyl-D-Glucoside	N-Acetyl-Glucosamine	Amygdalin	Arbutin	Esculin	Salicin	Celiobiose	Maltose	Lactose
a	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-
A	-	-	(+)	+	-	+	+	+	(+)	-
Probe	Melibiose	Sucrose	Trehalose	Inulin	Melezitose	Raffinose	Starch	Glycogen	Xylitol	Gentio-biose
a	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
A	(+)	-	+	-	-	(+)	-	-	-	(+)
Probe	D-Turanose	D-Lyxose	D-Tagatose	D-Fucose	D-Arabitol	L-Arabitol	Gluconate	2-Keto-Gluconate	5-Keto-Gluconate	
a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
A	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	

a *Pediococcus acidilactici* (DSM 10313)

A untersuchte Kolonien der Hackfleischisolate

- negative Reaktion

+ positive Reaktion

(+) teilweise positive Reaktion

Tabelle 38: Spezifität des Primerpaares *IdhDF/IdhDR*

Stamm	Herkunft	Primer ( <i>IdhDF-IdhDR</i> )	PCR- Produkt
<i>P. pentosaceus</i>	DSM 20280 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	DSM 20206 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	DSM 20283 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	DSM 20281 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	ATCC 33316 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	ATCC 8081 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	ATCC 10791 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	ATCC 25745 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. pentosaceus</i>	ATCC 33314 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. acidilactici</i>	DSM 10313 <sup>b</sup>	+	+
<i>P. acidilactici</i>	DSM 20238 <sup>a</sup>	+	+
<i>P. acidilactici</i>	DSM 20284 <sup>a</sup>	+	+
<i>P. acidilactici</i>	ATCC 8042 <sup>a</sup>	+	+
<i>P. acidilactici</i>	ATCC 12697 <sup>a</sup>	+	+
<i>P. acidilactici</i>	ATCC 25740 <sup>a</sup>	+	+
<i>P. damnosus</i>	DSM 20331 <sup>a</sup>	-	-
<i>P. parvulus</i>	DSM 20332 <sup>a</sup>	-	-
<i>Lactobacillus pentosus</i>	DSM 20314 <sup>a</sup>	-	-
<i>Lactobacillus casei</i> ssp. <i>casei</i>	DSM 20011 <sup>a,b</sup>	-	-
<i>Streptococcus thermophilus</i>	NCDO 574 <sup>a</sup>	-	-
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaris</i>	ATCC 11842 <sup>a</sup>	-	-
<i>Lactobacillus helveticus</i>	ATCC 15009 <sup>a</sup>	-	-
<i>S. carnosus</i>	DSM 20501 <sup>b</sup>	-	-
<i>S. xylosus</i>	DSM 20029 <sup>b</sup>	-	-
<i>Leuconostoc</i>	Q2 381 <sup>b,c</sup>	-	-
<i>Leuconostoc carnosum</i>	B-SF 43 <sup>b</sup>	-	-

<sup>a</sup> MORA et al. (1997)<sup>b</sup> eigene Untersuchungen<sup>c</sup> eigens isolierter Stamm

## 10.2 Verbrauchsmaterialien und Geräte

### 10.2.1 Verwendete Mikroorganismen

#### 10.2.1.1 Schutzkulturen

B-LC-20 Safe Pro™	(Chr. Hansen, Hørsholm Dk)
B-SF-43 Bactoferm™	(Chr. Hansen, Hørsholm Dk)

#### 10.2.1.2 Marker-Mikroorganismen

<i>Campylobacter jejunii</i>	(DSM 4688)
<i>Listeria monocytogenes</i>	(DSM 20600)
<i>Leuconostoc</i>	(Q2 381)
<i>Lactobacillus casei</i>	(DSM 20011)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	(DSM 5569)
<i>Staphylococcus aureus</i>	(DSM 799)
<i>Staphylococcus carnosum</i>	(DSM 20501)
<i>Staphylococcus xylosum</i>	(DSM 20029)

### 10.2.2 Verbrauchsmaterialien

Agarose (SeaKem® LE)	(VWR; Art.-Nr.: 733-0829DE)
Ammonium Eisen (III)-citrat-Supplement	(Merck; Art.-Nr.: HC607147)
Ammoniumoxalat- Kristallviolett- Lösung	(Merck; Art.-Nr.: 1.11885./ 1)
Ammoniumoxalat- Monohydrat- Lösung	(Merck; Art.-Nr.: 1.11885./ 1)
API 50 CHL-Medium	(Biomérieux, Art.-Nr.: 50410)
API 50 CH Teststreifen	(Biomérieux, Art.-Nr.: 50300)
API Suspensionsmedium	(Biomérieux, Art.-Nr.: 70700)
BIOGON® C (Kohlendioxid)	(Linde, Höllriegelskreuth)
BIOGON® O (Sauerstoff)	(Linde, Höllriegelskreuth)
BIOGON® (Formiergas)	(Linde, Höllriegelskreuth)
BIOGON® (10 % CO <sub>2</sub> , 5 % O <sub>2</sub> , 85 % N <sub>2</sub> )	(Linde, Höllriegelskreuth)
Blut-Agar-Basis	(VWR; Art.-Nr.: 1.10886.0500)
Borsäure	(Merck; Art.-Nr. 1.12015.0500)
Buthanol	(Merck, Art.-Nr.: 1990.1000)
Campylobacter Select. NB (CCDA), blutfrei	(OXOID, Art.-Nr.: PO5091A)
Campylobacter Selektiv Supplement Preston	(OXOID, Art.-Nr.: SR 0117E)
Campylobacter Anreicherungs supplement	(OXOID, Art.-Nr.: SR0232E)
Campylobacter Selektiv Anreicherungs bouillon Preston	(OXOID, Art.-Nr.: CM 067B)
CASO-Bouillon	(VWR; Art.-Nr.: 1.054.590.500)
Chloramin T	(Merck; Art.-Nr.: 102426)
Chromogenic Listeria Agar Base	(OXOID; Art.-Nr.: CM1080)
Chromogenic Listeria Differential Supplement	(Merck; Art.-Nr.: SR0228E)
Chromogenic Listeria Selective Supplement	(Merck; Art.-Nr.: SR0227E)
Di-Kalium-Hydrogenphosphat	(Merck; Art.-Nr.: 1.05104)
4-Dimethylaminobenzaldehyd	(Roth; Art.-Nr.: CP38.1)
DNA-Gelladepuffer	(VWR; Art.-Nr.: 733-1166)
dNTP MIX 10mM	(VWR; Art.-Nr.: 731-0130)
Eigelb-Kaliumtellurit-Lösung	(OXOID; Art.-Nr.: SR0054C)

---

Entercolon Anti Salmonella I (A-E)	(Lab; TR1115)
Entercolon Anti Salmonella II (F-67)	(Lab; TR1125)
Ethanol (99,5 %, Ph.Eur., reinst)	(Roth; Art.-Nr.: 5054.1)
Ethidiumbromid	(VWR; Art.-Nr.:429932NDE)
Extraktionskit (Genomic DNA KIT III)	(Invitek, Art.-Nr.: 10331103)
Faltenfilter 615 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	(Macherey – Nagel, Düren)
Färbetest für die Gram-Färbung	(Merck; Art.-Nr.: 1.11885./2)
Fraser-Listeria-Selektiv Anreicherungsbouillon	(Merck; Art.-Nr.: 1.10398.0500)
Fraser-Listeria-Selektiv-Supplement	(Merck; Art.-Nr.: HC740008)
Glycerol	(Merck; Art. Nr.: 1.59522.0100)
GSP - Agar	(Merck; Art.-Nr.: 1.10230)
Hefeextrakt	(Difco Art.-Nr.:0.127-17-9)
iso-Propanol	(Merck; Art.-Nr.: 100995)
Kaliumchlorid	(Merck; Art.-Nr.: 104934)
Kjeldahl-Tabletten	(Roth, Art.-Nr.: HN20.1)
Kjeldahltherm und Turbosog	(Gerhardt, Bonn)
Küvetten	(VWR; Art.-Nr.: 634-2501)
Lysed Horse Blood (100 ml)	(OXOID; Art.-Nr.: SR 0048C)
Magnesiumsulfat	(Merck; Art.-Nr.: 1.05886)
MAP-Schalen	(LINPAC; Art.-Nr.:15015)
Mc Farland Standard II	(Biomérieux; Art.-Nr.: 70900)
MRS-Agar	(OXOID; Art.-Nr.: CM0361)
MRS-Bouillon	(Merck; Art.-Nr.:1.10661.0500)
Myo-Inosit	(Roth; Art.-Nr.: 6329.1)
Natriumchlorid	(Merck; Art.-Nr.: 1.162245000)
Natriumhydroxid	(Roth; Art.-Nr.: K021.1)
Neutralrot (0,3 %)	(Fluka; Art.-Nr. 84120)
Pbr328-Marker „redy-To-Use“ (500 µl)	(Roth, Art.-Nr.: X902.1)
PC-Agar	(Merck; Art.-Nr.: 1.05463.0500)
Penicillin G sodium salt	(Sigma Aldrich; Art.-Nr.: 13752)
Pepton	(Merck; Art.-Nr.: 1.102239.500)
Peptonwasser (gepuffert)	(Merck; Art.-Nr.: 1.07228.0500)
Petrischalen	(Sarstedt; Art.-Nr.: 82.1472)
Primer (UniF)	(APARA-BIOSCIENCE, Freiburg)
Primer (UniR)	(APARA-BIOSCIENCE, Freiburg)
Primer ( <i>IdhDF</i> )	(APARA-BIOSCIENCE, Freiburg)
Primer ( <i>IdhDR</i> )	(APARA-BIOSCIENCE, Freiburg)
Rambach – Agar	(Merck; Art.-Nr.: 1.07500)
Ringertabletten	(Merck; Art.-Nr.: 15.525)
Salmonella – Anreicherungsbouillon nach Rappaport	(Merck; Art.-Nr.: 1.10236.0500)
Salzsäure (1 N)	(Roth; Art.-Nr.: K025.1)
Schwefelsäure (95 %)	(Roth; Art.-Nr.: X944.2)
Seesand mit HCl gereinigt	(Roth; Art.-Nr.: 8441.1)
Stomacherbeutel	(VWR; Art.- Nr.: 129-9867)
Streptomycin Sulfate salt	(Sigma Aldrich; Art.-Nr.: S9137)
TAE-Puffer Konzentrat (50x)	(VWR; Art.-Nr.: A1691.1000DE)
TAQ-DNA Polymerase (5U/µl)	(VWR; Art.-Nr.: 733-0105)
TBG – Bouillon	(Merck; Art.-Nr.: 1.05178.0500)

---

Verbundfolie	(SÜDPACK; Art.-Nr.: 4.10.1479)
VRBD- Agar	(Merck; Art.- Nr.: 1.10275.0500)
XLD-Agar	(VWR; Art.-Nr.: 1.05287.0500)

### 10.2.3 Geräte

Abwägeschiffchen 609	(Schleicher & Schüll, Dassel)
Airflowcontrol EN14175	(asecos; Gründau)
Autoclav Typ V65	(Systec GmbH Labor- Systemtechnik,)
Bactron Anaerobic/Environment Chamber	(Sheldon; Oregon, USA)
Brutschrank BM 400; UE 500, INE 700	(Memmert, Schwabach)
(Integra Fireboy)	(Integra, Fernwald)
Check Mate 9900	(PBI-Dansensor GmbH, Neuwied)
EASY-CAST™, Electrophoresis System B1	(OWL. Scientific, Inc., Wobum, USA)
Elektro-Herd Juno	(Elektrolux; Nürnberg)
Electrophoresis power supply ELVI 18	(Elvi; Milan, Italien)
Fleischwolf Typ UK 2-1	(Bauknecht; Lenzburg)
Gaselektrode	(Mettler, Toledo, Steinbach)
GenaAmp® PCR System 2400	(Perkin-Elmer Corporation)
Heizblock	(Gerhardt, Bonn)
Helios β-Photometer	(Unicam, Georgensgmünd)
Gas-Herd Juno	(Elektrolux; Nürnberg)
Keimzählgerät BZG 30	(WTW; Weilheim)
Konvektomat	(Rational, Landsberg a. Lech)
Küchenmaschine Typ 60UMEV	(Bosch; Gerlingen Schillerhöhe)
Kühl-Brutschrank BW 30, BW 50	(Memmert, Schwabach)
Kühlschrank Tec-line	(Asskühl, Essen)
Kühlschrank KDRR40A	(Siemens, Frankfurt)
Laborkühlschrank	(Eisfink; Kirsch)
Laborpipetten (0,1-2,5 µl)	(Eppendorf; Hamburg)
Laborpipetten (0,5-10 µl)	(Eppendorf; Hamburg)
Laborpipetten (10-100 µl)	(Eppendorf; Hamburg)
Laborpipetten (50-200 µl)	(Eppendorf; Hamburg)
Laborpipetten (100-1000 µl)	(Eppendorf; Hamburg)
Laborwaage, Präzisionswaage LC 2200	(Sartorius AG, Göttingen)
Laborwaage MC1 Research RC 210 D	(Sartorius AG, Göttingen)
(Laminar, Microflow Biological Safety cabinet)	(MDH; Hampshire, GB)
Licht- Mikroskop BH(A)	(Olympus; Japan)
Magnetrührer	(IKAMAG ® RCT)
Magnetrührer	(Gerhardt, Königswinter)
Minishaker MS2	(IKA WORKS, Wilmington, USA)
Moulinette S	(Moulinex, Hamburg)
Muffelofen	(Heraeus, Hanau)
Novasina thermoconstanter TH 200 S	(Novasina; Belgien)
pH-Meter ino Lab pH / Cond Level 1.	(WTW, Weilheim)
pH-Meter 537 A	(WTW, Weilheim)
pH-Einstabmesskette E56	(WTW, Weilheim)
pH-Temperaturkomp. Fühler TFK 150	(WTW, Weilheim)
Photometer WPA biowave CO 8000	(Cambridge, USA)

---

Reagenzglasschüttler, Reax 2000	(Heidolph, Kelheim)
Rotavapor (Rotationsverdampfer)	(Büchi, Flawil, Schweiz)
Schüttelwasserbad GFL, 1092	(GFL, Burgwedel)
Schüttelwasserbad GFL, 1070	(GFL, Burgwedel)
Sicherheitswerkbank S II Herasafe KS12	(ThermoFischer Scientific)
Spectrophotometer CM-3600d	(Minolta, Japan)
Software „Spectra Magic Version 2.11, 1998“	(Minolta, Japan)
Sterilisationsschrank	(Memmert; Schwabach)
Stomacher (Laboratory Blender 400)	(LAT; Garbsen)
Temperaturmessgerät Testo 735-2	(OMNILAB; Art.-Nr.: 6322523)
Thermometer Thermoscan Ni- CrNi, MD 850	(Fluke; Kassel)
Tiefgefrierschrank (Typ 361354)	(Liebherr, Ochsenhausen)
Tiefgefrierschrank Tec-line	(Asskühl; Essen)
Transiluminator (TFX Table)	(peoLab, Erlangen)
Trockenschrank	(Memmert, Schwabach)
Vapodest 5	(Gerhardt, Bonn)
Verpackungsmaschine Multivac T 350	(Multivac; Wolfertschwenden)
Waage 880-22	(Gottlieb Kern & Sohn, Albstadt)
Waage BP 221 S	(Sartorius AG, Göttingen)
Waage MC1	(Sartorius AG, Göttingen)
Waage RC210D	(Sartorius AG, Göttingen)
Waage 3804 MP	(Sartorius AG, Göttingen)
Zentrifuge (Biofuge Pico)	(Heraeus, Hanau)
Zentrifuge (Sigma 301)	(Sigma Laborzentrifugen; Osterode)

## 10.2.4 Produktspezifikationen

### 10.2.4.1 Verpackungsmaschine Multivac T350

Verpackungs-Vakuum:	988 mbar aktuelles
Vakuumschaltpunkt	300 mbar
Gasschaltpunkt:	700 mbar
Versiegelungstemp.:	182 °C
Dauer der Versiegelung:	1 sec
Taktung:	3,1/min

### 10.2.4.2 MAP-Schalen

400 g Vakuum-Verpackungsschalen der Firma Linpac Plastics GmbH, Mühlheim

Länge:	190 mm
Breite:	144 mm
Tiefe:	49 mm
Volumen:	0,931 m <sup>3</sup>
Polypropylenanteil:	80 %
Kältestabilisator:	20 %
Einsatztemperatur:	-5 °C - +40 °C

**10.2.4.3 Verbundfolie Top Tray LAF 50**

Deckfolie Top Tray LAF 50 der Firma Südpack, Ochsenhausen

Dicke: 50 µm

Multilayer: PET 12 µm, 3 µm Kleber, 35 µm EVPP [mit EVOH 4 µm] und Antifogbeschichtung

Gasdurchlässigkeit: < 1,5 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> d bar O<sub>2</sub>; < 5,5 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> d bar CO<sub>2</sub> und < 1 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> d bar N<sub>2</sub>

Wasserdampfdurchlässigkeit: < 2,5 g/m<sup>2</sup> d)

**10.2.4.4 Primerspezifikaktion****UniF (APARA-BIOSCIENCE, Synthetische Biomoleküle)**

Sequenz: 5´-TCC TAC GGG AGG CAG CAG T-3´

Länge: 19-mer

GC Gehalt (%): 63,16

Molekulargewicht: 5854,83 Da

Konzentration: 57046,98 pmol

**UniR (APARA-BIOSCIENCE, Synthetische Biomoleküle)**

Sequenz: 5´-GAA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT-3´

Länge: 26-mer

GC Gehalt (%): 46,15

Molekulargewicht: 7962,18 Da

Konzentration: 55129,91 pmol

**IdhDF (APARA-BIOSCIENCE, Synthetische Biomoleküle)**

Sequenz: 5´-GGA CTT GAT AAC GTA CCC GC-3´

Länge: 20-mer

GC Gehalt (%): 55,00

Molekulargewicht: 6103,00 Da

Konzentration: 63966,87 pmol

**UniR (APARA-BIOSCIENCE, Synthetische Biomoleküle)**

Sequenz: 5´-GTT CCG TCT TGC ATT TGA CC-3´

Länge: 20-mer

GC Gehalt (%): 50,00

Molekulargewicht: 6050,92 Da

Konzentration: 63710,50 pmol

---

**10.2.4.5 Rezepturen der verwendeten Selektivnährmedien****SIN-Agar zum Nachweis von *Brochothrix thermosphacta***

Blut-Agar-Basis	(g/l)	40,0
Hefeextrakt	(g/l)	2,0
Di-Kalium-Hydrogenphosphat	(g/l)	1,0
Magnesiumsulfat	(g/l)	0,8
Natriumcarbonat	(g/l)	0,35
Myo-Inosit	(g/l)	10,0
Neutralrot 0,3 %	(ml/l)	10,0
pH-Wert		7,0

Nach dem 15-minütigen Autoklavieren bei einer Temperatur von +121 °C und dem anschließendem Temperieren auf +45 °C bis +50 °C wurde dem Agar 500 mg/l Streptomycinsulfat zugesetzt.

**GSP-Agar zum Nachweis von *Pseudomonas* ssp.**

GSP-Agarbasis 45 g/l

Zur Verbesserung der Selektivität wurden dem autoklavierten und auf +50 °C bis +45 °C abgekühlten Agar vor dem Gießen der Nährbodenplatten 0,06 g/l Penicillin-G zugemischt.

**OCLA-Agar zum Nachweis von *Listeria* ssp.**

OCLA-Agarbasis 33,6 g / 480 ml

Zur Verbesserung der Selektivität wurden dem autoklavierten und auf +50 °C bis +45 °C abgekühlten Agar vor dem Gießen der Nährbodenplatten aseptisch der gelöste Inhalt von 1 Flasche Chromogenic *Listeria* Differential Supplement und 1 Flasche Chromogenic *Listeria* Selective Supplement zugemischt.

**Baird-Parker-Agar zum Nachweis von *Staphylococcus aureus***

BP-Agarbasis 63 g/l

Zur Verbesserung der Selektivität wurden dem autoklavierten und auf +50 °C bis +45 °C abgekühlten Agar vor dem Gießen der Nährbodenplatten aseptisch 50 ml sterile Eigelb-Tellurit-Emulsion zugemischt.

## 10.2.4.6 Produktspezifikationen der eingesetzten Schutzkulturen



### B-SF-43 Bactoferm™ Produktinformation

<b>Beschreibung</b>	<p>Schutzkultur für gekochte oder gepökelte Fleischprodukte.</p> <p>B-SF-43 ist eine Einstammkultur aus <i>Leuconostoc carnosum</i> 4010 (frühere Bezeichnung 1043) und liegt in gefriergetrockneter Form vor. <i>Leuc. carnosum</i> 4010 hemmt als Bakteriozinbildner insbesondere die Entwicklung von <i>Listeria monocytogenes</i>. Darüber hinaus unterdrückt die Kultur das Wachstum verderbniserregender und pathogener Mikroorganismen, sowie die ursprünglich vorhandene Laktobazillenflora.</p> <p><i>Leuc. carnosum</i> wächst bei Temperaturen von 2-30 °C und hält sogar Gefriertemperaturen aus.</p>						
<b>Anwendung</b>	<p>B-SF-43 wird als Schutzkultur für Fleischprodukte empfohlen, welche vakuum- oder schutzgasverpackt sind und kalt gelagert werden.</p> <p>Die Kultur ist besonders gut für Produkte geeignet, bei denen weniger als 1% fermentierbare Zucker zugefügt werden. Wesentlich für den Anwender ist, dass sich die Vorteile hinsichtlich Qualitätsverbesserung und Produktsicherheit während der Lagerung einstellen, ohne dass die eigentlichen charakteristischen Eigenschaften der jeweiligen Fleischprodukte verändert werden.</p>						
<b>Verpackung</b>	<table border="0"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Packungsgröße</th> <th style="text-align: left;">Artikelnummer</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>50 x 25 g für 200 kg</td> <td>664285</td> </tr> <tr> <td>50 x 25 g für 100 kg</td> <td>666597</td> </tr> </tbody> </table>	Packungsgröße	Artikelnummer	50 x 25 g für 200 kg	664285	50 x 25 g für 100 kg	666597
Packungsgröße	Artikelnummer						
50 x 25 g für 200 kg	664285						
50 x 25 g für 100 kg	666597						
<b>Lagerung und Haltbarkeit</b>	<p>Gefriergetrocknete Kulturen sollten bei -18 °C oder darunter gelagert werden, um eine Haltbarkeit von mindestens 12 Monaten zu garantieren. Bei +5 °C beträgt die Haltbarkeitsdauer mindestens 6 Wochen.</p>						
<b>Dosierung</b>	<p>Siehe unten.</p>						
<b>Gebrauchsanweisung</b>	<p>Gekochte Fleischprodukte und aufgeschnittene Fleischwaren: Die Kultur kann im Tropf- oder Sprühverfahren eingesetzt werden. Bitte lesen Sie unsere Rezeptvorschläge für gekochte Fleischwaren, Wiener Würstchen und Mortadella.</p> <p>Schnittfeste und streichfähige Rohwurst: Die Kultur wird direkt mit den Trockenzutaten in den Kutter gegeben, kann aber auch wie oben beschrieben auf das fertige Produkt aufgetragen werden. Bitte lesen Sie unsere Rezepturvorschläge für Chorizo und streichfähige Rohwurst.</p> <p>Ungekochte Fleischprodukte wie Schinken: Die Kultur kann der Lake beigegeben werden, die in das Produkt eingespritzt wird. Sie kann aber auch wie oben beschrieben auf das Produkt aufgetragen werden. Bitte lesen Sie unsere Rezeptvorschläge für Schinken.</p>						

B SF 43 PI Okt 2002 1:2

Chr. Hansen GmbH, Dinklager Straße 8b, D-49451 Holdorf. Tel: +49 (0) 54 94 98 77-0. Fax: +49 (0) 54 94 98 77-77

Chr.Hansen A/S-Bogø Allé 10-12- 2970 Hørsholm-Denmark-Phone: +45 45 74 74 74 /Fax:+45 45 74 88 13 - www.chr-hansen.com



### Technische Daten

Produkt	B-SF-43
Stammzusammensetzung	<i>Leuconostoc carnosum</i>
Temperatur Opt./Max./Min.	20°C/30°C/2°C
Salztoleranz	10% Salz-in-Wasser, verträgt höhere Salzkonzentrationen
Eigenschaften	Bildung von D(-)-Milchsäure Bildung von Bakteriozinen
Fermentierbare Zucker	
Glukose (Dextrose)	+
Fruktose	+
Maltose	-
Laktose	-
Saccharose	+
Stärke	-
Trägerstoff	Glukose (Dextrose)
Aussehen	Gefriergetrocknetes, weißes Pulver mit bräunlichen Partikeln
Verpackung	Gefriergetrocknete Kultur, verpackt in wasser- und luftundurchlässigen Aluminiumbeuteln.

### Technischer Service

Sollten Sie Fragen zu den spezifischen Kulturen, Würz- bzw. Gewürzmischungen haben, so stehen Ihnen Chr. Hansen's weltweite Niederlassungen und die Fachleute unseres technischen Services mit Rat und Tat zur Seite.

### Referenzen

Referenzen und analytische Methoden sind auf Anfrage erhältlich.

Die vorerwähnten Informationen sind unseres Wissens wahr und korrekt und werden in gutem Glauben weitergegeben. Jedoch beinhalten sie keine Garantie oder Freiheit von Patentverletzungen.

CHR. HANSEN

## B-LC-20 SafePro™ Produktinformation

<b>Beschreibung</b>	Fleischkultur zur Verringerung von <i>Listerien</i> in Rohwurst.	
	B-LC-20 ist eine Einstammkultur aus <i>Pediococcus acidilactici</i> und liegt in gefriergetrockneter Form vor. <i>P. acidilactici</i> bildet Pediocin, ein Bakteriozin mit stark antagonistischen Eigenschaften gegen <i>Listeria monocytogenes</i> .	
<b>Anwendung</b>	B-LC-20 wird zusätzlich zur normalen Starterkultur für die Herstellung von Rohwurst europäischer Art, die unter 26 °C fermentiert werden, empfohlen. Unter diesen Bedingungen gewährleistet die Zugabe von B-LC-20 zur normalen Rezeptur eine wirksame Verringerung von Listerienwachstum, wobei weder das Säuerungsprofil noch die sensorischen Eigenschaften des Produktes beeinflusst werden.	
<b>Verpackung</b>	<b>Packungsgröße</b>	<b>Materialnummer</b>
	50 x 25g für 100 kg	669507
	50 x 25g für 200 kg	671879
<b>Lagerung und Haltbarkeit</b>	Gefriergetrocknete Kulturen sollten bei unter -17 °C (0 °F) gelagert werden, um eine Haltbarkeit von mindestens 18 Monaten zu garantieren. Bei +5 °C (41 °F) beträgt die Haltbarkeit mindestens 6 Wochen.	
<b>Gebrauchsanweisung</b>	Zugabe zum Brät: Der Beutelinhalt sollte direkt zu Beginn mit den Trockenzutaten in den Kutter gegeben werden.	
<b>Dosierung</b>	Beachten Sie bitte die Dosierungsanweisungen auf dem Beutel.	
<b>Reifungstemperatur</b>	Die empfohlene Reifungstemperatur liegt unter 26 °C (78,8 °F).	

B-LC-20 SafePro PI\_DE\_vs2 Dec 04.doc 1:2



### Technische Daten

<b>Kultur</b>	<b>B-LC-20</b>
<b>Stammzusammensetzung</b>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<b>Temperatur</b> Optimum/Maximum/Minimum	43 °C/52 °C/15 °C (104 °F/125 °F/59 °F)
<b>Salztoleranz</b>	10 % Salz-in-Wasser
<b>Eigenschaften</b>	Fakultativ anaerob Bildung von DL(+/-)-Milchsäure
<b>Fermentierbare Zucker</b>	
Glukose (Dextrose)	+
Fruktose	+
Maltose	-
Laktose	-
Saccharose	(+)
Stärke	-
<b>Trägerstoff</b>	Glukose (Dextrose)
<b>Aussehen</b>	Weißes Pulver mit bräunlichen Partikeln
<b>Verpackung</b>	Gefriergetrocknete Kultur verpackt in wasser- und luftundurchlässigen Aluminiumbeuteln

### Technischer

#### Service

Sollten Sie Fragen zu den spezifischen Kulturen, Würz- und Gewürzmischungen haben, so stehen Ihnen Chr. Hansens weltweite Niederlassungen und die Fachleute unseres technischen Services mit Rat und Tat zur Seite.

#### Referenzen

Referenzen und analytische Methoden sind auf Anfrage erhältlich.

Die hier enthaltenen Informationen sind unseres Wissens wahr und korrekt und werden in gutem Glauben weitergegeben. Sie beinhalten jedoch keine Garantie oder Freiheit von Patentverletzungen. Diese Informationen sind lediglich für Sie zum Abwägen und Überprüfen bestimmt.

B-LC-20 SafePro PI\_DE\_vs2 Dec 04.doc 2:2

### 10.3 *Prüfbögen der sensorischen Prüfungen*

**Beschreibende (deskriptive) Innerhalb / Außerhalb Prüfung:  
DIN 10973:2006-04**

**Prüfdatum:**

**Prüfername:**

**Rohprobe / Kochprobe**

Bitte bewerten Sie, ob das vorliegende Prüfmuster innerhalb oder außerhalb seiner Spezifikation liegt.

Bitte berücksichtigen Sie bei der Bewertung die Attribute: "Aussehen in der Verpackung", "Geschmack", "Geruch", "Farbe" und "Textur".

Der Standard ist als Referenz vorgegeben.

Prüfprobennr.	Innerhalb	Noch innerhalb	Schon außerhalb	Außerhalb	Bemerkungen

**Weitere Bemerkungen:**

---

---

---

---





---

**Beschreibende (deskriptive) Innerhalb / Außerhalb Prüfung: Teilprofil  
DIN 10973:2006-04-**

Prüfername:

Prüfprobennr.:

Prüfdatum:

**Rohprobe**

Bitte bewerten Sie die Ihnen vorgelegten Proben anhand der vorgegebenen Attribute, ohne diese zu verköstigen.

Der Standard ist als Referenz vorgegeben. Die grau unterlegten Kästchen entsprechen dem Standardprofil.

<b>Merkmalseigenschaft</b>	<b>Schwächer</b>	<b>Standard</b>	<b>Stärker</b>	<b>Bemerkungen</b>
<b>Aussehen</b>				
Rotfärbung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glanz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Geruch</b>				
Frisch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Charakteristisch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Säuerlich	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Textur/Konsistenz</b>				
Festigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Saftigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fädigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Abweichung/ Fehler</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>Nicht wahrnehmbar</b>			<b>stark</b>
	<b>Beschreibung:</b>			

**Beschreibende (deskriptive) Innerhalb / Außerhalb Prüfung: Teilprofil  
DIN 10973:2006-04-**

**Prüfername:**

**Prüfprobennr.:**

**Prüfdatum:**

**Kochprobe**

**Bitte bewerten Sie die Ihnen vorgelegten Proben anhand der vorgegebenen Attribute.**

**Der Standard ist als Referenz vorgegeben. Die grau unterlegten Kästchen entsprechen dem Standardprofil.**

<b>Merkmalseigenschaft</b>	<b>Schwächer</b>	<b>Standard</b>	<b>Stärker</b>	<b>Bemerkungen</b>			
<b>Geschmack</b>							
Frisch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Charakteristisch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Säuerlich	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Geruch</b>							
Frisch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Charakteristisch	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Säuerlich	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Textur/Konsistenz</b>							
Festigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Saftigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Fädigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Abweichung/ Fehler</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<b>Beschreibung:</b>
	<b>Nicht wahrnehmbar</b>			<b>stark</b>			

### Sensorische Prüfverfahren- Verbrauchertests E DIN 10974: 2007-06 (Entwurf)

Prüfername:

Prüfprobennr.:

Prüfdatum:

#### Rohprobe

Bewerten Sie bitte anhand der nachfolgend aufgeführten Skalen die dargereichte Probe, ohne diese zu verköstigen.

#### Wie gefällt Ihnen das Aussehen des Produktes in der Verpackung?

<input type="checkbox"/>								
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

#### Wie gefällt Ihnen der Geruch des Produktes?

<input type="checkbox"/>								
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

#### Wie gefällt Ihnen die Textur des Produktes?

<input type="checkbox"/>								
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

#### Wie gefällt Ihnen die Farbe des Produktes?

<input type="checkbox"/>								
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

#### Würden Sie das Produkt kaufen?

ja	weiß nicht	nein
----	------------	------

Begründen Sie bitte kurz Ihre Entscheidung.

-----

-----

-----

---

**Sensorische Prüfverfahren- Verbrauchertests  
E DIN 10974: 2007-06 (Entwurf)**

**Prüfername:**

**Prüfprobennr.:**

**Prüfdatum:**

**Kochprobe**

**Bewerten Sie bitte anhand der nachfolgend aufgeführten Skalen die dargereichte Probe.**

**Wie gefällt Ihnen der Geruch des Produktes?**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

**Wie gefällt Ihnen der Geschmack des Produktes?**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

**Wie gefällt Ihnen die Textur des Produktes?**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gefällt überhaupt nicht	gefällt gar nicht	gefällt nicht	gefällt weniger	weder noch	gefällt etwas	gefällt gut	gefällt sehr gut	gefällt extrem gut

**Würden Sie das Produkt kaufen?**

ja	weiß nicht	nein
----	---------------	------

**Begründen Sie bitte kurz Ihre Entscheidung.**

---

---

---

## 10.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Häufigkeit des Nachweises pathogener Mikroorganismen in Lebensmitteln (Zoonosenbericht 2006, BfR, Planproben)	5
Tabelle 2:	Vor- und Nachteile der MAP-Verpackungstechnologie (nach DAVIS et al. 1995; FELLOWS 2000)	16
Tabelle 3:	Konzentrationen, technologische Bedeutung und Nachteile einzelner Gaskomponenten beim MAP-Verfahren (Nach WALSH et al. 2002; STANBRIDGE et al. 1998)	20
Tabelle 4:	Mikrobiologische Kriterien für Hackfleisch gemäß der VO (EG) Nr. 2073/2005	22
Tabelle 5:	Bakteriozine der Fleisch-Assoziierten Milchsäurebakterien (GÄNZLE 2003)	34
Tabelle 6:	Übersicht über den Versuchsaufbau im VVS	67
Tabelle 7:	Übersicht über den Versuchsaufbau in HVS 2	69
Tabelle 8:	Basenfolge des eingesetzten Primerpaares	77
Tabelle 9:	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des Vorversuches 1	211
Tabelle 10:	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des VVS 2	213
Tabelle 11:	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des VVS 3:	214
Tabelle 12:	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des HVS 1	219
Tabelle 13:	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des HVS 2	221
Tabelle 14:	Ergebnisse der qualitativen Nachweise humanpathogener Mikroorganismen	223
Tabelle 15:	HVS 3: Ergebnisse des quantitativen Nachweises von <i>Listeria monocytogenes</i>	224
Tabelle 16:	HVS 3: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von <i>Salmonella enterica</i>	225
Tabelle 17:	HVS 3: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von <i>Staphylococcus aureus</i>	226
Tabelle 18:	HVS 4: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von <i>Listeria monocytogenes</i>	227
Tabelle 19:	HVS 4: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von <i>Salmonella enterica</i>	227
Tabelle 20:	HVS 4: Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse des quantitativen Nachweises von <i>Staphylococcus aureus</i>	228
Tabelle 21:	Physikalische Untersuchungsergebnisse des Vorversuches 1	230
Tabelle 22:	Ermittelte pH-Werte des VVS 3	231
Tabelle 23:	Physikalische Untersuchungsergebnisse des HVS 1	232
Tabelle 24:	Physikalische Untersuchungsergebnisse des HVS 2	233
Tabelle 25:	Ergebnisse der chemischen Vollanalysen	234
Tabelle 26:	HVS 2: Ergebnisse der instrumentellen Farbmessungen	235
Tabelle 27:	Auswertung der hedonischen Prüfung (Rohproben)	236
Tabelle 28:	Auswertung der hedonischen Prüfungen der Kochproben	238
Tabelle 29:	Auswertung der Rangordnungsprüfung	240
Tabelle 30:	Auswertung der In / Out-Tests	241
Tabelle 31:	Auswertung des deskriptiven In / Out-Tests in VVS 3	246
Tabelle 32:	Ergebnisse der Signifikanzberechnungen der Rangordnungsprüfung	248

---

Tabelle 33: Approximierte kritische Werte (F) des Friedmann-Tests (Busch-Stockfisch 2002, Anhang: 1.II-5a)	250
Tabelle 34: Reaktionsprofil des API 50 CHL Teststreifens	250
Tabelle 35: Spezifität des Primerpaares	251

## 10.5 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1:	VVS 1 Nachweis von Milchsäurebakterien in Putenhackfleisch aus Flügelfleisch bei +2 °C und +7 °C Lagerungstemperatur (n = 4)	82
Abbildung 2:	Nachweis von <i>P. acidilactici</i> (VVS 1)	85
Abbildung 3:	VVS 1 Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i> in Putenhackfleisch aus Flügelfleisch bei +2 °C und +7 °C Lagerungstemperatur (n = 3)	86
Abbildung 4:	VVS 1 gemittelte pH-Werte (n = 3) der Hackfleischproben aus Putenflügelfleisch bei +2 °C und +7 °C Lagerungstemperatur	88
Abbildung 5:	VVS 2 Ergebnisse (n = 3) verschiedener Eintragsmethoden bei 0,2 g Schutzkultur / kg Putenhackfleisch bei +2 °C Lagerungstemperatur	90
Abbildung 6:	Nachweis von <i>P. acidilactici</i> (VVS)	92
Abbildung 7:	VVS 3 Nachweis (n = 4) von Milchsäurebakterien bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleisches mit unterschiedlichen Konzentrationen B-LC 20 bzw. B-SF 43	93
Abbildung 8:	VVS 3 Nachweis (n = 4) der aeroben mesophilen GKZ bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleisches mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43	94
Abbildung 9:	VVS 3 Nachweis (n = 4) der <i>Enterobacteriaceae</i> bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleisches mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43	95
Abbildung 10:	VVS 3 Nachweis (n = 4) der <i>Pseudomonas</i> ssp. bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleisches mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 bzw. B-SF 43	96
Abbildung 11:	VVS 3 Nachweis (n = 4) von <i>Brochotrix thermosphacta</i> bei +2 °C Lagerungstemperatur nach Beimpfung des Putenhackfleisches mit unterschiedlichen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 und B-SF 43	98
Abbildung 12:	Nachweis von <i>P. acidilactici</i> (VVS 3)	99
Abbildung 13:	VVS 3 pH-Werte der Putenhackfleischproben nach Beimpfung mit verschiedenen Konzentrationen der Schutzkultur B-LC 20 und B-SF 43 bei +2 °C Lagertemperatur (n = 5)	100
Abbildung 14:	VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests an Tag 0 (n = 3)	101
Abbildung 15:	VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 3 (n = 3)	102
Abbildung 16:	Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 5 (n = 3)	103
Abbildung 17:	VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 7 (n = 3)	104
Abbildung 18:	VVS 3 Ergebnis des deskriptiven In/Out-Tests Tag 10 (n = 3)	105
Abbildung 19:	VVS 3 Gesamtergebnis des deskriptiven In/Out-Tests des gesamten Untersuchungszeitraumes (n = 3)	106
Abbildung 20:	HVS 1 Nachweis von Milchsäurebakterien (n = 5)	107
Abbildung 21:	HVS 1 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (n = 5)	108
Abbildung 22:	HVS 1 Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i> (n = 5)	109
Abbildung 23:	HVS 1 Nachweis von <i>Pseudomonas</i> ssp. (n = 5)	110
Abbildung 24:	HVS 1 Nachweis von <i>Brochotrix thermosphacta</i> (n = 5)	111
Abbildung 25:	Ergebnisse der $a_w$ -Wertmessungen in HVS 1	112
Abbildung 26:	Ergebnisse der pH-Wertmessungen in HVS 1	112

---

Abbildung 27:	HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 0 (n = 3)	113
Abbildung 28:	HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 3 (n = 3)	114
Abbildung 29:	HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 5 (n = 3)	115
Abbildung 30:	HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 7 (n = 3)	117
Abbildung 31:	HVS 1 Bewertung der sensorischen Produktqualität an Tag 10 (n = 3)	118
Abbildung 32:	HVS 1 Gesamtbewertung der sensorischen Produktqualität aller Prüfzeitpunkte	119
Abbildung 33:	HVS 2 Nachweis von Milchsäurebakterien (n = 5)	120
Abbildung 34:	HVS 2 Nachweis der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (n = 5)	121
Abbildung 35:	HVS 2 Nachweis von <i>Enterobacteriaceae</i> (n = 5)	122
Abbildung 36:	HVS 2 Nachweis von <i>Pseudomonas</i> ssp. (n = 5)	123
Abbildung 37:	HVS 2 Nachweis von <i>Brochothrix thermosphacta</i> (n = 5)	124
Abbildung 38:	HVS 2 qualitativer Nachweis von <i>Listeria</i> ssp. (n = 5)	125
Abbildung 39:	HVS 2 qualitativer Nachweis von <i>Campylobacter</i> ssp. (n = 5)	125
Abbildung 40:	HVS 2 quantitativer Nachweis von inokulierten <i>L. monocytogenes</i> und Milchsäurebakterien in BHI-Bouillon (n = 5)	126
Abbildung 41:	HVS 2 quantitativer Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i> und Milchsäurebakterien in Geflügelhackfleisch (n = 5)	127
Abbildung 42:	HVS 2 quantitativer Nachweis von <i>Salmonella enterica</i> und Milchsäurebakterien in BHI Bouillon (n = 5)	128
Abbildung 43:	HVS 2 quantitativer Nachweis von <i>Salmonella enterica</i> und Milchsäurebakterien in Geflügelhackfleisch (n = 5)	129
Abbildung 44:	HVS 2 quantitativer Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i> und Milchsäurebakterien in BHI-Bouillon (n = 5)	131
Abbildung 45:	HVS 2 quantitativer Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i> und Milchsäurebakterien in Geflügelhackfleisch (n = 5)	132
Abbildung 46:	Ergebnisse der $a_w$ -Wertmessungen in HVS 2 (n = 5)	133
Abbildung 47:	Ergebnisse der pH-Wertmessungen in HVS 2 (n = 5)	134
Abbildung 48:	L*-Werte der Instrumentellen Farbmessung in HVS 2	135
Abbildung 49:	a*-Werte der Instrumentellen Farbmessung in HVS 2	135
Abbildung 50:	b*-Werte Instrumentelle Farbmessung HVS 2	136
Abbildung 51:	HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 0 (n = 3)	137
Abbildung 52:	HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 3 (n = 3)	138
Abbildung 53:	HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 5 (n = 3)	139
Abbildung 54:	HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 7 (n = 3)	140

---

Abbildung 55:	HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch an Tag 10 (n = 3)	141
Abbildung 56:	HVS 2 hedonische Rangordnungsprüfung zur Bewertung der sensorischen Gesamtqualität von Putenoberkeulenhackfleisch, Gesamtverteilung der Rangmittel aller Prüfzeitpunkte (n = 3)	142
Abbildung 57:	HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Aussehen in der Verpackung“	143
Abbildung 58:	HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Geruch“	144
Abbildung 59:	HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Geschmack“	145
Abbildung 60:	HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Textur“	145
Abbildung 61:	HVS 2 Hedonischer Akzeptanz-Test Attribut „Farbe“	146

## 10.6 *Danksagung*

Zuallererst möchte ich Frau Prof. Dr.-Ing. Brita M. Watkinson für die Überlassung des interessanten Themas meinen herzlichsten Dank aussprechen. Dafür, dass sie mir die Chance gegeben hat, diese Dissertation anzufertigen und für die freundliche Unterstützung während der gesamten Zeit. Nicht zuletzt möchte ich ihr auch für die Koordination und Betreuung des Projektes, sowie für ihre spontane und jederzeit abrufbare Unterstützung bei angefallenen Problemen danken. Ihr Büro stand auch, und gerade in stressigen Zeiten jederzeit für Fragen und Sorgen, aber auch für Anregungen und Vorschläge meinerseits, offen.

Herrn Prof. Dr. vet. med. B. Nowak gilt mein Dank für seine Betreuung der Arbeiten, die an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt wurden, sowie für die Koordination des Projektes und die Kontaktpflege zu den beteiligten Firmen, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Nicht zuletzt durch die institutsübergreifende Zusammenarbeit und Hilfe konnte dieses Projekt zu einem erfolgreichen Abschluss gebracht werden.

Herrn Dr. Werlein möchte ich ebenfalls für die Zeit danken, die er sich jederzeit genommen hat. Er hatte immer ein offenes Ohr, manchen guten Ratschlag und viel Geduld. Vor allem für die Bereitstellung der Laborräume und die Nutzungsmöglichkeit der technischen Ressourcen möchte ich ihm danken.

Meinen Kolleginnen und Kollegen Janna, Jutta, Kerstin und Kevin gilt mein ganz besonderer Dank. Während unserer gemeinsamen Promotionszeit haben wir uns zu einem eingespielten Team entwickelt, das auch in schwierigen Zeiten, wie zum Beispiel dem Umzug unseres Institutes, alle anfallenden Aufgaben und Schwierigkeiten gemeistert hat. Nicht zuletzt durch diese konstruktive und freundschaftliche Zusammenarbeit und Unterstützung war es möglich, diese Dissertation und die angefallenen Arbeiten im Institut erfolgreich zu beenden.

Ebenfalls danken möchte ich meinen Kolleginnen Maike Ehler, Grazyna Schatton, Gudrun Gläser und Heike Kohrs, die mir im Rahmen ihrer Beschäftigung als Labortechnische Assistentinnen viele unliebsame und nervenaufreibende Arbeiten in den Laboren, aber auch im täglichen Universitätsstress abgenommen haben. Durch ihre fachfraulichen Tipps und Ratschläge löste sich so manches, anfänglich scheinbar unlösbare Problemchen, meist in Wohlgefallen auf.

Anika Engelke und Berit Ramm danke ich für ihre Unterstützung und Begleitung auf allen mikrobiologischen Pfaden, die im Rahmen dieser Arbeit beschritten wurden. Schier endlos erscheinende Stunden im Labor und vermeintlich unlösbare Aufgaben waren durch ihr engagiertes Mitwirken im Projekt häufig leichter zu ertragen bzw. zu lösen.

Christoph Hische und Adalbert Golke gilt mein besonderer Dank für ihre Unterstützung bei den sensorischen und molekularbiologischen Untersuchungen dieser Arbeit. Durch ihre Unterstützung und Bereitschaft, auch mal persönliche Interessen für eine Weile hinten anzustellen, konnte so manche Klippe sehr häufig gemeinsam und manchmal auch mit Galgenhumor umschifft werden, ohne dabei Schiffbruch zu erleiden.

---

Inken Schuricht und Simone Imke danke ich besonders für die Durchführung der chemischen Untersuchungen an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover.

Robert Peris danke für die Unterstützung in allen Dingen, die mit Computern und ähnlichem technischen „Teufelszeug“ zu tun hatten, sowie für seinen immerwährenden Einsatz für unser Institut im Rahmen des Umzuges und der Einrichtung der neuen Räumlichkeiten.

Frau Dr. Theda von Müffling, Dr. Christian Strotmann, Dr. Markus Langen und vielen anderen, hier nicht namentlich erwähnten Mitarbeitern der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover danke ich besonders für die institutsübergreifende und freundliche Unterstützung bei Arbeiten, die im Institut für Lebensmittelqualität und –sicherheit durchgeführt wurden. Besonderer Dank gilt hier Christian und Markus, die mir bei technischen Problemen und Fragestellungen bezüglich der Verpackungstechnologie stets hilfreich zur Seite standen.

Der Firma HMC danke ich für die Bereitstellung der Multivac-Schalenversiegelungsanlage und die konstruktive Kooperation während der Projektlaufzeit, die dieses Projekt erst ermöglicht hat.

Der Firma Air Solution gilt ebenfalls mein Dank für die Zusammenarbeit im Rahmen des Projektes.

Der Firma Chr. Hansen danke ich für die großzügige Bereitstellung der Mikroorganismenkulturen, die im Rahmen diese Projektes und darüber hinaus verwendet wurden.

Von meinen beruflichen Wegbegleitern und –bereitern möchte ich vor allem dem Hotel „Einbecker Sonnenberg“ und dem „Sertürner Krankenhaus“ in Einbeck meinen besonderen Dank aussprechen, denn einen sehr großen Teil meiner beruflichen, aber auch meiner persönlichen Entwicklung verdanke ich diesen beiden Meilensteinen in meinem Leben. Ihr habt mir die Möglichkeiten gegeben und mich in dem Bemühen, das zu werden, was ich heute bin, unterstützt und gefördert. Dafür danke ich Euch.

Nicht zuletzt möchte ich allen Freunden, Bekannten und Kollegen danken, die mich in meinem bisherigen Leben, in der Schulzeit, während der Ausbildung und Meisterschule, während meines Studiums, der Projektphase und der Dissertationszeit hilfreich und tatkräftig unterstützt haben und hier jetzt nicht namentlich aufgeführt sind. Hier allen Personen gerecht zu werden, würde den Rahmen dieser Arbeit schier sprengen, deshalb möchte ich hier noch einmal exemplarisch allen Helferlein meinen besonderen Dank aussprechen.

Meinen Eltern, Margitta und Hans Jürgen Kosko, danke ich für ihren Glauben an mich und die Unterstützung und Hilfe, die sie mir immer wieder entgegengebracht haben. Auch für die umfangreichen Hilfen bei der Korrektur und den Übersetzungen möchte ich mich auf diesem Wege nochmals bedanken. Ich war und bin bestimmt nicht immer der Sohn, den ihr Euch vielleicht gewünscht habt, umso mehr danke ich Euch dafür, dass Ihr mich immer wieder mit offenen Armen empfangen, alle meine Fehler und Schwächen toleriert und mich so akzeptiert habt, wie ich bin. Auch wenn ich es vielleicht nicht immer zeigen konnte und kann, ich hab Euch sehr lieb und bin froh, dass es Euch gibt.

---

Auch meinen Großeltern in Leipzig und Cottbus, sowie meinen beiden Schwestern Jana und Katy in Halle danke ich dafür, dass sie an mich geglaubt haben und mich in dem, was ich versucht habe zu finden bzw. zu erreichen, unterstützt haben.

Marion und Uwe Hüpsel möchte ich meinen unendlichen Dank aussprechen, dass sie mich so liebevoll und selbstverständlich in ihre Familie aufgenommen haben, und mir das Gefühl geben, der „Richtige“ für ihre Tochter zu sein. Ich bin mir im Klaren darüber, dass all das, was Ihr für mich getan habt und immer noch tut, nicht selbstverständlich ist. Ihr gebt mir das Gefühl, bei Euch zuhause zu sein und ohne die entspannenden Badewannen, Saunagänge und Poolstunden, sowie die herrlichen Skatabende, das leckere Essen und die gemeinsamen Spaziergänge mit den Hunden, würde mir ein sehr großes Stück Leben und Liebe in meinem Leben fehlen. Ich habe es Euch noch nie gesagt, aber ich habe Euch sehr lieb gewonnen und ich bin froh und glücklich, dass ich schon bald Euer Schwiegersohn sein darf.

Dir Judith danke ich für Deine unbeschwerte und lebenslustige Art, die mich immer wieder zum Lachen bringt, und die so manche Sorgenfalte in ein Lachfältchen verwandelt hat. Ich hoffe, Du kannst mir die ein oder andere vermeintliche „Sonderbehandlung“ verzeihen, die ich bei Euch zu Hause genossen habe. Ich bin froh, Dich kennengelernt zu haben und freue mich auf noch viele unbeschwerte und lustige Stunden mit Dir und Basti.

Sandy und Phillip, Euch danke ich für Eure Geduld und die Nachsicht, die Ihr mit mir besonders in den letzten zwei Jahren hattet. Wie oft habe ich zu Euch gesagt, dass es gerade stressig und ein bisschen ungünstig ist und dass bald wieder bessere Zeiten kommen, in denen wir auch wieder mehr Zeit füreinander haben. Jetzt ist es soweit, und ich sage Euch, dass die besseren Zeiten jetzt gekommen sind und ich wieder mehr Zeit für Telefonate, Besuche und gemeinsame Ferien habe. Ich hab Euch beide ganz doll lieb und bin in Gedanken immer bei Euch!

Dir Sarah möchte ich für Deine Liebe danken, die mir die Kraft und die Zuversicht, aber auch die Freiheit gegeben hat, dieses Ziel zu erreichen. Deine schier endlose Geduld, Dein Verständnis und Deine Nachsicht haben es mir ermöglicht, das Projekt „Promotion“ zu einem erfolgreichen und versöhnlichen Ende zu bringen. Ohne Dich hätte ich dies wahrscheinlich nicht geschafft. Die letzten Monate war ich für Dich mit Sicherheit nicht immer leicht zu ertragen und unser gemeinsames Leben hat sich dramatisch auf ein zusammen wohnen reduziert. Diese Phase ist jetzt vorbei und ihr, das Leben und Du, habt mich ab jetzt wieder. Ich liebe Dich bis zum Mond und wieder zurück. Und ja, ich will Dich heiraten und mit Dir alt werden. Ab jetzt wird alles gut. Versprochen!

## 10.7 *Eidesstattliche Erklärung*

Hiermit erkläre ich, Peter Kosko, dass ich die Dissertationsschrift „Untersuchungen zur mikrobiologischen Beschaffenheit und sensorischen Produktqualität von Geflügelhackfleisch nach Biokonservierung mit Milchsäurebakterien“ selbstständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel und Quellen sowie die zur Hilfeleistung herangezogenen Institutionen vollständig angegeben habe.

Die vorgelegte Dissertation wurde noch nicht als Diplom-, Examens- oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet.

Hannover, den 10.03.2009

Peter Kosko

## 10.8 *Lebenslauf*

### Allgemeines:

Name: Kosko  
Vorname: Peter  
Geb. Datum: 15.04.1972  
Geb. Ort: Cottbus  
Anschrift: Beerenweg 24, 38518 Gifhorn

### Schulischer Werdegang:

1978 - 1988 Besuch der polytechnischen Oberschule in Halle Neustadt

### Beruflicher Werdegang

1978 - 1988 Ausbildung zum Koch im "Gastronom" Halle Neustadt  
1988 - 1990 Koch im Intercity- Hotel Stuttgart  
1990 - 1992 Koch im Centralhotel „Kaiserhof“ Hannover  
1992 - 1994 Koch im Hotel „Fissler Post“ in Stuttgart  
1994 - 1996 Koch im Hotel „Einbecker Sonnenberg“ in Einbeck  
1996 - 1997 Küchenleiter im Landhaus Greene  
1998 - 1998 stellvertr. Küchenleiter im Hotel „Einbecker Sonnenberg“  
1998 - 2002 stellvertr. Küchenleiter im Sertürner-Krankenhaus in Einbeck

### Universitärer Werdegang

2002 - 2006 Lehramtsstudium für berufsbildende Schulen am Institut für Lebensmittelwissenschaft der Universität Hannover  
2003 - 2005 wiss. Hilfskraft am Institut für Lebensmittelwissenschaft der Universität Hannover  
2007 - 2009 Promotion am Inst. für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover

### Immatrikulationsnummer

2159680

### Qualifikationen:

1988 Realschulabschluss  
1990 Facharbeiterprüfung  
1999 Ausbildereignungsprüfung  
2000 Meisterprüfung  
2001 Prüfung zum diätetisch geschulten Koch (DGE)  
2006 Erstes Staatsexamen für LbS Lebensmittelwissenschaft, Unterrichtsfach: Biologie

## 10.9 Veröffentlichungen

### Fachtagungen und Poster

10. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, 09. - 11.04.2008, Stuttgart:

- **Kosko, P., Watkinson, B. M., Werlein, H. D.**, Leibniz Universität Hannover  
*Untersuchungen zur mikrobiologischen und sensorischen Produktqualität von Geflügelhackfleisch nach Biokonservierung mit Milchsäurebakterien.*
- **Werlein, H. D., Kosko, P., Schmidt, F., Calenberg, M.**, Leibniz Universität Hannover  
*UVC Strahlung zur Bandentkeimung.*

49. Arbeitstagung der DVG des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, 29.9.-2.10. 2008

Garmisch-Partenkirchen:

- **Kosko, P., Watkinson, B. M., Werlein, H. D.**, Leibniz Universität Hannover  
*Untersuchungen zur mikrobiologischen und sensorischen Produktqualität von Geflügelhackfleisch nach Biokonservierung mit Milchsäurebakterien.*

50. Arbeitstagung der DVG des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene, 29.9.-2.10. 2009

Garmisch-Partenkirchen:

- **Kosko, P., Watkinson, B. M.**, Leibniz Universität Hannover  
*Biokonservierung von frischem Geflügelhackfleisch mit *Pediococcus acidilactici*.*
- **Kosko, P., Watkinson, B. M.**, Leibniz Universität Hannover  
*Einfluss ausgewählter Schutzkulturen auf die sensorische Produktqualität von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch.*

### Publikationen

**Kosko, P.; Watkinson, B. M.; Werlein, H. D.** (2008):

*Biokonservierung von frischem, MAP-verpacktem Geflügelhackfleisch durch Schutzkulturen.*

Nürnberg: Dr. Harnisch Verlags GmbH, Hygiene Report 4, (2008) S.4 – 8.