

HOCHDRUCKBEHANDLUNG BEI FLEISCHERZEUGNISSEN*

Dederer Irina

Zusammenfassung: Es wurden die durch die Hochdruckbehandlung (HDB) von Fleischerzeugnissen hervorgerufenen chemisch-physikalischen, mikrobiologischen und sensorischen Veränderungen diskutiert. Die Wirkung vom hohen hydrostatischen Druck wurde auf die Inaktivierung der produktspezifischen Kontaminationsflora in vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt und der Bakteriensporen in Brühwurstkonserven untersucht. Durch die HDB mit 600 MPa bei 20 °C konnte kein Wachstum von nicht sporenbildenden Bakterien festgestellt werden und somit wurde die Haltbarkeit des untersuchten Brühwurstaufschnittes wesentlich verbessert. Bei der kombinierten Anwendung von Hochdruck- und Wärmebehandlung war es möglich durch die druckinduzierte Auskeimung bei einem moderaten Druck von 300 MPa und nachfolgender Pasteurisation alle Sporenbildner zu inaktivieren. Die so hergestellten tropenlagerfähigen Brühwurstkonserven waren von sehr guter sensorischer Qualität.

Schlüsselwörter: hochdruckbehandlung, fleischerzeugnisse, brühwürstaufschnitt

High-pressure treatment of meat products

Abstract: Chemical-physical, microbiological and sensory changes caused by the high-pressure treatment (HPT) of meat products were reported. The effect of the high hydrostatic pressure was examined for the inactivation of the contamination flora specific for vacuum-packed sliced cooked sausages and the bacterial spores in canned cooked sausages. By the HPT of 600 MPa and 20 °C it was ascertained no growth of the not sporeformers and therefore the stability of the examined sliced cooked sausages was substantially improved. With the combined application of high-pressure and heat treatment it was possible to inactivate all sporeformers by the pressure-induced germination with a moderate pressure of 300 MPa and the following pasteurization. Tropical-storable canned cooked sausages made in this way were of very good sensory quality.

Key words: high-pressure treatment, meat products, cooked sausages

Tretiranje proizvoda od mesa visokim pritiskom

Sadržaj: U radu su prikazane fizičko-hemijske, mikrobiološke i senzorne promene proizvoda od mesa izazvane tretmanom sa visokim pritiskom (TVP). Ispitivan je efekat visokog hidrostatskog pritiska na inaktivaciju mikroflora specifične za vakuum pakovanje slajsovane kuvane kobasice i bakterijskih spora kod kuvanih kobasica u konzervi. Primenom tretmana sa visokim pritiskom (TVP) od 600 Mpa, na temperaturi od 20 stepeni, postignuta je potpuna inhibicija sporogenih mikroorganizama, i na taj način, značajno povećana stabilnost ispitivanih kuvanih kobasica. Kombinovanom primenom tretmana sa visokim pritiskom (TVP) i termičkog tretmana inaktivisani su svi sporogeni mikroorganizmi, germinacijom koja je izazvana pritiskom, primenom umerenog pritiska od 300 Mpa i pratećom pasterizacijom. Ovakvo izrađene tropske kuvane kobasice bile su veoma dobrog senzornog kvaliteta.

Ključne reči: tretman visokim pritiska, proizvodi od mesa, kuvane kobasice

Einleitung

Die Anwendung hoher hydrostatischer Drücke als neues und zukunftsweisendes Verfahren der Lebensmittelbehandlung hat sich innerhalb des letzten Jahrzehnts in einigen Lebensmittelbereichen praktisch durchgesetzt. Die Lebensmittel, wie auch Fleischerzeugnisse, können auf relativ schonende Weise, ohne Anwendung hoher Temperaturen haltbar gemacht werden. Es gibt aber bei Fleisch und

Fleischerzeugnissen wenige Forschungsergebnisse, die die Vorteile dieser Technologie gegenüber konventionellen Konservierungsverfahren belegen.

Auf dem internationalen Markt gibt es bereits einige Produkte, die mit großem Erfolg vermarktet werden. Die folgenden Einsatzgebiete geben einen Eindruck von den vielfältigen Möglichkeiten dieses neuen Konservierungsverfahrens: Japan: Säfte, Konfitüren, Desserts, Fruchtkonzentrate; USA: Avocadopürees, Direktsäfte; England:

*Plenary paper on International 55th Meat Industry Conference held from June 15-17th 2009 on Tara mountain

*Plenarno predavanje na Međunarodnom 55. savetovanju industrije mesa, održanom 15-17. juna 2009. na Tari

Milchprodukte; Frankreich: Gänseleberpastete, Direktsäfte; Spanien: Roh- und Kochschinkenprodukte; Kanada: Geflügelfleischprodukte; Deutschland: Rohschinken, Fruchtzubereitungen. Bei den genannten Produkten brachte die Hochdrucktechnologie deutliche Qualitätsvorteile gegenüber der konventionellen Hitzekonservierung.

Zweck der HDB von Lebensmitteln: Konservierung (Abtötung von Mikroorganismen), Veränderung von Reaktionskinetiken, Proteindenaturierung, Enzyminaktivierung oder –aktivierung, Änderung der Eigenschaften von Polymeren (Kohlenhydraten und Fetten). Die hydrostatischen Drücke, die im Lebensmittelbereich angewandt werden, bewegen sich im Bereich zwischen 100 und 1000 MPa. Die Druckgefäßgrößen kommerzieller Anlagen liegen heute zwischen 100 und 500 Litern. Die Behandlung erfolgt meist diskontinuierlich. Wegen der augenblicklich noch hohen Gerätekosten beschränkt sich die Anwendung auf qualitativ hochwertige Produkte. Es ist allerdings abzusehen, dass sich mit fortschreitender technischer Entwicklung und größerer praktischer Erfahrung die Anzahl vermarktungsfähiger Produkte erhöhen wird und die Kosten dieser umweltfreundlichen Technologie zurückgehen werden. Die weitaus meisten Anwendungen und Patente befassen sich bisher mit Obst und Gemüse, während Lebensmittel wie Milch, Fleisch und Fisch, vor allem hinsichtlich chemisch-physikalischer Wirkungen einer HDB, eine untergeordnete Rolle spielen. Dies mag damit zusammenhängen, dass die durch die HDB ausgelösten Umsetzungen in den protein- und fetthaltigen Lebensmitteln tierischer Herkunft vielgestaltiger und damit unübersichtlicher sind als in der Matrix eines Gemüses oder eines Obstsaftes.

Untersuchungen an Fleisch und Fleischerzeugnissen zeigten, dass die sensorische Qualität nur bedingt erhalten werden kann. Die Vorbehandlung – Denaturierung, Abtrocknungsgrad, Oberflächen-Volumen-Verhältnis – sowie Rezeptur und Umgebungsbedingungen haben Einfluss auf durch die HDB bewirkte Effekte in Farbe, Konsistenz, Geschmack und Mikrobiologie. Um für die Praxis relevante Resultate zu erhalten, müssen konkrete Untersuchungen an einzelnen Lebensmitteln durchgeführt werden.

Einfluss der HDB auf die stoffliche Zusammensetzung

Wasserlösliche **Vitamine** wie Vitamin C, Vitamine B1, B2 und B6 und Folsäure scheinen durch die Druckbehandlung unter realistischen Produktionsbedingungen nicht oder nur wenig (Serfert, 2002) beeinflusst zu werden.

Über die **Oxidation der Fette** im Lebensmittel durch Hochdruckbehandlung finden sich widersprüchliche Aussagen, die oftmals nicht deutlich gegen die Veränderungen während der Lagerung abgegrenzt sind. Enzymatische Restaktivitäten, Fettsäurespektrum, Wassergehalte, pH-Wert, Oxidationsgrad vor der Druckbehandlung, Pro- und Antioxidantien haben einen entscheidenden Einfluss auf die druckinduzierte Veränderung der Lipide und den Oxidationsverlauf während der Lagerung. Strukturveränderungen der Zellmembran bis hin zur Zerstörung des Zellverbundes beeinflussen ebenfalls die Oxidation der Lipide. Ergebnisse unserer Untersuchung der Fettoxidation bei Brühwurstkonserven zeigten, dass die HDB nur einen minimalen Einfluss auf die Fettoxidation hat. Bei der Rohwurst kam es durch HDB zu einem leichten Anstieg der Fettoxidationsparameter. Während der nachfolgenden Lagerung traten geringfügige oxidative hochdruckinduzierte Fettveränderungen auf.

Kohlenhydrate zeigen sich weitgehend unempfindlich gegen Druck. Jedoch können Polysaccharide hinsichtlich Wasserbindungs- und Gelbildungseigenschaften beeinflusst werden. Die Veränderungen betreffen jedoch die funktionalen Eigenschaften und beinhalten nicht strukturelle Änderungen. (Pfister, 2000).

Die Primärstruktur der **Proteine** wird durch Druck nicht beeinflusst. Der Druck beeinflusst hydrophobe Wechselwirkungen und damit die Quartärstruktur, die Tertiärstruktur durch reversibles Entfalten und die Sekundärstruktur durch irreversibles Entfalten des Proteins. Druckinduzierte Gele haben andere rheologische Eigenschaften als hitzeinduzierte. Die Protease-Abbaubarkeit druckmodifizierter Proteine ist erhöht, was möglicherweise auf eine höhere Wasserbindungskapazität hindeutet. Von besonderem Interesse ist das Verhalten von **Prion-Proteinen**. So führte Hochdruckbehandlung von (Hamster und Rinder) Prion-Proteinen zu einer Verringerung der Proteolyseresistenz der Prionen (Heinz, Kortschack, 2002).

Bei **Enzymen** kann durch Druckbehandlung sowohl die Aktivität als auch die Substratspezifität beeinflusst werden. Auch eine partielle Inaktivierung ist möglich, Reaktivierung der Enzymaktivität, z.B. während der Lagerung, kann u.a. zur Bildung unerwünschter Stoffe führen. In einigen Fällen ist auch eine Aktivitätssteigerung von Enzymen unter Druck zu beobachten, was während der Druckaufbauphase zu Fehlparfömen führen könnte. Bildung toxischer Verbindungen aufgrund veränderter Substratspezifität unter Druck wurde bisher nicht beobachtet (Fernandez Garcia, 2002)

Einfluss der HDB auf die vegetativen Mikroorganismen

Da bei HDB um ein Konservierungsverfahren geht, wird in der ersten Linie über die Inaktivierung der Bakterien gesprochen. Grundsätzlich sind zwei antimikrobielle Wirkungen zu unterscheiden: Wachstumsverzögerung und Abtötung der Keime. Eine vollständige Abtötung aller vorhandenen vegetativen Keime gelingt oft nur bei sehr hohem Druck. Vegetative Zellen der Bakterien werden durch hydrostatischen Druck im Bereich von 150–800 MPa abgetötet. Mit dem steigenden Druck erhöht sich auch die Inaktivierungsrate. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von druckbehandelten Bakterienzellen zeigten, dass es nur selten zu einer sichtbaren Zerstörung der Zellen kommt. Meist bleiben die Zellen in ihrer Struktur erhalten; weisen dann nur einige Veränderungen der Membranen auf. Direkt nach der Behandlung sind die Zellen nur eingeschränkt wachstumsfähig. Sie können in geeigneten Medien sich erholen und wieder vermehren. Wichtig ist, dass auf die Empfindlichkeit von Bakterien gegenüber dem Hochdruck eine ganze Reihe von Faktoren beeinflussen. Hierzu gibt es eine Vielzahl von Untersuchungen auch mit pathogenen Mikroorganismen. Das Überleben vegetativer Zellen während und nach einer HDB hängt stark von der Lebensmittelmatrix.

Neuere Literaturergebnisse deuten darauf hin, dass die Hochdruckbehandlung (300 MPa, 17 °C, 10 min) eine zusätzliche Hürde für die mikrobiologische Stabilität von schwachsaurer Rohwurst hin-

sichtlich der Salmonellen darstellt. Für die Inaktivierung von Listerien war Druck von 600 MPa für 10 Minuten notwendig.

Die folgenden mikrobiologischen Daten unserer Untersuchung beziehen sich auf die Entwicklung der Keimflora, die im Wesentlichen durch Rekontamination auf die thermisch behandelte Brühwurst (Mortadella) und damit in die Packung gelangt ist. Verglichen werden jeweils die nach unterschiedlichen Verfahren hochdruckbehandelte Ware und eine nicht hochdruckbehandelte Kontrollcharge. Erfasst wurden die aerobe, mesophile Gesamtkeimzahl, die Gruppe der Laktobazillen sowie die Vertreter der *Enterobacteriaceae*.

Die Hochdruckbehandlung wurde in einer Hochdruckanlage der Fa. EPSI (Belgien) bei Raumtemperatur (20°C) mit 600 MPa als Intervallbehandlung mit zweimal 4 Minuten Druckhaltezeit und 2 Minuten Pause durchgeführt. Unmittelbar nach der Hochdruckbehandlung und nach 7, 14, 21, 28, 35 und 38 Tagen bei 7 °C Kühlung wurden die Brühwurstproben mikrobiologisch untersucht.

Durch die Druckbehandlung wurde die Gesamtkeimzahl um ca. 1 Zehnerpotenz reduziert (Abb.1). Die Zahl der Milchsäurebakterien in behandelten Proben lag unter der Nachweisgrenze. Die *Enterobacteriaceae* waren in keinem Fall nachweisbar. Während der Lagerung stieg die Gesamtkeimzahl der Kontrollen bis zum 35. Lagerungstag bis auf 10^8 KBE/g an. Die Mikroflora der Kontrollen bestand überwiegend aus den Milchsäurebakterien. Während der gesamten Lage-

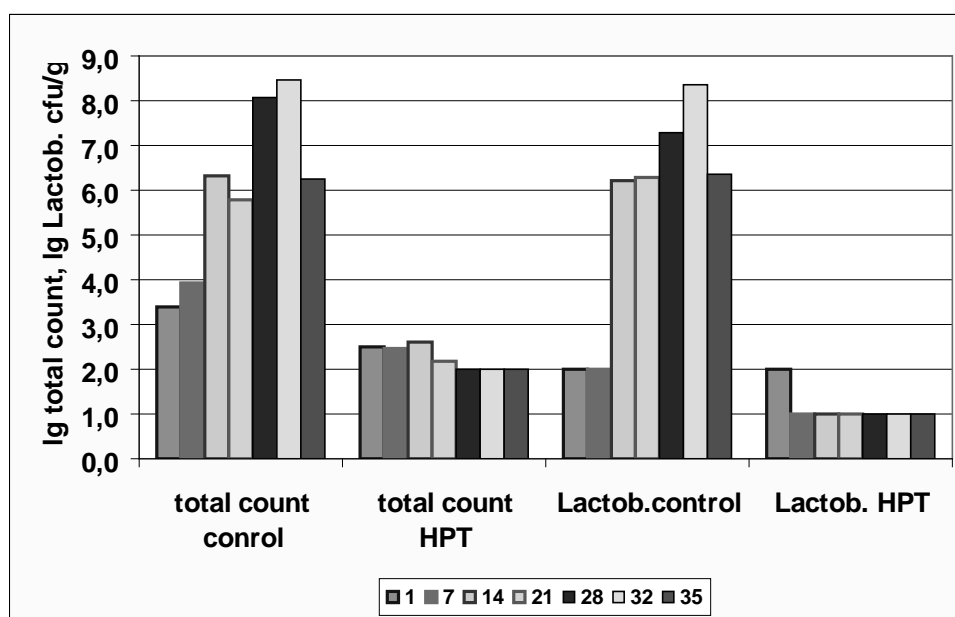


Abb. 1. Entwicklung der Keimzahlen bei HDB von Brühwurstaufschnitt

Figure 1. Praćenje broja mikroorganizama pomoću HPT kod narezanih kuvanih kobasica

zung der druckbehandelten Proben kam es nicht zum Anstieg der Gesamtkeimzahl sowie der Milchsäurebakterien. Bis zum 38. Lagerungstag blieben die Milchsäurebakterien unter der Nachweisgrenze. Die im Rahmen der Gesamtkeimzahl nachgewiesenen Bakterien der HDB-Proben waren ausschließlich Bazillen.

Ergebnisse der Inaktivierung der Sporen in Fleischerzeugnissen durch die HDB

Bei den Bakteriensporen verläuft das ganz anders. Der nicht einfacher Mechanismus der Inaktivierung beruht darauf, dass sich zwei wirkende Wege überlagern: die druckinduzierte Auskeimung und die subletale Schädigung der Sporen. Der Druck allein ist für die Inaktivierung der Sporen nicht ausreichend, dazu werden noch zusätzliche Faktoren benötigt. Eine kombinierte Anwendung der Hochdruck- und der Wärmebehandlung waren in unseren Versuchen für die vollständige Inaktivierung der Bakteriensporen notwendig. Dabei sollen zwei prinzipiell mögliche Vorgehensweisen geprüft werden. Die Druckbehandlung kann direkt im Aufschluss an die Pasteurisation erfolgen, in der vortemperierten Kammer. Zweite Möglichkeit ist die zeitversetzte Anwendung der Wärme- und Hochdruckbehandlung. Hierbei wird die Tatsache benutzt, dass die Sporen nach einer Hochdruckbehandlung – druckinduziert - auskeimen. Die ausgekeimten Sporen weisen dann eine ge-

ringere Resistenz auf als die Sporen. Die wichtigsten Parameter einer HDB sind die Höhe des Drucks, die Behandlungstemperatur, die Art der Druckbehandlung und die Druckhaltezeit. Diese Parameter wurden in den Inaktivierungsversuchen variiert.

Für die Inaktivierungsexperimente wurde Brühwurstbrät aus 64 % Rindfleisch, 18 % Sonnenblumenöl und 18 % Eis hergestellt. Als Zutaten wurden 16 g/kg Nitritpökelsalz, 3,0 g/kg Phosphat, 7 g/kg Gewürzmischung und 0,3 g/kg Ascorbat verarbeitet. Um eine ausreichende Sicherheit zu gewährleisten, erfolgte die Beimpfung des Brühwurstbrätes mit einem Pool aus aeroben und anaeroben, mesophilen und thermophilen Sporen (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Clostridium sporogenes* PA 3679, *Bacillus stearothermophilus* DSM B171 und *Clostridium thermosaccharolyticum* DSM) mit jeweils 10^5 Sporen/g. Das beimpfte Brät wurde in 50 g Alu-Dosen abgefüllt, verschlossen und anschließend erhitzt und hochdruckbehandelt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten, dass die Sporen von *Clostridium thermosaccharolyticum* DSM und *Bacillus stearothermophilus* DSM B171 nach der Pasteurisation und anschließender Hochdruckbehandlung mit 500 MPa und *Bacillus subtilis*-Sporen ab 600 MPa bei der Temperatur von 75 °C nicht mehr nachweisbar waren. *Clostridium sporogenes* erwies sich in den bisherigen Untersuchungen als der mit Abstand druckresistenteste Sporenbildner.

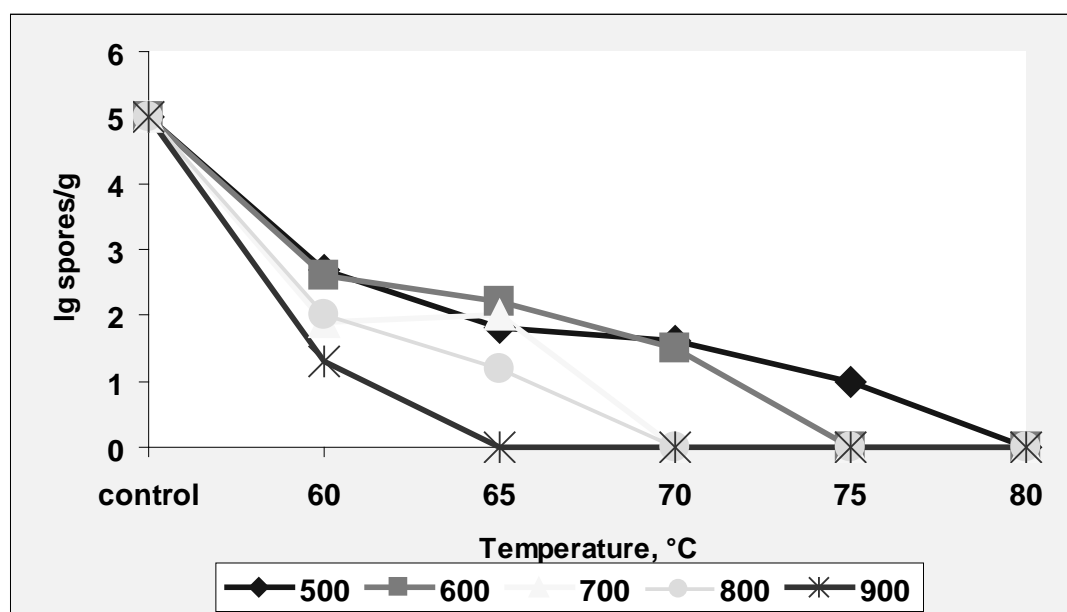


Abb. 2. Einfluss verschiedener Druckhöhen und Temperaturen auf die Inaktivierung der Sporen von *Clostridium sporogenes*
Slika 2. Uticaj različitih vrednosti pritiska i temperatura na inaktivaciju spora *Clostridium sporogenes*

Für die vollständige Inaktivierung der Clostridien-Sporen in den untersuchten Brühwurstbräten waren ein hoher Druck von 900 MPa bei einer niedrigeren Temperatur von 65 °C oder eine höhere Temperatur von 80 °C bei einem niedrigeren Druck von 600 MPa notwendig (Abb. 2). Jedoch war diese Behandlung für die Struktur des Produktes schädlich, deshalb wurde die zweite Möglichkeit – druckinduzierte Auskeimung der Sporen untersucht. Dafür wurde das mit dem obengenannten Pool der Sporenbildner (mit jeweils 10^5 Sporen/g) beimpfte Brühwurstbrät sofort nach dem Abfüllen in Dosen bei einem moderaten Druck von 300 MPa in zwei Zyklen von 2 Mal 4 Minuten im auf 50 °C vortemperierten HD-Behälter, hochdruckbehandelt.

Danach erfolgte die druckinduzierte Auskeimung der Sporen bei unterschiedlichen Bebrütungszeiten von 20 bis 100 Minuten mit dem 10-minütigen Abstand bei 37°C für die mesophilen und bei 60 °C

Wie die Ergebnisse der Bebrütung zeigten, waren während der Inkubationszeiten zwischen 20 und 100 Minuten ca. 10^2 als Sporen, mit zunehmender Tendenz zwischen 10^4 und nahe 10^5 als vegetative Keime nachweisbar. Nach der Bebrütung wurden die Proben bei 95°C unterschiedlich lang erhitzt. Nach 20-minütiger Erhitzung überlebten nur 10 vegetative *Clostridium sporogenes* in Proben, ab 30-minütiger Bebrütungszeit konnte in den erhitzten Proben kein Wachstum aller untersuchten Sporenbildner mehr festgestellt werden.

Durch eine zweistufige zeitversetzte druckinduzierte Hochdruckbehandlung gelang es mit einem moderaten Druck von 300 MPa die Sporen zum Auskeimen anzuregen. Bei geeigneter Bebrütungszeit ab 30 min verlieren die Sporen so viel von ihrer Hitzeresistenz, dass sie bei einer Kerntemperatur von 95°C nach 20 min vollständig inaktiviert werden konnten.

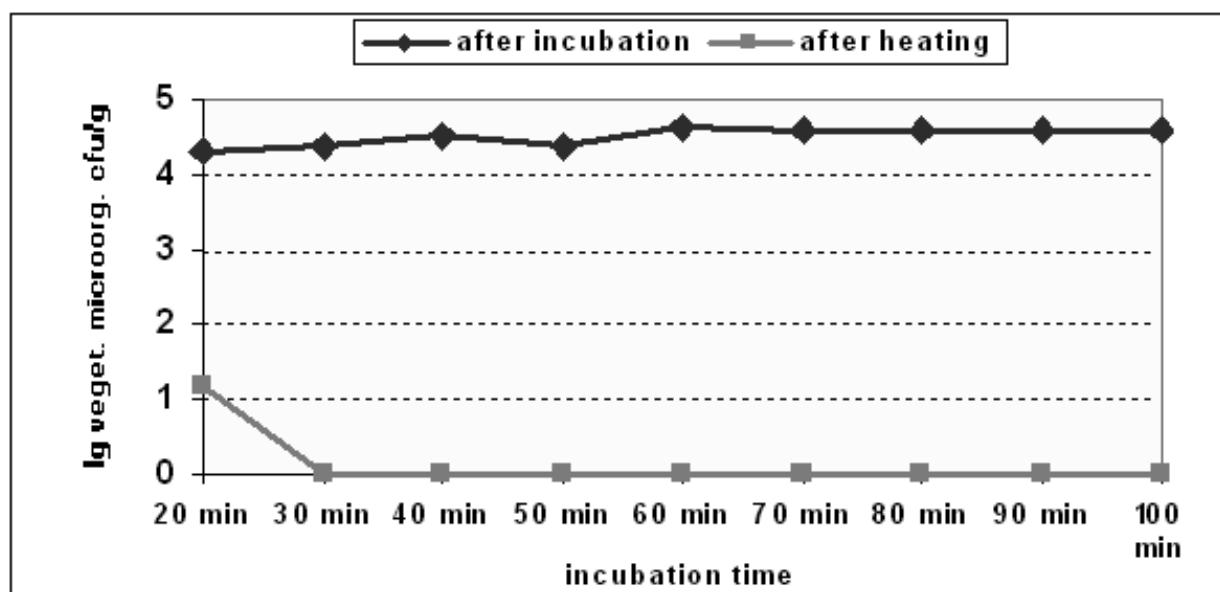


Abb. 3: Druckinduzierte Auskeimung mit nachfolgender Hitzeinaktivierung von *Clostridium sporogenes* bei 95°C und der Erhitzungsdauer von 20 Minuten

Figure 3. Germinacija spora klostridija inkovana pritiskom sa pratećom pasterizacijom na 95°C tokom 20 minuta

für die thermophilen Sporenbildner. Dabei sollte bei der Sporenauskeimung die Zeit festgestellt werden, in der die Sporen noch nicht vollständig ausgekeimt sind, aber ihre sporenspezifische Hitzeresistenz bereits verloren haben. Zu Beginn der Auskeimung der Sporen zur Entwicklung einer vegetativen Bakterienzelle wird die für die Hitzeresistenz verantwortliche Dipicolinsäure in der Zellwand der Spore abgebaut. Daher war es nicht notwendig so lange zu inkubieren bis alle Sporen vollständig ausgekeimt sind.

Die so hergestellten Brühwurstkonserven hatten nach sensorischen Bewertung Frischwarencharakter. Nach 24-monatiger Bebrütung der mit den 4 vorgenannten Sporenbildnern beimpften Brühwurstkonserven bei 37°C und 55°C gab es keine Bombagen. Bei mikrobiologischen Untersuchung konnten keine Bakterien oder Sporen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind ausschließlich repräsentativ für die untersuchte Rezeptur und die verwendeten Sporenbildner. Bei anderen Rezepturen

(z. B. pH-Wert, aW- Wert, Kochsalzgehalt, Pökelfstoffe) bzw. anderen Sporenbildnern sind abweichende Ergebnisse nicht auszuschließen.

Schlussfolgerungen

Hohe hydrostatische Drücke können in Abhängigkeit von den gewählten Temperatur/Zeit-Bedingungen zur teilweisen oder vollständigen In-

aktivierung von vegetativen Keimen sowie Sporen eingesetzt werden. HDB stellt eine zusätzliche Hürde hinsichtlich der mikrobiologischen Stabilität dar. Die sensorische Qualität der Fleischerzeugnisse kann durch diese neue Technologie nur bedingt erhalten werden.

Als alternative oder ergänzende Maßnahme zur schonenden Haltbarmachung mikrobiologisch kritischer Fleischerzeugnisse könnte die HDB deshalb vom großen technologischen Interesse sein.

Literatur

Pfister, M. K.-H., Butz, P., Heinz, V., Dehne, L. I., Knorr, D., Tauscher, B. 2000. Der Einfluss der Hochdruckbehandlung auf chemische Veränderungen in Lebensmitteln. - Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. Berlin (BgVV-Hefte), Nr. 3;
Serfert, Y. 2002. Diplomarbeit, FH Bernburg;

Heinz, V., Kortschack, F. 2002. Method for modifying the protein structure of PrP(sc) in a targeted manner, Patent WO 02/49460;

Fernandez Garcia, A., Butz, P., Tauscher, B. 2002. Mechanism-based irreversible inactivation of horseradish peroxidase at 500 MPa. Biotechnol. Prog. 18, 1076-1081.

Paper recieved: 15.04.2009.