



Diplomarbeit

Titel der Diplomarbeit:

Bildung biogener Amine in fermentierten Würsten in
Abhängigkeit vom Frischezustand und der
Ausgangskeimzahl des Rohmaterials unter
besonderer Berücksichtigung der Enterokokken

Verfasserin:

Birgit Neuhold

Angestrebter akademischer Grad:

**Magistra der Ernährungswissenschaften
(Mag. rer. nat.)**

Niederschleinz, im April 2009

Studienkennzahl lt. Studienbuchblatt : A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt: Ernährungswissenschaften

Betreuer: Ao. Univ. Prof. Dr. Friedrich Bauer

Während des Studiums und der Erarbeitung der vorliegenden Diplomarbeit haben mich viele Personen begleitet und unterstützt.

Dafür möchte ich mich ganz herzlich bedanken!

Meinen Betreuern, Ao. Prof. Dr. Friedrich Bauer und Ass. Prof. Dr. Peter Paulsen für die tolle Unterstützung während der Erarbeitung meiner Diplomarbeit. Eine bessere Betreuung hätte ich mir nicht wünschen können.

Weiters möchte ich meiner Familie und meinem Freund Markus für die seelische Unterstützung während der vielen Monate bedanken. Ohne diesen Rückhalt wäre die Erstellung dieser Diplomarbeit nicht möglich gewesen.

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1	Das Produkt „Rohwurst“	3
2.1.1	Definition des Produkttyps	3
2.1.2	Vorgänge während der Rohwurstherstellung und –reifung	4
2.1.3	Entwicklung der Mikroflora.....	6
2.2	Biogene Amine	8
2.2.1	Allgemeines	8
2.2.2	Bildung biogener Amine.....	9
2.2.3	Biogene Amine in der menschlichen Ernährung	10
2.2.3.1	Milch und Milchprodukte	10
2.2.3.2	Fleisch und Fleischerzeugnisse.....	12
2.2.3.3	Fisch und Fischerzeugnisse	14
2.2.3.4	Eier und Eiprodukte.....	15
2.2.3.5	Obst, Gemüse und pflanzliche Produkte	15
2.2.3.6	Alkoholische Getränke	15
2.2.3.7	Sonstige Lebensmittel.....	17
2.3	Biogene Amine in fermentierten Fleischerzeugnissen	17
2.3.1	Gehalte an biogenen Aminen in fermentierten Fleischerzeugnissen	18
2.3.2	Faktoren, die die Bildung von biogenen Aminen beeinflussen.....	20
2.3.2.1	Qualität des Rohmaterials.....	20
2.3.2.2	Starterkulturen.....	24
2.3.2.3	Keimflora	25
2.3.2.4	Weitere Einflussfaktoren	29
2.4	Biogene Amine als Qualitätsindikator von Fleisch und Fleischerzeugnissen	31
3	MATERIAL UND METHODE.....	33
3.1	Versuchsaufbau	33
3.1.1	Herstellung des Enterokokken- Inokulums	34
3.1.2	Herstellung der Würste	35
3.2	Untersuchungen.....	35
3.2.1	Mikrobiologische Untersuchung	35
3.2.2	Bestimmung von biogenen Aminen.....	37
3.2.2.1	Material	37
3.2.2.2	Aufschluss für den Nachweis der biogenen Amine	37
3.2.2.3	Derivatisierung	37
3.2.2.4	Chromatographische Trennung und Quantifizierung der Amine	38
4	ERGEBNISSE	40
4.1	Veränderungen des Rohmaterial während der Lagerung.....	40
4.1.1	Mikroflora	40
4.1.2	Biogene Amine	44
4.2	Auswirkungen der Lagerung des Rohmaterials auf das Produkt.....	48
4.2.1	Mikroflora	48
4.2.2	Biogene Amine	51

4.3	Enterokokken	55
4.3.1	Verhältnis der Enterokokken zu anderen Mikroorganismen-gruppen.....	55
4.3.2	Enterokokkengehalte und biogene Amine	56
4.3.2.1	Enterokokkengehalte und biogene Amine im Rohmaterial	56
4.3.2.2	Enterokokkengehalte und biogene Amine im Endprodukt	62
5	DISKUSSION	67
5.1	Veränderungen des Rohmaterials während der Lagerung	67
5.2	Auswirkungen der Lagerung des Rohmaterials auf das Endprodukt.....	69
5.3	Enterokokken	71
5.4	Biogene Amine und Enterokokkenkonzentration als Indikator für die Beschaffenheit des Rohmaterials.....	73
6	ZUSAMMENFASSUNG	75
7	LITERATURVERZEICHNIS	77
8	ANHANG:.....	89
8.1	Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in mit Starterkultur hergestellter Mettwurst („V1“).....	89
8.1.1	Mikroflora.....	89
8.1.2	Biogene Amine	92
8.2	Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in mit Starterkulturen und gleichzeitigem Zusatz von Enterococcus faecalis hergestellten Mettwürsten („V2“)	95
8.2.1	Mikroflora.....	95
8.2.2	Biogene Amine	98
8.3	Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in Mettwurst, die unter Zusatz von Starterkulturen und aus Enterococcus faecalis beimpftem Fleisch hergestellt wurde („V3“)	101
8.3.1	Mikroflora.....	101
8.3.2	Biogene Amine	104
8.4	Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in Mettwurst, die unter Zusatz von Starterkulturen und aus Enterococcus faecalis beimpftem Fleisch hergestellt wurde („V4“)	107
8.4.1	Mikroflora.....	107
8.4.2	Biogene Amine	110

Tabelle 1: Biogene Amine in frischem und gelagertem Schweinefleisch in mg/kg [PAULSEN et al., 2006].....	22
Tabelle 2: Bildung biogener Amine unter experimentellen Bedingungen [PIRCHER et al., 2007].....	27
Tabelle 3: Probenahmeplan.....	33
Tabelle 4: Versuchsaufbau – Zusatz von Enterokokken.....	34
Tabelle 5: Verwendete Nährböden.....	36
Tabelle 6: Laufmittelgradient.....	39
Tabelle 7: Gesamtkeimzahl (Mittelwerte) im Rohmaterial in log ₁₀ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4.....	40
Tabelle 8: Laktobazillen (Mittelwerte) im Rohmaterial in log ₁₀ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4.....	41
Tabelle 9: Staphylokokken (Mittelwert) im Rohmaterial in log ₁₀ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4.....	42
Tabelle 10: Enterobacteriaceen (Mittelwert) im Rohmaterial in log ₁₀ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4.....	42
Tabelle 11: Pseudomonaden (Mittelwert) im Rohmaterial in log ₁₀ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4.....	43
Tabelle 12: Enterokokken (Mittelwert) im Rohmaterial in log ₁₀ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4.....	43
Tabelle 13: Mittlere Putrescinkonzentrationen (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4.....	44
Tabelle 14: Mittlere Cadaverinkonzentrationen (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4.....	45
Tabelle 15: Mittlere Histaminkonzentration (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4.....	45
Tabelle 16: Mittlere Tyraminkonzentration (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4.....	46
Tabelle 17: Mittlere Spermidinkonzentration (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4.....	46
Tabelle 18: Mittlere Sperminkonzentrationen (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4.....	47
Tabelle 19: Summe der Konzentrationen von Putrescin, Cadaverin, Histamin und Tyramin (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4 („Biogenic Amine Index“ nach HERNÁNDEZ-JOVER et al., 1996a).....	47
Tabelle 20: Durchschnittliche Gesamtkeimzahl (log ₁₀ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4.....	48
Tabelle 21: Durchschnittliche Laktobazillenkonzentration (log ₁₀ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4.....	49
Tabelle 22: Durchschnittliche Staphylokokkenkonzentration (log ₁₀ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4.....	49
Tabelle 23: Durchschnittliche Enterobacteriaceenkonzentration (log ₁₀ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4.....	50
Tabelle 24: Durchschnittliche Pseudomonadenkonzentration (log ₁₀ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4.....	51
Tabelle 25: Durchschnittliche Enterokokkenkonzentration (log ₁₀ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4.....	51

Tabelle 26: Mittlere Putrescinkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4	52
Tabelle 27: Mittlere Cadaverinkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4	53
Tabelle 28: Mittlere Histaminkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4	53
Tabelle 29: Mittlere Tyraminkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4	54
Tabelle 30: Mittlere Spermidinkonzentration (mg/kg) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4	54
Tabelle 31: Mittlere Sperminkonzentration (mg/kg) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4	55
Tabelle 32: Korrelationen zwischen den untersuchten Mikroorganismengruppen (Korrelation nach Pearson; Signifikanz 2-seitig)	56
Tabelle 33: Signifikante Unterschiede in den Aminkonzentrationen von mit hohem und keinem bzw. niedrigem Enterokokkenzusatz gelagertem Rohmaterial zur Mettwurstherstellung	61
Tabelle 34: Signifikante Unterschiede in den Aminkonzentrationen in Mettwürsten, die aus mit und ohne Enterokokkenzusatz gelagertem Rohmaterial hergestellt wurden	66
Tabelle 35: Gesamtkeimzahl in Versuch 1	89
Tabelle 36: Laktobazillen in Versuch 1	89
Tabelle 37: Staphylokokken in Versuch 1	90
Tabelle 38: Enterobacteriaceen in Versuch 1	90
Tabelle 39: Pseudomonaden in Versuch 1	91
Tabelle 40: Enterokokken in Versuch 1	91
Tabelle 41: Putrescin in Versuch 1	92
Tabelle 42: Cadaverin in Versuch 1	92
Tabelle 43: Histamin in Versuch 1	93
Tabelle 44: Tyramin in Versuch 1	93
Tabelle 45: Spermidin in Versuch 1	94
Tabelle 46: Spermin in Versuch 1	94
Tabelle 47: Gesamtkeimzahl in Versuch 2	95
Tabelle 48: Laktobazillen in Versuch 2	95
Tabelle 49: Staphylokokken in Versuch 2	96
Tabelle 50: Enterobacteriaceen in Versuch 2	96
Tabelle 51: Pseudomonaden in Versuch 2	97
Tabelle 52: Enterokokken in Versuch 2	97
Tabelle 53: Putrescin in Versuch 2	98
Tabelle 54: Cadaverin in Versuch 2	98
Tabelle 55: Histamin in Versuch 2	99
Tabelle 56: Tyramin in Versuch 2	99
Tabelle 57: Spermidin in Versuch 2	100
Tabelle 58: Spermin in Versuch 2	100
Tabelle 59: Gesamtkeimzahl in Versuch 3	101
Tabelle 60: Laktobazillen in Versuch 3	101
Tabelle 61: Staphylokokken in Versuch 3	102
Tabelle 62: Enterobacteriaceen in Versuch 3	102

Tabelle 63: Pseudomonaden in Versuch 3	103
Tabelle 64: Enterokokken in Versuch 3	103
Tabelle 65: Putrescin in Versuch 3	104
Tabelle 66: Cadaverin in Versuch 3	104
Tabelle 67: Histamin in Versuch 3	105
Tabelle 68: Tyramin in Versuch 3	105
Tabelle 69: Spermidin in Versuch 3	106
Tabelle 70: Spermin in Versuch 3	106
Tabelle 71: Gesamtkeimzahl in Versuch 4	107
Tabelle 72: Laktobazillen in Versuch 4	107
Tabelle 73: Staphylokokken in Versuch 4	108
Tabelle 74: Enterobacteriaceen in Versuch 4	108
Tabelle 75: Pseudomonaden in Versuch 4	109
Tabelle 76: Enterokokken in Versuch 4	109
Tabelle 77: Putrescin in Versuch 4	110
Tabelle 78: Cadaverin in Versuch 4	110
Tabelle 79: Histamin in Versuch 4	111
Tabelle 80: Tyramin in Versuch 4	111
Tabelle 81: Spermidin in Versuch 4	112
Tabelle 82: Spermin in Versuch 4	112

Abbildung 1: Abfolge der Hürden bei gereiften Rohwürsten (nach LEISTNER u. GORRIS, 1994)	6
Abbildung 2: Aminbildungsvermögen von Bakterienisolaten aus frischem Fleisch (Lb.= Lactobacilli, EC.= Enterococci, Eb.= Enterobacteriaceae, PS.= Pseudomonas sp.; PÖTZELBERGER, 1996).....	28
Abbildung 3: Putrescinkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz	57
Abbildung 4: Cadaverinkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz	57
Abbildung 5: Histaminkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz	58
Abbildung 6: Tyraminkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz	59
Abbildung 7: Spermidinkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz	60
Abbildung 8: Sperminkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz	60
Abbildung 9: Putrescinkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden	62
Abbildung 10: Cadaverinkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden	63
Abbildung 11: Histaminkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden	63
Abbildung 12: Tyraminkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden	64
Abbildung 13: Spermidinkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden	65
Abbildung 14: Sperminkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden	65

1 Einleitung

Fermentierte Würste zählen, wie auch andere fermentierte Lebensmittel, zu den kulturgeschichtlich ältesten Fleischerzeugnissen. Bereits 5000 v. Chr. wurde in Mesopotamien, in Ägypten und im Indusdal diese Technik der Haltbarmachung angewendet. Die zugrunde liegenden mikrobiellen Vorgänge werden dabei durch eine im Rohmaterial bereits vorhandene Mikroflora oder Zumischung eines Anteils eines früher erfolgreich fermentierten Produkts bewerkstelligt [FISCHER, 1988; BIBEK, 2001].

Fermentierte Produkte gelten allgemein als mikrobiologisch sicher und der Fermentationsvorgang selbst bedingt vorteilhafte bzw. arttypische Änderungen in Konsistenz, Geruch und Geschmack des Lebensmittels. Die Grundlage für diese Änderung ist unter anderem der gesteuerte Abbau von Proteinen über freie Aminosäuren hin zu anderen niedermolekularen Verbindungen.

Bedingt durch die notwendige bakterielle Aktivität kann es in fermentierten Produkten zu einer Decarboxylierung von freien Aminosäuren und damit zur Bildung von biogenen Aminen kommen [BEUTLING, 1996]. Obwohl diese Verbindungen natürliche Bestandteile jedes Organismus sind, kann die Zufuhr einiger dieser Amine über Nahrungsmittel bei Mensch und Tieren gesundheitliche Störungen bewirken.

Dabei kommt dem Rohmaterial besondere Bedeutung zu. Mit zunehmender Lagerdauer und -temperatur des verwendeten Fleisches tritt ein mehr oder weniger stark ausgeprägter, z. T. bakteriell bedingter, Proteinabbau auf, und andererseits kann es auch zur Bildung biogener Amine schon im Rohmaterial kommen. Auch die während des Herstellungsvorganges unabsichtlich eingebrachten betriebsspezifischen Keime („Hausflora“) sowie die ggf. zur Steuerung der Rohwurstreifung zugesetzten „Starterkulturen“ haben auf die Bildung biogener Amine Einfluss.

In der vorliegenden Arbeit sollten die Auswirkungen des „Frischezustandes“ von Fleisch und der Anwesenheit von bestimmten mikrobiellen Kontaminanten (Enterokokken) auf die Zusammensetzung der

Mikroflora und die Gehalte an biogenen Aminen in streichfähigen fermentierten Würsten untersucht werden. Letztendlich soll damit durch die Untersuchung des fertigen Produktes auf den hygienischen Zustand des Rohmaterials, d.h. bakterielle Kontamination und/oder Fehler bei der Lagerung des verwendeten Fleisches geschlossen werden.

2 Literaturübersicht

2.1 Das Produkt „Rohwurst“

2.1.1 Definition des Produkttyps

Rohwürste sind traditionelle Fleischerzeugnisse. Sie werden aus zerkleinertem Muskelfleisch und Speck hergestellt. Vor dem Abfüllen in entsprechende Wursthüllen werden Hilfsstoffe zugesetzt und die Wurst wird durch mikrobielle Fermentation und Trocknung konserviert. Während der Herstellung kommt es zu keinem Zeitpunkt zu einer Erhitzung des Produktes [FISCHER, 1988]. Je nach gewünschtem End-pH-Wert und der während der Reifung herrschenden Temperatur werden entweder spezielle „Starterkulturen“ oder die wursteigene Mikroflora zur Fermentation verwendet [BIBEK, 2001].

Die Definition für Rohwürste lautet im Österreichischen Lebensmittelbuch [ÖLMB, 2007] wie folgt: „Rohwürste werden aus rohem Fleisch und Speck unter Zugabe von insbesondere Salpeter und Kochsalz oder Nitritpökelsalz sowie und Zucker und Zuckerarten und Gewürzen hergestellt und gelangen in der Regel in unerhitztem Zustand zum Verzehr. Es werden schnittfeste und streichfähige Rohwürste unterschieden“ [ÖLMB, 2007]. In den Leitsätzen des deutschen Lebensmittelbuches werden Rohwürste als „in der Regel umgerötete, ungekühlt (über 10°C) lagerfähige, in der Regel roh zum Verzehr gelangende Wurstwaren“ beschrieben, „die streichfähig oder nach einer mit Austrocknung verbundenen Reifung schnittfest geworden sind“ [LEITSÄTZE FÜR FLEISCH UND FLEISCHERZEUGNISSE, 2008]. Beispiele für schnittfeste Rohwürste sind Salami, Kantwurst oder Cervelatwurst [ÖLMB, 2007].

Streichfähige Rohwürste werden aus fein zerkleinertem Fleisch hergestellt. Weiters enthalten diese einen entsprechenden Gehalt an niedrigschmelzendem Fett, wodurch die Streichfähigkeit gewährleistet wird, indem das Fett die Fleischteilchen umschließt. Somit kann im Gegensatz zu den schnittfesten Rohwürsten keine feste Bindung entstehen. Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Rohwurstsorten ist, dass streichfähige Rohwürste nicht gereift oder

getrocknet werden. Sie haben nur eine begrenzte Haltbarkeit und sollten alsbaldig verbraucht werden. Bekannte Vertreter für streichfähige Rohwürste sind Mettwurst, Teewurst und Zwiebelmettwurst [ÖLMB, 2007].

2.1.2 Vorgänge während der Rohwurstherstellung und –reifung

Die während der Rohwurstherstellung und –lagerung ablaufenden Vorgänge sind im wesentlichen Umrötung, Säuerung, Aromabildung [KRÄMER, 2002a] und Trocknung. Die Milchsäuregärung wird durch Zugabe von Kohlenhydraten und geeigneten Starterkulturen gefördert [WILKE, 1992] und bewirkt die Absenkung des pH auf den isoelektrischen Punkt des Fleisches (ca. pH 5,3), und damit eine Gelbildung des Muskeleiweißes. Diese Gelbildung und die fortschreitende Abtrocknung bewirken die Schnittfestigkeit. Streichfähige Rohwurst hat nur wenige Stunden Zeit zur Umrötung und Reifung und ist nach wenigen Tagen Lagerung zum Verkauf bereit [KRÄMER, 2002a]. Die zeitliche Abfolge dieser Vorgänge stellt eine Sequenz von „Hürden“ für das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen dar. Der kumulative Hemmeffekt wird nach LEISTNER [1986] auch als „Hürdenkonzept“ bezeichnet. Dieses Hürdenkonzept lässt sich nach LEISTNER [1994] und LEISTNER und GORRIS [1994] sowie BUNDESANSTALT FÜR FLEISCHFORSCHUNG [1990] so beschreiben: Bei geeigneter Steuerung der Reifungsbedingungen von Rohwürsten (Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Luftbewegung) läuft im Rohwurstinneren eine Sequenz von Hürden ab, die in Abb. 1 dargestellt ist. Durch den Nitritzusatz nicht gehemmte Bakterien metabolisieren den in der Wurst eingeschlossenen Sauerstoff, wodurch das Redoxpotential (Eh) absinkt, was wiederum einen Selektionsvorteil für (als Starterkulturen zugesetzte) Milchsäurebakterien darstellt. Diese Milchsäurebakterien verwerten zugesetzte Kohlenhydrate unter Säurebildung, wodurch der pH sinkt. Durch die Abtrocknung sinkt der Anteil an frei verfügbarem Wasser, also die Wasseraktivität a_w . Mikrostrukturelle Überlegungen spielen ebenfalls eine Rolle. Die originäre Flora wie auch die zugesetzten Starterkulturen sind in der Rohwurstgrundmasse in "Nestern" verteilt. Von diesen, bis mehrere mm entfernten Nestern aus müssen Stoffwechselprodukte in das Wurstgut

diffundieren, um die Reifung zu beeinflussen. Eine gleichmäßige Verteilung dieser Nester ist von größter Bedeutung. Durch das Zusammenwirken dieser Faktoren werden gramnegative und auch verschiedene grampositive Keime innerhalb der ersten Reifungswochen eliminiert.

Mit zunehmender Lagerungsdauer wird dabei die Abtrocknung die wichtigste „Hürde“ [KRÄMER, 2002b].

An der Oberfläche der Rohwurst herrschen aufgrund der reduzierten Wasseraktivität a_w und der hohen Salzkonzentration generell schlechte Wachstumsbedingungen. Die Beimpfung der Oberfläche mit ausgewählten Edelschimmelkulturen (weißer Belag auf Rohwurst), die Räucherung oder das Tauchen in Konservierungsmittel tragen weiter zur mikrobiologischen Stabilisierung der Oberfläche bei. Die Gefahr einer Oberflächenbesiedelung durch (aus dem Rohmaterial stammende) toxinbildende salztolerante *Staphylococcus aureus* ist besonders bei kürzer gereiften, mild gesäuerten Erzeugnissen gegeben. Bei diesen Produkten ist das Rohmaterial besonders sorgfältig zu selektieren (kein Wangen- und Nackenfleisch, keine Abschnitte), schnell säuernde Starterkulturen und Glucose sind zuzusetzen und die Reifungstemperatur ist stets unter 23°C zu halten.

Generell kann gesagt werden, dass die Haltbarkeit sachgemäß hergestellter gereifter Rohwürste nur durch die Fettstabilität limitiert wird. Grundsätzlich sind aber sowohl Rohstoffauswahl, Zusatzstoffe als auch Reifebedingungen für einwandfreie und sichere Erzeugnisse maßgebend [HECHELMANN, 1986; INCZE, 2007].

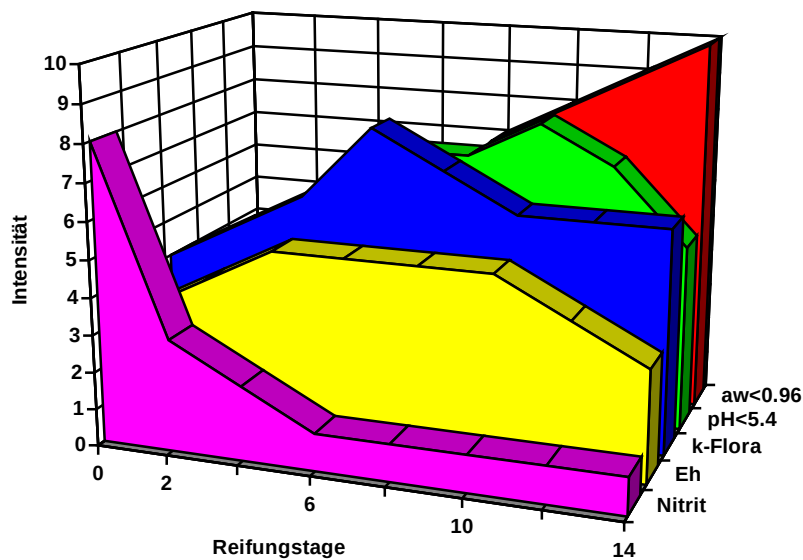


Abbildung 1: Abfolge der Hürden bei gereiften Rohwürsten (nach LEISTNER und GORRIS, 1994)

k-Flora = Konkurrenzflora

2.1.3 Entwicklung der Mikroflora

Zum Zeitpunkt der Zerkleinerung der Rohstoffe und des Abfüllens der Wurstmasse entspricht die Mikroflora jener des verwendeten Fleisches bzw. Fettgewebes, d.h. einem Gemisch aus grampositiven und gramnegativen Keimen. Aus der letzteren Gruppe sind besonders Enterobacteriaceen und die Kühlhausflora (unter anderem *Pseudomonas* sp.) hervorzuheben. Diese Bakterien sind Proteolyten [KUNZ, 1988a] und würden daher in der Rohwurst zu Verderbserscheinungen durch Eiweißabbau führen. Durch das Wachstum von im Rohmaterial befindlichen oder absichtlich zugesetzten Bakterien („Starterkulturen“) kommt es zu einer Verdrängung der unerwünschten Mikroflora. Dies beruht u. a. auf der pH-Absenkung (hemmt Enterobacteriaceen und Pseudomonaden), der Sauerstoff- Verknappung im Wurstininneren (hemmt Pseudomonaden) und dem allgemein wachstumshemmenden Effekt der Trocknung [KUNZ, 1988b]. Ein wesentlicher Beitrag der zugesetzten Starterkulturen ist der Einfluss auf Geschmack und Geruch des Endproduktes durch die gebildeten Stoffwechselprodukte.

Starterkulturen werden bei den meisten in Europa produzierten Rohwürsten zugesetzt [LÜCKE, 1998]. Dadurch wird es möglich, Erzeugnisse von gleichmäßiger Qualität in kürzerer Zeit herzustellen [INCZE, 2007; WIGLEY, 1999].

Zu den technologisch erwünschten Mikroorganismen zählen Lactobacillen, weiters Vertreter der Gattung *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* und *Leuconostoc*, und Micrococcaceae (*Staphylococcus* und *Micrococcus*), die aber alle in niedrigeren Konzentrationen als Lactobacillen vorkommen [WIGLEY, 1999; KUNZ, 1988b; LÜCKE, 1998].

Die zugesetzten Milchsäurebakterien bilden Milch- und Essigsäure aus verschiedenen Zuckermolekülen, die natürlich im Rohmaterial vorkommen oder zugesetzt wurden. Dadurch sinkt der pH-Wert, die Rohwurst wird schnittfest. Potentiell pathogene Mikroorganismen werden in ihrem Wachstum gehemmt oder deren Konzentration verringert. In weiterer Folge werden Nitrite, die in Form von Pökelsalz zugesetzt wurden oder durch Staphylokokken oder *Kocuria varians* aus Nitrat gebildet wurden, zu Stickstoffmonoxid umgewandelt. Das trägt auch zur Farbbildung und Farbhaltung bei [HECHELMANN, 1986]. Weiters wirken Micrococcaceae dem oxidativen Fettverderb durch Abbau von H_2O_2 mittels Katalase entgegen [KRÄMER, 2002a].

Die Auswahl der Starterkulturen hängt vom jeweils erwünschten Produkt ab. Grundsätzlich werden Milchsäurebakterien vor allem bei kurzgereiften Rohwürsten eingesetzt, um eine schnelle pH-Wertabsenkung zu erzielen. Bei Rohwürsten mit langer Reifungszeit sind vor allem Starterkulturen in Verwendung, die für die Ausbildung eines erwünschten Aromas charakteristisch sind [WEBER, 2004]. Streichfähigen Rohwürsten werden meist nur Micrococcaceae (*St. carnosus*, *St. xylosus*, *Kocuria varians*) zugesetzt [KRÄMER, 2002a].

2.2 Biogene Amine

2.2.1 Allgemeines

Amine sind niedermolekulare, basische Stickstoff-Verbindungen. Je nach Anzahl der Substituenten am Alpha-C-Atom unterscheidet man zwischen primären, sekundären und tertiären Aminen. Chemisch verhalten sich Amine wie organische Basen. Nitrit und Nitrat, Salze der salpetrigen Säure können mit sekundären Aminen zu Nitrosaminen reagieren, die kanzerogene Wirkung besitzen [BEUTLING, 1996].

Biogene Amine können aus proteinogenen Aminosäuren durch Decarboxylierung gebildet werden, die durch Decarboxylasen als Biokatalysatoren beschleunigt wird. Benannt werden biogene Amine meist nach der originären Aminosäure (wie zum Beispiel Histidin -> Histamin, Tyrosin -> Tyramin, Phenylalanin -> Phenylethylamin) [BEUTLING, 1996]. Man unterscheidet nach der chemischen Struktur drei Kategorien: aromatische Amine (Histamin, Tyramin, Serotonin, Beta-Phenylethylamin und Tryptamin), aliphatische Diamine (Putrescin und Cadaverin) und aliphatische Polyamine (Agmatin, Spermidin und Spermin) [SMITH, 1980]. Für den Stoffwechsel von Säugetieren und Menschen ist eine Vielzahl von Aminen von Bedeutung, am bekanntesten ist Histamin [BEUTLING, 1996]. Große physiologische Bedeutung haben auch Adrenalin und Noradrenalin, die ausschließlich endogen gebildet werden bzw. Dopamin, das als Vorstufe dieser beiden Amine wichtig ist. Diese befinden sich auch in tierischem Eiweiß, aber werden durch Verdauungsenzyme und aminabbauende Enzyme abgebaut [BEUTLING, 1996].

Die Aufnahme von Aminen über die Nahrung kann gesundheitliche Beeinträchtigungen zur Folge haben, wenn die körpereigenen Regulationsmechanismen gestört sind, z.B. durch die Hemmung der luminalen Amino-Oxidasen. Dies kann z.B. medikamentös bedingt sein [BEUTLING, 1996].

Eigenschaften von Monoaminen

Monoamine sind hitzebeständig, dadurch werden sie bei der Zubereitung von Speisen nicht durch die Hitzeeinwirkung zerstört. Sie bleiben bei pH-Werten

von 5 bis 11 stabil und physiologisch wirksam. Monoamine lösen sich gut in Körperflüssigkeiten und teilweise in Lösungsmitteln. Sie kommen in der Natur vorwiegend in L-Konfiguration vor wie auch die originären Aminosäuren. Einige wichtige Vertreter von Monoaminen sind Tyramin, Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin und Beta-Phenylethylamin [BEUTLING, 1996].

Eigenschaften von Di- und Polyaminen

Die Eigenschaften von Di- und Polyaminen sind sehr unterschiedliche, da der Aufbau dieser sehr stark differiert. Es gibt aliphatische Amine, Imidazolderivate und Indolabkömmlinge, wobei freie, endständige Aminogruppen sich mit Zellbestandteilen sehr reaktiv verhalten. In Ringform vorliegende Amine reagieren kaum oder gar nicht mit anderen Bestandteilen. Polyamine sind ebenfalls hitzestabil und werden daher trotz Erhitzung über 100°C für mehrere Stunden nicht zerstört [BEUTLING, 1996].

Wichtige Polyamine sind Spermidin und Spermin. Putrescin ist strukturell ein aliphatisches Diamin, wird aber von vielen Autoren funktionell zu den Polyaminen gezählt [BARDOCZ, 1995; KALÁC und KRAUSOVA, 2005].

In der vorliegenden Arbeit werden aber vereinfachend sowohl Mono- als auch Di- und Polyamine unter „biogene Amine“ zusammengefasst.

Histamin nimmt mit einer primären, tertiären und sekundären Amingruppe eine Sonderstellung ein. Als Indolabkömmling verhält es sich ähnlich wie ein Monoamin, kann aber auch wie ein Diamin reagieren. Histamin wird endogen gebildet und ist Substrat der Reizleitung im Nervensystem sowie Bestandteil von Blutzellen. Es wird bei allergischen Reaktionen freigesetzt und ist vasoaktiv [BEUTLING, 1996; JARISCH, 2004].

2.2.2 Bildung biogener Amine

Biogene Amine werden aus Aminosäuren gebildet, die in L-Konfiguration vorliegen. Da Aminosäuren im Körper meist nur gebunden, in Form von Proteinen, auftreten, ist zuerst die Freisetzung dieser notwendig. Die Decarboxylierung der Aminosäuren durch Aminosäure-Decarboxylasen kann

auch bei niedrigen Temperaturen erfolgen. Diese Enzyme sind meist substratspezifisch und benötigen Coenzyme, wie zum Beispiel Pyridoxalphosphat, Pyridoxin und Pyridoxamin. Decarboxylierungen verlaufen bei Körpertemperatur rasch ab. Je tiefer die Temperaturen sinken, umso langsamer verläuft die Reaktion, bei Temperaturen unter 15°C sinkt das Tempo stark. Das pH-Optimum für bakterielle Decarboxylasen liegt bei pH 5 bis 7 [BEUTLING, 1996].

Beispiele für Aminosäuredecarboxylasen sind die L-Tyrosindecarboxylase und die L-Histidindecaboxylase [BEUTLING, 1996].

Ebenfalls Einfluss auf die Aktivität der Aminosäuredecarboxylasen haben Umgebungsfaktoren und hier vor allem die Konzentration von Natriumchlorid, das die Umsatzgeschwindigkeit dieses Enzyms stark senken kann. Antivitamine wie Toxopyrimidin, Isoniazid, Penicillamin oder verschiedene andere Antibiotika haben ebenfalls Wirkung auf den Decarboxylierungsprozess [BEUTLING, 1996]. Der Abbau der biogenen Amine im menschlichen Körper erfolgt in der Leber mittels oxidativer Desaminierung. Hierfür sind Aminoxygenasen als Enzyme notwendig [BEUTLING, 1996].

2.2.3 Biogene Amine in der menschlichen Ernährung

2.2.3.1 Milch und Milchprodukte

In Rohmilch können zahlreiche Mikroorganismen vorkommen. Die spezielle Struktur der Milch bietet diesen ein optimales Medium, um sich zu vermehren. Neben der Bildung von Milchsäure aus Laktose ist die Proteolyse eine wichtige Stoffwechselreaktion. Durch Proteolyse entstehen Oligopeptide und freie Aminosäuren, letztere sind Vorstufen von biogenen Aminen. Durch Bakterien mit den dementsprechenden decarboxylierenden Enzymen entstehen aus freien Aminosäuren durch Abspaltung von CO₂ biogene Amine. In Milch, Milchprodukten und Käse spielt hier vor allem der Gehalt an Tyramin und Histamin eine entscheidende Rolle. Während bei süßer Milch und

Milcherzeugnissen die Konzentration an diesen Aminen sehr gering ist, sind verschiedene Käsesorten stark mit Tyramin bzw. Histamin belastet [BEUTLING, 1996]. Die Konzentration an Spermin und Spermidin nimmt über die Reifungsdauer von Käse hinweg ab, wohingegen die Konzentration an anderen biogenen Aminen wie Tyramin und Histamin zunimmt [NOVELLA-RODRIGUEZ et al., 2004a].

Prinzipiell kann man einen Anstieg an Tyramin und Histamin feststellen, je länger Käse gereift wurde [NOVELLA-RODRIGUEZ et al., 2003; ARLORIO et al., 2003; BEUTLING, 1996]. Trotzdem wurde in Studien festgestellt, dass besonders lang gereifter Extra-Hartkäse (dazu gehören Parmesan, Sbrinz, Saanen, lang gereifte Berg- und Alpkäse und alter Emmentaler) niedrigere Mengen an Histamin enthalten, wohingegen der Gehalt an Tyramin mittelgradig erhöht ist. In geriebenem Parmesan wurden höhere Mengen an Tyramin (bis zu 200 mg/kg) und Histamin (bis zu 600 mg/kg) nachgewiesen [BEUTLING, 1996].

Der hygienische Zustand des Rohmaterials und die Umgebung bei der Herstellung von Käse haben bei der Käseherstellung deutlichen Einfluss auf den Gehalt an biogenen Aminen im Endprodukt. INNOCENTE et al. [2001] zeigten, dass Käse, der unter primitiven hygienischen Verhältnissen auf italienischen Berghütten hergestellt wurde, deutlich höhere Konzentrationen an biogenen Aminen enthielt als Käse, der unter guten hygienischen Bedingungen hergestellt wurde. In diesem Zusammenhang ist auch zu verstehen, dass Lagerung von Milch vor der Herstellung von Käse Einfluss auf den Gehalt an biogenen Aminen im Endprodukt hat. NOVELLA-RODRIGUEZ et al. [2004b] wiesen nach, dass der Gehalt an Putrescin, Histamin und Phenylethylamin mehr als doppelt so hoch in Käse aus nicht- pasteurisierter Ziegenmilch, die bei 4°C für 48 Stunden gelagert wurde, war, als in Käse aus frischer nicht- pasteurisierter Ziegenmilch.

Auch die Pasteurisation von Milch vor der Käseherstellung hat durch die Verminderung des Keimgehaltes (die Konzentration an Enterobacteriaceen und Enterokokken war um 2 bis 3 $\log_{10}$ Einheiten geringer in Käse aus pasteurisierter Milch als in Rohmilchkäse) eine positive Auswirkung auf die Konzentration an biogenen Aminen. Dies wird sowohl für Kuhmilch-Käse

[GENNARO et al., 2003] als auch für Ziegenmilch-Käse [NOVELLA-RODRIGUEZ et al., 2004a] beschrieben. Vor allem der Gehalt an Cadaverin war in Kuhmilch-Käse aus Rohmilch höher als in Käse aus pasteurisierter Milch [GENNARO et al., 2003]. Weiters untersuchten GENNARO et al. [2003] den Einfluss der thermischen Behandlung des Käsebruchs vor und die Verwendung von mesophilen bzw. thermophilen Starterkulturen bei der Käseherstellung und stellten eine Reduktion von biogenen Aminen bei Anwendung von thermischer Behandlung und die Verwendung mesophiler Starterkulturen fest.

2.2.3.2 Fleisch und Fleischerzeugnisse

In frischem Fleisch sind nur Spermidin und Spermin in nennenswerten Konzentrationen vorhanden und in geringen Mengen Putrescin. Die Amine Putrescin, Cadaverin, Histamin und Tyramin werden erst im Laufe der Lagerung gebildet [HERNANDEZ-JOVER et al., 1997a].

Notwendig für die Bildung biogener Amine in Fleisch und Fleischerzeugnissen ist die Anwesenheit von freien Aminosäuren, den entsprechenden decarboxylierenden Enzymen und geeigneten Umweltbedingungen wie pH und Temperatur [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Die spezifischen Aminosäure-Decarboxylasen sind zumeist bakteriellen Ursprungs. Daher ist die Anwesenheit von Bakterien äußerst wichtig für die Bildung biogener Amine [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. Mit einem Anstieg des Keimgehaltes ist daher auch ein Anstieg der biogenen Amine zu erwarten. In sterilem Fleisch kommt es nicht zur Bildung biogener Amine, da die Bereitstellung der Enzyme durch Bakterien nicht stattfinden kann [SLEMR, 1981; SLEMR und BEYERMANN, 1985].

Die Produktion biogener Amine wird von der mikrobiellen Belastung des Fleisches und der Art der Keimflora beeinflusst [BARDÓCZ, 1995]. Diese wird wiederum von verschiedenen Faktoren wie der Beschaffenheit des Rohmaterials, thermischer Behandlung und Verwendung von Zusatzstoffen beeinflusst. Die Decarboxylase-Aktivität in Fleischprodukten hängt im Allgemeinen von Anwesenheit und Menge an Enterobacteriaceen,

Pseudomonaden, Mikrokokken und Milchsäurebakterien ab [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. Im Fleisch sind die Hauptproduzenten von Cadaverin Enterobacteriaceen und der Gehalt an Putrescin hängt vor allem vom Gesamtkeimgehalt ab [EDWARDS et al., 1983; GUERRERO-LEGARRETA und CHAVEZ-GALLARDO, 1991; ORDOÑEZ et al., 1991; BOVER-CID et al., 2001b].

Die Konzentration an einigen biogenen Aminen, wie Tyramin, Putrescin und Cadaverin, steigt mit der Lagerdauer des Fleisches, während der Gehalt andere Amine, wie der Polyamine Spermin und Spermidin, über die Lagerdauer hinweg absinkt [TEN BRINK et al., 1990; HALÁSZ et al., 1994; BARDÓCZ, 1995]. Es kann eine Korrelation zwischen dem Gehalt an bestimmten biogenen Aminen mit der Konzentration bestimmter Bakterienstämme hergestellt werden [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. Daher werden biogene Amine als Qualitätsindikator v. a. für frisches Fleisch diskutiert. Besonders gut eignet sich hier eine Kombination aus Putrescin und Cadaverin, da deren Konzentration bereits vor dem Fleischverderb ansteigt [SLEMR, 1981; EDWARDS et al., 1985].

HERNANDEZ-JOVER et al. [1996a] schlugen einen Index für biogene Amine in frischem Fleisch vor, der sich aus der Summe der Konzentrationen von Cadaverin, Putrescin, Histamin und Tyramin zusammensetzt. Liegt dieser Gehalt unter 5 mg/kg, so kann man von Fleisch guter hygienischer Qualität ausgehen, bei 5 – 10 mg/kg kann man von Fleisch mit akzeptabler Qualität mit ersten Verderbserscheinungen sprechen. Enthält frisches Fleisch 20 – 50 mg/kg an Putrescin, Cadaverin, Histamin und Tyramin, so entspricht dies einer niedrigen Fleischqualität, Fleisch mit einem Gehalt an diesen vier Aminen über 50 mg/kg gilt als verdorben.

Gekochte Produkte besitzen einen 4- bis 10-mal geringeren Gehalt an biogenen Aminen als gepökelte oder fermentierte Produkte bedingt durch Kochverluste [LAKRITZ et al., 1975]. Biogene Amine in gekochten Produkten sind vor allem auf das Vorkommen der Amine im Rohmaterial zurückzuführen. Befindet sich ein hoher Gehalt an biogenen Aminen in gekochten Produkten ist dies eng mit der Verwendung von qualitativ minderwertigem Rohmaterial verbunden [PAULSEN et al., 1997; BOVER-CID et al., 2001c]. Durch thermische Behandlung wird die Aktivität von Decarboxylasen beeinflusst, manche werden

auch bei Temperaturen über 65°C inaktiviert [MAIJALA et al., 1995; KEBARY et al., 1999]. Obwohl in thermisch behandelten Produkten generell niedrigere Gehalte an biogenen Aminen enthalten sind, muss die Lagerung der Produkte berücksichtigt werden, da hier größere Mengen an biogenen Aminen gebildet werden können [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

2.2.3.3 Fisch und Fischerzeugnisse

Der Gehalt an Histamin ist in frischem Fisch meist sehr gering. Dagegen können in Fischprodukten, v. a. aus Makrele, Hering und Thunfisch, deutlich höhere Mengen an Histamin festgestellt werden [BEUTLING, 1996]. Dies kann dadurch erklärt werden, dass die Mikroflora an der Fiscoberfläche zu 1% aus histaminbildenden Bakterien besteht, die mit zunehmender Lagerdauer und höheren Temperaturen in den Fischmuskel einwandern und dort freies Histidin in Histamin umwandeln [LEHANE und OLLEY, 2000]. Zu den aminarmen Fischen zählen Dorsch, Scholle, Seelachs, Seehecht und Forelle [BEUTLING, 1996].

HYOUNGILL-LEE et al. [2005] stellten fest, dass rund 80% der von ihnen untersuchten Anchovis aus der Konserve weniger als 50 mg Histamin/kg enthielten, und nur bei wenigen Proben über 1000 mg/kg Histamin nachweisbar waren. Die sensorische Qualität der Produkte war aber durchaus akzeptabel.

Die Zunahme an biogenen Aminen ist meist durch die Lagerung bedingt. In dieser Zeit werden in lachsartigen Fischen Putrescin, Cadaverin, Tyramin, Tryptamin, Spermidin und Spermin synthetisiert, wobei Cadaverin in diesen Fischen als Frischeindikator verwendet werden kann. Die Bildung von Histamin und Cadaverin wird durch höhere Lagertemperaturen, zum Beispiel über 4°C deutlich gesteigert [BEUTLING, 1996].

Bei der Produktion von Konserven aus Thunfisch und Makrelen wurde festgestellt, dass, auch wenn der Gehalt an biogenen Aminen im Rohprodukt gering war, sich durch unsachgemäße Produktionsbedingungen größere Mengen an biogenen Aminen bilden können [BEUTLING, 1996].

Zum Erreichen einer längeren Haltbarkeit von Fischen eignet sich besonders die Gefrierlagerung. In gefrorenen Fischen sind im Gegensatz zu gesalzenen

und geräucherten Produkten deutlich geringere Gehalte an biogenen Aminen enthalten [BEUTLING, 1996].

2.2.3.4 Eier und Eiprodukte

In Ei und Eiprodukten kommen kaum nennenswerte Gehalte an biogenen Aminen vor. In Eigelb von Hühnern können sehr geringe Mengen an Histamin, in der Größenordnung von wenigen mg/kg, vorkommen [BEUTLING, 1996].

2.2.3.5 Obst, Gemüse und pflanzliche Produkte

Tyramin kann in Himbeeren in erhöhten Mengen festgestellt werden. In Untersuchungen konnten bis zu 93 mg/kg Tyramin nachgewiesen werden. Weiters betrugen die Tyramingehalte in Orangen, Avocados und Pflaumen bis zu 10 mg/kg. In Orangensaft konnten hohe Gehalte an Putrescin nachgewiesen werden [BEUTLING, 1996].

In Gemüse befinden sich meist nur sehr geringe Gehalte an Aminen. Hohe Mengen an Tyramin, Tryptamin, Histamin und Serotonin konnten in Tomaten und Spinat nachgewiesen werden. Dabei ist Histamin mit bis zu 22 mg/kg das Amin mit der höchsten Konzentration in Tomaten und mit 60 mg/kg ist der Gehalt an Histamin in Spinat noch höher [BEUTLING, 1996].

Zu den tyraminreichen Gemüsesorten zählen: Kohlrabi (bis zu 1400 mg/kg), Kartoffeln (bis zu 1300 mg/kg), Paprika (bis zu 800 mg/kg), Tomaten (bis zu 1200 mg/kg) und Kohl (bis zu 800 mg/kg) [BEUTLING, 1996].

2.2.3.6 Alkoholische Getränke

Wein:

Die Weinsorte sowie das Herkunftsland spielen eine wichtige Rolle bei der Konzentration an biogenen Aminen in Wein. In Wein findet vor allem die Konzentration an Histamin große Beachtung. Zahlreiche Untersuchungen

zeigten, dass der Gehalt an Histamin in den meisten Weinen zwischen 0 und 3 mg/l liegt. Trotzdem gibt es immer wieder Weine, die erhöhte Gehalte an Histamin aufweisen. Weine aus Übersee enthalten durchschnittlich höhere Histaminkonzentrationen als europäische Weine. Bei einer 1992 durchgeführten Erhebung konnten folgende Maximalwerte für biogene Amine in österreichischen Weinen festgestellt werden: 6,33 mg Histamin (Rotwein), 11,99 mg Tyramin (Prädikatswein), 23,39 mg Putrescin (Rotwein) und 14,66 mg beta-Phenylethylamin (Weißwein) pro Liter Wein. Der Gehalt an Cadaverin lag bei allen Weinen unter der Nachweisgrenze von 0,01 mg/l [BEUTLING, 1996].

Bier

Wie auch bei Wein sind die Mengen an biogenen Aminen je nach Produktionsland unterschiedlich. Französische Biere enthielten bei einer Untersuchung bis zu 20 mg Histamin pro Liter Bier und übertrafen damit die Gehalte an Histamin in schwedischen (bis zu 4,7 mg/l Histamin) und dänischen (bis zu 15 mg/l Histamin) Bieren. Bei verschiedenen Erhebungen konnte eine Konzentration an Tyramin von 1,8 bis 4,4 mg/l in amerikanischen Bieren festgestellt werden. Mit einem Tyramin-Gehalt von 6,46 bis 11,22 mg/l lag die Tyraminmenge in kanadischen Bieren etwas höher. In deutschen Bieren konnten 0,6 bis 4,4 mg Tyramin pro Liter Bier nachgewiesen werden [BEUTLING, 1996].

Eine 2002 durchgeführte Untersuchung an 5 polnischen Biersorten zeigte einen durchschnittlichen Gesamtamingehalt von 16,15 mg/l. Die Konzentration an Spermin war dabei mit 8,43 mg/l am höchsten, gefolgt von Spermidin mit 3,37 mg/l und Putrescin mit 1,75 mg/l. Die Histamin-Konzentration lag unter 2 mg/l [SLOMKOWSKA und AMBROZIAK, 2002].

Die unterschiedlichen Gehalte an Putrescin, Tyramin und Agmatin können auf unterschiedliche Qualität der Rohstoffe und unterschiedliche mikrobiologische Zustände zurückgeführt werden [BEUTLING, 1996].

2.2.3.7 Sonstige Lebensmittel

Sauerkraut: In Sauerkraut können hohe Werte an Histamin, Tyramin, Cadaverin und Putrescin nachgewiesen werden. Hohe Gehalte konnten vor allem in minderwertigem Sauerkraut festgestellt werden. Besonders hohe Konzentrationen an biogenen Aminen wurden in Dosen- und Beutelsauerkraut ermittelt. Hier lagen die Konzentrationen an Putrescin bei bis zu 200 mg/kg, an Histamin bei bis zu 79 mg/kg, an Tyramin bei bis zu 70 mg/kg und bei Cadaverin bei bis zu 80 mg/kg. Es sollte bei qualitativ hochwertigen Produkten nicht mehr als 10 mg/kg Histamin, 20 mg/kg Tyramin, 50 mg/kg Putrescin und 25 mg/kg Cadaverin enthalten sein [BEUTLING, 1996].

Kakao und Schokolade: Tyramin konnte sowohl in unfermentiertem, geröstetem als auch in fermentiertem und ungeröstetem Kakao und in fermentiertem, geröstetem Kakaopulver in Mengen von bis zu 12 mg/kg nachgewiesen werden. Schokolade enthält bis zu 12 mg/kg Tyramin, bis zu 7 mg/kg Phenylethylamin und bis zu 4 mg/kg Tryptamin [BEUTLING, 1996].

2.3 Biogene Amine in fermentierten Fleischerzeugnissen

Fermentierte Produkte sind charakterisiert durch einen hohen Gehalt an Mikroorganismen und an freien Aminosäuren. Die Bildung von biogenen Aminen in diesen Produkten wird von der Temperatur des Mediums, der Art der anwesenden Bakterien, der Anwesenheit von Zusatzstoffen und vielen anderen Faktoren beeinflusst. Durch die Temperatur bei der die Fermentation stattfindet, kann man die Produktion von biogenen Aminen beeinflussen. Bei höheren Fermentationstemperaturen können sich die Starterkulturen besser vermehren und unterdrücken die aus dem Rohmaterial stammenden Milchsäurebakterien [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Bei fermentierten Fleischwaren ist es im Gegensatz zu frischem Fleisch oder wärmebehandelten Fleischprodukten deutlich schwieriger, vom Gehalt der biogenen Amine auf den Ausgangskeimgehalt des verwendeten Fleisches zu schließen. Die Konzentration der biogenen Amine ist vielmehr bei diesen

Produkten von unterschiedlichen Faktoren abhängig, dazu gehören die Art und der Gehalt der Kontamination des Rohmaterials, Verarbeitungsweise und die Verwendung von Starterkulturen. Da aber nicht alle Arten und Stämme von Mikroorganismen dazu fähig sind, freie Aminosäuren zu decarboxylieren, ist ein niedriger Gehalt an biogenen Aminen nicht immer gleichbedeutend mit einer geringen Kontamination des verwendeten Fleisches [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

In fermentierten Produkten sind vor allem aus dem Rohmaterial stammende Milchsäurebakterien („Wildstämme“) die Hauptproduzenten von biogenen Aminen. Hohe Zahlen an solchen Laktobazillen sind verbunden mit einer hohen Konzentration an Histamin. Unterschiede in Konzentration und Art der Milchsäurebakterien können die hohen Unterschiede im Gehalt an biogenen Aminen in verschiedenen Produkten erklären [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. Tyramin-produzierende Bakterien in fermentierten Würsten sind unter anderem: *Carnobakterium*, *L. curvatus* und *L. plantarum*. Mikrokokken und *L. sakei* produzieren kein Tyramin [MASSON et al., 1996]. Im Gegenteil, es wird vorgeschlagen *L. sakei* und *Pedicoccus pentosaceus* als Starterkulturen zu verwenden, um die Bildung biogener Amine einzuschränken [MAIJALA et al., 1995; BOVER-CID et al., 2001c]. Das Ausmaß der Hemmung der Bildung biogener Amine wird aber auch durch andere Faktoren bestimmt [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

2.3.1 Gehalte an biogenen Aminen in fermentierten Fleischerzeugnissen

LATORRE-MORATALLA et al. (2008) stellten fest, dass Tyramin das Amin mit den durchschnittlich höchsten Konzentrationen in traditionell hergestellten europäischen Rohwürsten ist. Der Gehalt an Tyramin lag bei durchschnittlich 145 mg/kg Trockenmasse und machte dadurch rund ein Drittel bis zu der Hälfte des Gesamtamin-Gehaltes aus. Die Konzentrationen an Putrescin und Cadaverin waren in den verschiedenen Proben und verschiedenen Ländern sehr unterschiedlich und lagen im Median bei 51 bzw. 41 mg/kg Trockenmasse.

Histamin konnte nur in etwas mehr als der Hälfte der Proben nachgewiesen werden und lag im Median mit 0,66 mg/kg Trockenmasse deutlich unter den anderen Aminen. Phenylethylamin wurde nur in wenigen Proben festgestellt.

Spanische Rohwürste

In Studien über spanische Rohwürste wurde vor allem Tyramin als das Amin mit der höchsten Konzentration nachgewiesen. Der Gehalt an Tyramin erreichte Werte bis zu 600 mg/kg und lag im Mittel bei ~ 200 mg/kg. In selteneren Fällen war Putrescin das biogene Amin mit der höchsten Konzentration (bis zu 450 mg/kg). Cadaverin erreichte in manchen Chorizos und Salsichons Werte von bis zu 600 mg/kg, lag aber im Mittel durchschnittlich bei unter 20 mg/kg. Phenylethylamin und Tryptamin kamen nur selten in spanischen Rohwürsten vor und erreichten hier nicht mehr als 50 mg/kg. Histamin wurde nicht in allen Proben nachgewiesen, kam aber in manchen Chorizos und Fuets in gesundheitlich bedenklichen Mengen von bis zu 300 mg/kg vor [HERNANDEZ-JOVER et al., 1996a, b, 1997; ROIG-SAGUÉS et al., 1997; BOVER-CID et al., 2000].

Finnische Rohwürste

In finnischen Rohwürsten wurden vor allem hohe Mengen an Tyramin und Putrescin nachgewiesen [EEROLA et al., 1998]. Hohe Gehalte an Cadaverin konnten in „Dänischen“ und „Pepperoni“- Rohwürsten ermittelt werden. Spermin und Spermidin konnten in allen Proben in geringen Konzentrationen nachgewiesen werden [HERNANDEZ-JOVER et al., 1997a]. Histamin wurde vor allem in „Domestic“ und „Russischen“ Rohwürsten gefunden, hier lag der Gehalt an Histamin durchschnittlich unter 100 mg/kg. In Summe lag der Gehalt an vasoaktiven Aminen (Tyramin, Histamin, Tryptamin und 2-Phenylethylamin) bei 26 % der Proben über 200 mg/kg. Liegt der Gehalt unter 200 mg/kg, weist dies auf eine gute und hygienisch einwandfreie Verarbeitungsweise hin [EEROLA et al., 1996].

Türkische Rohwürste

In türkischen Rohwürsten waren vor allem „Sucuks“/„Soudjouks“ mit biogenen Aminen stark belastet [ŞENÖZ et al., 2000]. Hier wurden einerseits Konzentrationen von bis zu 1100 mg/kg an Tyramin und 350 mg/kg an

Histamin, andererseits auch hohe Konzentrationen von Tyramin (bis zu 270 mg/kg) und Putrescin (über 400 mg/kg) nachgewiesen [AYHAN et al., 1999].

Französische Rohwürste

In französischen Rohwürsten wurden Histamin, Tyramin (bis zu 270 mg/kg), Putrescin (bis zu 400 mg/kg) und Cadaverin festgestellt. Histamin über 100 mg/kg wurde nur in industriell hergestellten Proben nachgewiesen [MONTEL et al., 1999].

Rohwürste aus Süditalien

Die Rohwürste „Salsiccia“ und „Soppressata“ wiesen die höchsten Konzentrationen an Tyramin mit bis zu 500 mg/kg auf. Ebenfalls in hohen Mengen konnten Putrescin und Cadaverin nachgewiesen werden, während die Histaminkonzentrationen nur in manchen Proben von Soppressata über 50 mg/kg lagen [PARENTE et al., 2001].

2.3.2 Faktoren, die die Bildung von biogenen Aminen beeinflussen

2.3.2.1 Qualität des Rohmaterials

Manche biogene Amine, wie Spermidin, Spermin und Putrescin werden auch im normalen Zellstoffwechsel gebildet und kommen daher natürlich in Muskeln und Fleisch vor [BARDÓCZ, 1995]. Übersteigt die Konzentration die natürlichen Ausmaße, so hat dies einen anderen Ursprung. Es ist daher wichtig, einwandfreies Rohmaterial zu verwenden, um die Bildung biogener Amine zu hemmen [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Unbedingt notwendig für die Bildung biogener Amine sind freie Aminosäuren, hier sind sie Vorläufer der biogenen Amine als Substrat für Mikroorganismen [SMITH, 1980; ARNOLD und BROWN, 1978]. Die Konzentration an freien Aminosäuren steigt mit proteolytischen Vorgängen, die im Zuge von Behandlung und Lagerung des Rohmaterials passieren, in Verbindung mit dem Vorkommen an Mikroorganismen [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. Bisher ist es nicht gelungen, einen klaren Zusammenhang zwischen

freien Aminosäuren und dem Gehalt an den zugehörigen biogenen Aminen herzustellen [EEROLA et al., 1996; RUIZ-CAPILLAS und MORAL, 2001]. Der Fettgehalt von Fleisch beeinflusst hingegen den Gehalt an biogenen Aminen [HERNANDEZ-JOVER et al., 1997b; KEBARY et al., 1999]. Ein hoher Fettgehalt inhibiert die Bildung von biogenen Aminen, dies kann durch einen niedrigeren a_w -Wert in fettreichem Fleisch erklärt werden [BANWART, 1981]. Dadurch wird das Wachstum proteolytischer Bakterien gehemmt und damit auch die Produktion von freien Aminosäuren [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Die Bedingungen, die bei der Bildung von biogenen Aminen herrschen, bestimmen Ausmaß und Geschwindigkeit der Produktion. Die Histidin-Decarboxylase-Aktivität hat ihr Optimum bei 4 bis 5,5 [ARNOLD und BROWN, 1978; HALÁSZ et al., 1994]. Daher hat der pH-Wert des Rohmaterials einen wesentlichen Einfluss auf die Produktion biogener Amine. DFD-Fleisch mit einem hohen pH fördert das Mikroorganismen-Wachstum und dadurch die Produktion freier Aminosäuren aber, hemmt gleichzeitig die Decarboxylasen. PSE-Fleisch hat einen gegenteiligen Effekt [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Jede Bearbeitung des Fleisches beeinflusst die Konzentration von Enzymen und Substraten und bedingt eine Veränderung der Komponenten und Bedingungen der Decarboxylase-Aktivität. Jeder Prozess, der die Struktur des Fleisches zerstört, fördert die mikrobiologische Kontamination [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Lagertemperatur und Lagerdauer haben Einfluss auf die Proteolyse, auf das zunehmende Mikroorganismen-Wachstum und auf die Decarboxylase Aktivität [MAIJALA und NURMI, 1995]. Verschiedene Studien belegen eine Zunahme an verschiedenen biogenen Aminen in Abhängigkeit von Lagerdauer und Lagertemperatur [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Außer der Lagerdauer und -temperatur hat auch die Verpackungsweise Einfluss auf die Bildung biogener Amine [WORTBERG und WOLLER, 1982; EDWARDS et al., 1987]. Vakuumverpackung und MAP (modifizierte Atmosphären - Verpackung) hemmen das Mikroorganismen-Wachstum und verlängern

dadurch die Haltbarkeit. Der unterschiedliche O₂-Gehalt bedingt durch verschiedene Verpackungsarten hat Einfluss auf das Ausmaß der Bildung verschiedener Amine [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. *Enterobacter cloacae* produziert beispielsweise nur die Hälfte der Menge an Putrescin in einer aeroben Atmosphäre, *Klebsiella pneumoniae* bilden signifikant weniger Cadaverin und mehr Putrescin unter anaeroben Bedingungen [HALÁSZ et al., 1994].

KANIOU et al. [2001] untersuchte den Gehalt an Putrescin, Cadaverin und Histamin in Rindfleisch, das für 12 Tage unverpackt, bzw. für 35 Tage vakuumverpackt, bei 4°C gelagert wurde. In unverpacktem Rindfleisch wurde nach 12 Tagen Lagerung ein Gehalt von 10,4 mg/kg Putrescin und 5,2 mg/kg Cadaverin nachgewiesen, nach 5 Tagen Lagerung konnten 2,2 mg/kg Histamin nachgewiesen werden. In vakuumverpacktem Rindfleisch stieg der Gehalt der 3 Amine langsamer an und erreichte 1,1 bzw. 3,1 mg/kg für Putrescin und Cadaverin, während Histamin nach 12 Tagen Lagerung nicht nachgewiesen werden konnte. Nach 26 Tagen Lagerung wurden 29, 36 bzw. 19 mg/kg Cadaverin, Putrescin und Histamin nachgewiesen, obwohl die organoleptischen Eigenschaften des Fleisches noch akzeptabel waren. PAULSEN et al. [2006] untersuchten den Gehalt an biogenen Aminen in frischem und gelagertem Schweinefleisch.

Tabelle 1: Biogene Amine in frischem und gelagertem Schweinefleisch in mg/ kg [PAULSEN et al., 2006]

	In frischem Schweinefleisch	In gelagertem Schweinefleisch
Putrescin	7,9 ± 0,7 mg/kg	82,6 ± 9,8 mg/kg
Cadaverin	3,45 ± 0,4 mg/kg	60,4 ± 5,1 mg/kg
Histamin	3,6 ± 0,5 mg/kg	7,7 ± 1,1 mg/kg
Tyramin	unter 5,5 mg/kg	86,5 ± 6,6 mg/kg

Die Konzentrationen an Putrescin, Cadaverin und Tyramin stiegen über die 120 Stunden Lagerung bei 5°C stark an und der Gehalt an Histamin nahm in geringerem Ausmaß zu [PAULSEN et al., 2006] (Tab. 1).

Bei einer Untersuchung von VINCI und ANTONELLI [2002] wurden die Auswirkungen der Lagerdauer auf den Gehalt an biogenen Aminen in rotem und weißem Fleisch erforscht. Die Lagerung von rotem Fleisch, das 15 Tage post mortem bei 4°C für weitere 5, 15 bzw. 30 Tage gelagert wurde, hatte einen Anstieg an Tryptamin, Putrescin, Cadaverin, Serotonin, Tyramin, Spermidin und Spermin auf 52, 102 bzw. 238 mg/kg zur Folge. Bei weißem Fleisch, das 2 Tage post mortem für weitere 5, 15 bzw. 30 Tage unter denselben Bedingungen gelagert wurde, stieg die Konzentration an diesen biogenen Aminen auf 105, 237 bzw. 249 mg/kg. Hierbei konnte eine gute Korrelation zwischen der Lagerung von rotem und weißem Fleisch und Cadaverin festgestellt werden, wobei die Korrelation zwischen Tyramin und Lagerdauer nur für rotes Fleisch signifikant war.

In spanischen Rohwürsten aus gefrorenem Fleisch konnten nur signifikante Werte an Tyramin (bis zu 100 mg/kg) festgestellt werden. Im Gegensatz dazu enthielten spanische Rohwürste aus Rohmaterial, das bei zu hohen Temperaturen gelagert wurde, deutlich höhere Gehalte an Enterokokken und Enterobacteriaceen, wodurch es zu einer schnelleren Bildung bzw. höheren Konzentrationen an Putrescin (80 mg/kg), Cadaverin (340 mg/kg) und Tyramin (250 mg/kg) kam [BOVER-CID et al., 2000].

Auch bei Hühnerfleisch, das unter modifizierter Atmosphäre gelagert wurde, konnte ein Einfluss auf die Bildung der Amine Putrescin, Cadaverin und Tyramin durch die Lagertemperatur nachgewiesen werden. Dabei waren die mikrobielle Qualität des Fleisches und die Konzentration dieser Amine gut korreliert. Bei Lagerung unter optimalen Temperaturbedingungen von 2,9 bis 5,4°C konnten nur geringe Mengen an Putrescin (bis 7,4 mg/kg) und Cadaverin (unter 10 mg/kg) nachgewiesen werden. Die Konzentration an Tyramin war in diesen Proben trotzdem bei 110 bis 130 mg/kg, hier stieg die Tyraminkonzentration aber deutlich langsamer als in Proben, die bei höheren Temperaturen gelagert wurden. Bei Proben, die unter variablen Temperaturbedingungen, (bei höheren Temperaturen) die eine typische bzw. nicht- ideale Kühlkette vom Produzenten zum Konsumenten repräsentieren, wurden nach 12 Tagen Lagerung Konzentrationen von 100 bis 120 mg

Putrescin und 77 bis 230 mg Cadaverin pro kg Fleisch nachgewiesen, die Tyramin-Konzentration erreichte sogar Werte von bis zu 230 mg/kg. Die Proben, die bei Temperaturbedingungen gelagert wurden, die eine unterbrochene Kühlkette simulieren, erreichten Maximalwerte an Putrescin von 190 mg/kg und Cadaverin von 320 mg/kg, nach 12 Tagen Lagerung. Die Konzentration an Spermidin und Spermin veränderte sich über die Lagerdauer hinweg nicht [ROKKA et al., 2004].

2.3.2.2 Starterkulturen

Mikrokokken, Koagulase-negative Staphylokokken und Milchsäurebakterien tragen zur Ausbildung des typischen Aromas bei, bedingt durch die protolytische und lipolytische Aktivität [HAMMES und HERTEL, 1996].

Durch Zusatz von reinen oder gemischten Starterkulturen kann die Bildung biogener Amine verringert werden. Starterkulturen selbst sollten dabei keine biogenen Amine bilden und gleichzeitig sollen sie die Bildung und das Wachstum von „wilder“, aminbildender Mikroflora unterdrücken [HAMMES und HERTEL, 1996]. Starterkulturen sorgen für eine schnelle pH-Wertabsenkung und dadurch für eine verminderte Bildung von biogenen Aminen [MAIJALA et al., 1993; BOVER-CID et al., 2001a]. Milchsäurebakterien konkurrieren mit nicht-Starter-Bakterien und verringern, durch Verhinderung deren Wachstums, die Bildung biogener Amine, während Reifung und Lagerung der Rohwurst. Ausgesuchte *L. sakei*-Stämme können die Bildung biogener Amine, abgesehen von Tyramin, reduzieren, auch in der Anwesenheit von aminpositiven Laktobazillen [ROIG-SAGUÉS und EEROLA, 1997]. Dabei reduzieren *L. sakei*-Kulturen biogene Amine, wenn die Konzentration an Enterobacteriaceen unter 3 log₁₀ kbE/g liegt [BOVER-CID et al., 2001c].

2.3.2.3 Keimflora

JOON-SEOK-MIN et al. [2004] beimpften verschiedene Fleischarten mit unterschiedlichen Mikroorganismen und beschreiben unabhängig von der Fleischart vor allem *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae* und *Bacillus cereus* als starke Aminproduzenten. Putrescin, Cadaverin und Tyramin waren hierbei die am stärksten gebildeten biogenen Amine.

Im Allgemeinen werden vor allem Enterobacteriaceen, *Pseudomonas*, Mikrokokken und Milchsäurebakterien als starke Produzenten von biogenen Aminen beschrieben [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Enterobacteriaceen sind Mikroorganismen mit hoher Decarboxylase-Aktivität, in Zusammenhang mit der Bildung von Putrescin und Cadaverin [SUZZI und GARDINI, 2003]. Enterobacteriaceen sind im frischen Fleisch die Hauptproduzenten von Cadaverin [EDWARDS et al., 1983; GUERRERO-LEGARRETA und CHAVEZ-GALLARDO, 1991; ORDOÑEZ et al., 1991; BOVER-CID et al., 2001b]. Zum Beispiel sind *E. cloacae* und *Serratia* als Putrescin und Cadaverin-Bildner bekannt [BOVER-CID et al., 2001a]. BOVER-CID et al. [2003] wiesen nach, dass die in Rohwurst eingebrachte Konzentration an *E. cloacae* gut mit der im Endprodukt festgestellten Konzentration an Cadaverin korrelierte. DURLU-ÖZKAYA et al. [2001] beschrieben auch *Citrobacter freundii* und *Enterobacter aerogenes* als gute Putrescin und Cadaverin-Produzenten. *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *Klebsiella oxytoca* [BOVER-CID et al., 2001a], *Escherichia coli* [SILLA SANTOS, 1998] und *Morganella morganii* können beachtliche Mengen an Histamin bilden [BOVER-CID et al., 2001a].

Enterobacteriaceen sind meist nur in geringer Zahl im Endprodukt zu finden, nicht korrekte Lagerung und unkontrollierte Fermentation kann die Proliferation von Enterobacteriaceen fördern. Diese können die Decarboxylase in frühen Stadien der Wurstproduktion abgeben und anschließend sorgen die abgegebenen Decarboxylasen für die Bildung biogener Amine. Auch wenn keine bzw. kaum noch Enterobacteriaceen vorhanden sind, können weiter biogene Amine gebildet werden [BOVER-CID et al., 2001d].

Milchsäurebakterien zählen in fermentierten Produkten zu den Hauptverantwortlichen für die Bildung biogener Amine [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004]. Viele Stämme von Milchsäurebakterien sind Produzenten von biogenen Aminen, hingegen besitzen Laktokokken, Pediokokken, Streptokokken und *Leuconostoc* keine Decarboxylase-Aktivität [STRAUB et al., 1995]. Andererseits beschreiben andere Studien verschiedene Stämme von *Leuconostoc* und Laktokokken als Tyramin-Produzenten [CHOU DHURY et al., 1990; DE LLANO et al., 1998]. Laktobazillen(Lb.)-Stämme wie *Lactobacillus buchneri*, *Lb. alimentarius*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. forci minis*, *Lb. bavaricus*, *Lb. homohiocchii*, *Lb. reuteri* und *Lb. sakei* sind aminpositiv und produzieren vor allem Tyramin [MASSON et al., 1996; MONTEL et al., 1999; BOVER-CID et al., 2001a; PEREIRA et al., 2001]. Obwohl viele Autoren keine Histidin-Decarboxylase-Aktivität bei Laktobazillen aus Rohwürsten festgestellt haben [MAIJALA, 1993; SILLA SANTOS, 1998; MONTEL et al., 1999; BOVER-CID et al., 2001a], wurde von anderen Autoren die Existenz dieses Enzyms in *Lactobacillus* spp. und *Lb. sakei*, isoliert aus Fisch [DAPKEVICIUS et al., 2000], *Lb. spp.* aus Rohwürsten [MAIJALA, 1993, 1994], *Lb. bulgaricus* [CHANDER et al., 1989; BOVER-CID und HOLZAPFEL, 1999], und *Lb. acidophilus* beschrieben [BOVER-CID und HOLZAPFEL, 1999]. Die Unterschiede in Konzentrationen und Art der vorhandenen Milchsäurebakterien können eine Erklärung für die oft divergierenden Konzentrationen an biogenen Aminen sein [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Enterokokken sind einerseits im Verdauungstrakt von Mensch und Tieren zu finden, andererseits aber auch in einer Vielzahl von Lebensmitteln [GIRAFFA, 1999]. Viele Stämme von Enterokokken sind zur Bildung von Tyramin aus Tyrosin fähig. Unter experimentellen Bedingungen wird vorhandenes Tyrosin von *Enterococcus faecalis* praktisch vollständig zu Tyramin umgesetzt [ENGESSER et al., 1990; ÖZOGUL und ÖZOGUL, 2007]. Diese Fähigkeit zur Tyraminbildung wurde speziell für Enterokokken aus Fleisch beschrieben [MAIJALA et al., 1993]. Neuere Arbeiten zeigen darüber hinaus, dass sowohl bei *Enterococcus faecalis* als auch bei *Enterococcus faecium* die Fähigkeit zur

Tyraminbildung weit verbreitet (77-99%) ist [PIRCHER et al., 2007; s. Tab. 2]. Dies gilt sowohl für, aus Milchprodukten, rohem Fleisch, als auch aus Rohwurst isolierte Stämme.

Tabelle 2: Bildung biogener Amine unter experimentellen Bedingungen [PIRCHER et al., 2007]

	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
n=	75	62
Putrescin >100 mg/l	0	0
Cadaverin >100 mg/l	0	0
Histamin >100 mg/l	0	0
Tyramin >100 mg/l	70 (93%)	59 (95%)

Abgesehen davon wurde nachgewiesen, dass sie fähig sind, 2-Phenylethylamin in Käse zu bilden [MONTEL et al., 1999]. Sie können aber keine wesentlichen Mengen an Putrescin und Cadaverin bilden [ÖZOGUL und ÖZOGUL, 2007; PIRCHER et al., 2007; SUZZI und GARDINI, 2003; BOVER-CID und HOLZAPFEL, 1999; BOVER-CID et al., 2001a].

Auch *Carnobacterium divergens*, *C. pisciola* und *C. gallinarum* bilden beachtliche Mengen an Tyramin [MASSON et al., 1996].

Für frisches Fleisch ergibt sich somit insgesamt die von PÖTZELBERGER [1996], anhand von insgesamt 48 Isolaten verschiedener Bakteriengenera beschriebene und in Abb. 2 dargestellte Tendenz.

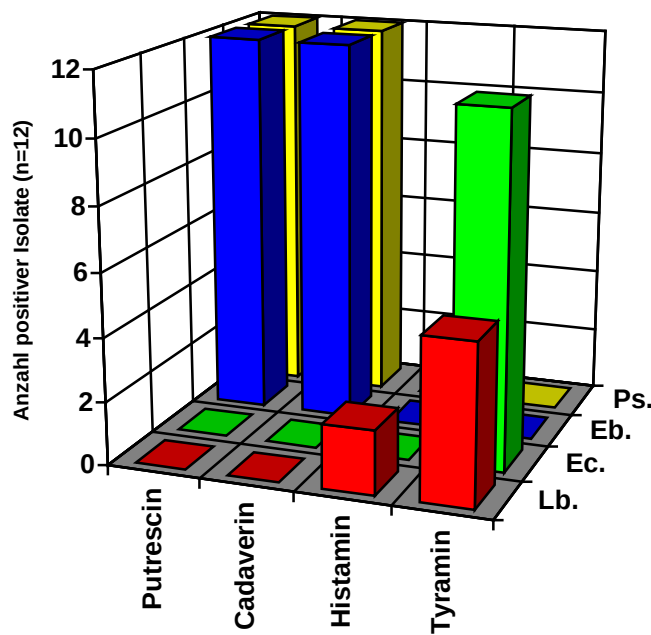


Abbildung 2: Aminbildungsvermögen von Bakterienisolaten aus frischem Fleisch (Lb.= Lactobacilli, EC.= Enterococci, Eb.= Enterobacteriaceae, PS.= Pseudomonas sp.; PÖTZELBERGER, 1996)

Mikrokokken

PAULSEN et al. [2002] konnten eine starke Korrelation zwischen der Konzentration an Cadaverin und dem Grad der Staphylokokken-Kontamination in Rohwürsten feststellen. 76% von einer spanischen Rohwurst isolierte *Staphylococcus xylosus* Stämme waren zur Histamin-Produktion fähig [SILLA SANTOS, 1998], ebenso wie manche Stämme von *Kocuria* spp [STRAUB et al., 1995]. *Staphylococcus carnosus* und *S. piscifermentans* haben hohe Aminosäure-Decarboxylase-Aktivität und produzieren 2-Phenylethylamin, Histamin, Putrescin und Cadaverin [STRAUB et al., 1995; MONTEL et al., 1999]. Trotzdem können Koagulase-negative Stämme von Staphylokokken als sichere Starterkulturen verwendet werden [MASSON et al., 1996].

Andere Mikroorganismen

Hefen wie *Debaryomyces* und *Candida* können Histidin-Decarboxylase-Aktivität aufweisen [MONTEL et al., 1999].

Weiters sind viele Gram-negative Bakterien zur Bildung biogener Amine fähig, dazu gehören auch Mikroorganismen der Gattung *Pseudomonas* [SUZZI und GARDINI, 2003].

2.3.2.4 Weitere Einflussfaktoren

PH

Bakterielle Aminosäure-Decarboxylasen besitzen ein pH-Optimum im sauren Bereich [GALE, 1946], daher kann eine Korrelation zwischen der Produktion biogener Amine und dem pH-Abfall hergestellt werden [EITENMILLER et al., 1978; SANTOS-BUELGA et al., 1986]. Das pH-Optimum für die Histidin-Decarboxylase liegt zum Beispiel bei pH 4 bis 5,5 [ARNOLD und BROWN, 1978; HALÁSZ et al., 1994]. Aber die Bildung biogener Amine hängt auch vom Ausmaß des Wachstums der decarboxylierenden Bakterien ab und nicht nur von den Produktionsbedingungen für biogene Amine [YOSHINAGA und FRANK, 1982]. Der End-pH des Rohmaterials hat daher wesentlichen Einfluss auf die Aminproduktion. Ein hoher pH, wie er in DFD-Fleisch vorkommt, begünstigt die Proliferation von Mikroorganismen (vor allem von Enterobacteriaceen [SUZZI und GARDINI, 2003]) und dadurch die Bildung freier Aminosäuren als Vorstufe von biogenen Aminen. Gleichzeitig wird die Aktivität der Aminosäure-Decarboxylasen gehemmt, wodurch zwar ein höherer Gehalt an freien Aminosäuren vorhanden ist, diese aber nicht so schnell in biogene Amine umgewandelt werden. Bei PSE-Fleisch ist die Situation genau umgekehrt, die Decarboxylasen sind zwar aktiver, aber es sind nicht so viele freie Aminosäuren vorhanden [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Eine hohe Histaminproduktion kann mit einer unzureichenden pH-Absenkung während der ersten Tage der Reifung in Verbindung gebracht werden [BUNCIC et al., 1993; MAIJALA et al., 1993].

Die Tyramin-Produktion durch *C. divergens* war in Würsten mit pH 4,9 niedriger als in solchen mit pH 5,3. Dadurch kann erklärt werden, dass der Gehalt an Tyramin in Würsten aus Nordeuropa, geringer ist, da diese typischerweise niedrige pH Wert aufweisen [MASSON et al., 1999].

Natriumchloridkonzentration

Das Salz/Wasser-Verhältnis während der Fermentation und Lagerung hat Einfluss auf das Mikroorganismen-Wachstum. Die Aminbildung durch *L. bulgaricus* war merklich reduziert, wenn die Salzkonzentration im Medium von 0% auf 6% erhöht wurde [CHANDER et al., 1989]. NaCl-Konzentrationen von 3,5 bis 5,5 % konnten die Histamin-Produktion hemmen [HENRY CHIN und KOEHLER, 1986].

Durchmesser

Unterschiedliche Rohwurstdurchmesser korrespondieren mit unterschiedlichem Grad an Anaerobiose, Redox-Potential, Salz-Konzentration und a_W -Wert. Dies hat Einfluss auf die Bildung biogener Amine. Im Wurstinneren und am Rand der Rohwurst herrschen unterschiedliche Umweltbedingungen [BOVER-CID et al., 1999]. Zum Beispiel ist der a_W -Wert im Inneren der Rohwurst höher und damit verbunden das Salz/Wasser-Verhältnis höher, wenn der Durchmesser der Wurst sehr groß ist. Daraus folgend ist der Gehalt an Tyramin und Putrescin in solchen Würsten höher als in Würsten mit geringerem Durchmesser [PARENTE et al., 2001]. Biogene Amine traten gehäuft im Inneren der Rohwurst auf im Gegensatz zu den Randbereichen der Rohwurst [SUZZI und GARDINI, 2003].

TREVIÑO et al. [1997] stellten fest, dass im Mittelteil der Rohwurst die höchsten Gehalte an biogenen Aminen nachweisbar sind. Etwas geringer sind die Konzentrationen im Wurstinneren (Zentrum der Wurst) und am geringsten in den Randbereichen der Rohwürste. In den Randbereichen fällt der a_W -Wert bedingt durch eine stärkere Trocknung schneller ab als im Wurstzentrum. Daraus folgend bildet sich ein Konzentrationsgradient an Natriumchlorid zwischen den unterschiedlichen Bereichen der Rohwurst und es kommt zu einer Diffusion von Natriumchlorid vom Wurstäußeren in das Wurstinnere. Dadurch sinkt der a_W -Wert auch im Inneren der Rohwurst und hemmt das Wachstum der Mikroorganismen und die Bildung biogener Amine. Im Mittelbereich herrscht ein höherer a_W -Wert als am Wurstrand und eine geringere NaCl-Konzentration als im Wurstinneren, was zum höchsten Gehalt an biogenen Aminen in diesem Bereich der Rohwurst führt.

Zusätze

Zucker-Zusatz verringert die Bildung an biogenen Aminen, da er das Wachstum der Starterkulturen begünstigt. Enterokokken entwickelten sich früher, wenn Zucker nicht zugesetzt wurde, Enterobacteriaceen waren hier ebenso erhöht. In Proben ohne Zucker-Zusatz wurden doppelt so hohe Gehalte an Tyramin und Cadaverin festgestellt. Abwesenheit von Zucker beeinflusst die Anfälligkeit für die Bildung biogener Amine, während der Lagerung der Wurst, mit merklicher Vermehrung von Putrescin, Cadaverin, Tyramin und Tryptamin [BOVER-CID et al., 2001b].

Der Zusatz von Natriumsulfit (500 bzw. 1000 mg/kg) reduziert die Tyramin-, nicht aber die Cadaverinkonzentrationen [BOVER-CID et al., 2001e].

Natriumnitrit (150 mg/kg) verringert zwar den Gehalt an Putrescin und Cadaverin, führte aber zu einer dreifach höheren Histaminkonzentration [CANTONI et al., 1994].

2.4 Biogene Amine als Qualitätsindikator von Fleisch und Fleischerzeugnissen

Biogene Amine werden schon seit einigen Jahren als Qualitätsindikatoren in Fleisch, Fisch und Rohwürsten diskutiert [VINCI und ANTONELLI, 2002; ROKKA et al., 2004; VILLANUEVA-VALERO et al., 2005; COISSON et al., 2004; EEROLA et al., 1998; PÖTZELBERGER et al., 1997]. Dabei soll die Konzentration an biogenen Aminen den Grad der Kontamination mit Mikroorganismen sowie die Lagerdauer und –temperatur von frischem Fleisch und Fisch widerspiegeln.

VINCI und ANTONELLI [2002] beschrieben die Eignung biogener Amine als Indikator für die Qualität von rotem (Rindfleisch) und weißem (Hühnerfleisch) Fleisch. Dabei stellten sie fest, dass der Gehalt an biogenen Aminen gut den Verderb sowohl von weißem als auch von rotem Fleisch widerspiegelt. Tyramin

und Cadaverin korrelierten gut mit dem Verderben von rotem Fleisch, mit dem Verderb von weißem Fleisch korrelierte nur Cadaverin.

ROKKA et al. [2004] untersuchten die Bildung biogener Amine in Hühnerstücken, die unter modifizierter Atmosphäre, für 0 – 12 Tage, bei unterschiedlichen Temperaturen, gelagert wurden. Hierbei wurde ebenfalls das Potential der biogenen Amine als Qualitätsindikator für Fleisch erhoben. Die Ergebnisse zeigten, dass die Lagertemperatur Einfluss auf die Bildung von Putrescin, Cadaverin und Tyramin hat. Dabei waren die mikrobielle Qualität des Fleisches und die Konzentration der biogenen Amine im Einklang. Sie empfahlen daher, die Konzentration von Tyramin, Putrescin und Cadaverin als Indikatoren für die Lagerungsdauer und –temperatur sowie für die mikrobielle Fleischqualität von Hühnerstücken, verpackt in modifizierter Atmosphäre, zu verwenden.

HERNÁNDEZ-JOVER et al. [1996a] versuchten Grenzwerte festzulegen, mit denen es möglich ist, aus der Konzentration an biogenen Aminen auf die Qualität von Frischfleisch zu schließen. Dabei fassten sie die Gehalte an Cadaverin, Putrescin, Tyramin und Histamin in einem so genannten „biogenic amine index (BAI)“ zusammen. Liegt dieser unter 5 mg/kg Fleisch, so kann man von frischem Fleisch, und bei Konzentrationen zwischen 5 und 20 mg/kg noch von Fleisch mit akzeptabler Qualität mit ersten Verderbserscheinungen sprechen. Bei einem BAI von 20 bis 50 mg/kg ist das Fleisch nur noch von minderer Qualität und über 50 mg/kg ist das Fleisch verdorben.

3 Material und Methode

3.1 Versuchsaufbau

Um unterschiedliche Ausgangskeimgehalte des Rohmaterials zu erreichen, wurde Faschiertes vor der Wurstherstellung unterschiedlich lange bei 4 °C gelagert. Es wurden jeweils 10 Würste aus 0, 2, 7 und 10 Tage gelagertem Fleisch produziert. Drei dieser Wurstproben wurden am Tag der Wursterzeugung untersucht. Jeweils drei weitere wurden nach 2 beziehungsweise 7 Tagen Reifung bei 18°C analysiert (Tab. 3). Eine Probe diente als Reserve.

Tabelle 3: Probenahmeplan

Rohmaterial	Rohwurst		
	0 Tage Reifung	2 Tage Reifung	7 Tage Reifung
0 Tage Lagerung	3 Proben	3 Proben	3 Proben
2 Tage Lagerung	3 Proben	3 Proben	3 Proben
7 Tage Lagerung	3 Proben	3 Proben	3 Proben
10 Tage Lagerung	3 Proben	3 Proben	3 Proben

Die Versuchswürste wurden in allen Versuchen aus Faschiertem hergestellt, das von einem Fleischzerlegebetrieb aus Niederösterreich bezogen wurde. Das Fleisch wurde in Packungen zu rund 1,2 kg schutzgasverpackt am Tag vor Versuchsbeginn geliefert und bis zu diesem gekühlt bei 0°C gelagert.

Die Durchführung der 4 Versuche unterschied sich in Zeitpunkt der Zugabe und der Menge an eingebrachten Enterokokken (Tab. 4).

Tabelle 4: Versuchsaufbau – Zusatz von Enterokokken

Versuch Nr.	Zusatz von Enterokokken	Konzentration
1	Kein	-
2	Bei Wurstherstellung	10^3 /g
3	Zu Fleisch vor Lagerung	10^3 /g
4	Zu Fleisch vor Lagerung	10^6 /g

Von den Originalverpackungen (tiefgezogene Kunststoffschalen mit Schutzfolie) mit dem Faschierten wurden bei den Versuchen 1 und 2 vor der Lagerung die Schutzfolie entfernt und diese durch eine handelsübliche Frischhaltefolie ersetzt. Anschließend erfolgte die Lagerung bei 4 °C im Kühlschrank.

Die Einmischung der Enterokokken in das Faschierte wurde mit Hilfe eines Handmixers mit Knethaken durchgeführt. Jeweils 1 kg des Fleisches wurde mit der entsprechenden Menge an Enterokokken-Suspension in ein steriles Plastikgefäß eingewogen und anschließend mit dem sterilen Knethaken für zirka 4 Minuten gemischt. Nach der Zugabe der Enterokokken erfolgte bei Versuch 2 sofort die Wurstherstellung. Bei den Versuchen 3 und 4 wurde das Faschierte nach der Einbringung der Enterokokken wieder in die Tiefziehtassen gegeben, mit Frischhaltefolie verschlossen und bei 4 °C gelagert.

3.1.1 Herstellung des Enterokokken- Inokulums

Ein Isolat von *Enterococcus faecalis* (Stammsammlungsnummer PEF_17 des Inst. f. Fleischhygiene) wurde bei 37°C für 24h in Brain-Heart-Infusion (Difco Nr. 237500) angezüchtet und danach die Dichte visuell (durch Vergleich der Trübung mit McFarland Standard; bioMerieux) auf ca. 10^9 kbE/ml eingestellt. Zum Erreichen der Endkonzentrationen von ca. 10^6 bzw. 10^3 kbE/g Wurstmasse wurden 1 ml dieser Suspension / kg Wurstmasse bzw. 1 ml einer 1:1000 Verdünnung dieser Suspension zugesetzt. Der Stamm wurde aus Rohwurst isoliert und besaß die Fähigkeit, in vitro Tyramin, jedoch nicht Putrescin, Cadaverin und Histamin zu bilden [PIRCHER et al., 2007].

3.1.2 Herstellung der Würste

Für die Herstellung der Wurst wurde ein Handmixer mit sterilen Knethaken benutzt. Zuerst wurden 500 Gramm des Faschierten in einem sterilen Gefäß durchgeknetet, um eine gleichmäßige Verteilung zu erhalten. Anschließend wurden 10 ml einer Suspension von Starterkulturen (Biostart Sprint, Fa. Raps; Zusammensetzung: *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus* und *Staphylococcus xylosus* auf Trägerstoff Dextrose) in Peptonwasser zugesetzt und 27 Gramm Nitritpökelsalz (99,4% NaCl und 0,6% NaNO₂) sowie 6,5 Gramm einer Gewürzmischung eingewogen. Die Wurstmasse wurde nochmals mit den Knethaken durchmengt und weitere 500 Gramm Faschiertes hinzugefügt und durchmischt. Die fertige Wurstmasse wurde mittels sterilen Handschuhen in einen sterilen Beutel überführt und dieser nochmals mit den Händen von außen durchgeknetet.

Daraufhin wurden jeweils 100 Gramm der Wurstmasse in 10 Vakuumbbeutel (Siegelrandbeutel aus Polyamid - Polyethylen, Stärke 90 µm; Fa. Felzmann) gefüllt und zu kleinen Würsten geformt. Drei der Proben wurden noch am selben Tag analysiert. Die restlichen 7 Proben wurden bei 18°C gelagert. Drei der 7 Proben wurden nach 2 Tagen und drei weitere nach 7 Tagen Lagerung untersucht. Die zehnte Probe diente als Reserve.

3.2 Untersuchungen

3.2.1 Mikrobiologische Untersuchung

Alle Würste wurden auf den Gehalt von Enterokokken, Pseudomonaden, Enterobacteriaceen, Staphylokokken und Laktobazillen hin untersucht. Außerdem wurde der Gesamtkeimgehalt bestimmt. Dies erfolgte mit Hilfe von speziellen Nährböden, die in Tab. 5 zusammengefasst sind.

Tabelle 5: Verwendete Nährböden

Nährboden	Bakterium	Bebrütungs- temperatur	Bebrütungszeit
Plate-count Agar (Merck, Darmstadt, D)	Gesamtkeimzahl	30°C	48-72 Stunden
MRS Agar (Oxoid, Basingstoke, UK)	Laktobazillen	37°C	48-72 Stunden
KRANEP Agar (Merck)	Staphylokokken	37°C	48 Stunden
VRBG Agar (Merck)	Entero- bacteriaceen	37°C	24 Stunden
GSP Agar (Merck)	Pseudomonaden	22-25°C	48 Stunden
Kanamycin-Äsculin- Azid Agar (Oxoid)	Enterokokken	42°C	24 Stunden

Für die mikrobiologische Analyse wurden ca. 15 g der Wurstmasse in einen sterilen Stomacher-Beutel gewogen und 9 Gewichtsteile Peptonwasser (Pepton tryptisch, 1 g/l, Fa. Oxoid und NaCl 8,5 g /l) zugesetzt. Die erhaltene Suspension wurde mit einem Knetmischer (Stomacher 400, Fa. Seward Medical) durchmischt. Anschließend wurde aus dem 1:10-Gemisch eine dezimale Verdünnungsreihe hergestellt. Hierfür wurde 1 ml der 1:10-Verdünnung in eine Eprovette, in der sich bereits 9 ml Peptonwasser befinden, überführt. Die erhaltene Suspension wurde durchmischt (Vortex, Fa. IKA). Aus dieser 1:100- Verdünnung wurden auf dieselbe Weise weitere Verdünnungen erzeugt.

0,1 ml dieser Verdünnungen wurden mittels 1 ml-Pipetten auf die entsprechenden Nährböden aufgetragen. Anschließend wurden die Nährböden bei der entsprechenden Temperatur für 24 -72 Stunden bebrütet (Tab. 5).

3.2.2 Bestimmung von biogenen Aminen

3.2.2.1 Material

Wässrige Trichloressigsäurelösung (10 % w/v)

gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung

Dansylchlorid-(5- [Dimethylamino]-naphthalin-1-sulfonylchlorid)lösung (5 mg/ml Aceton, stets frisch bereiten)

Laufmittel (nach MIETZ und KARMAS, 1977; jeweils in HPLC- Qualität):

Laufmittel "A": 100 ml Acetonitril werden mit 900 ml 0,02M Essigsäure vermischt; Laufmittel "B": 100 ml 0,02M Essigsäure werden mit 450 ml Acetonitril und 450 ml Methanol vermischt.

Standardlösungen biogener Amine werden durch Lösen von ca. 1 mg Amin (Reinsubstanz) / 1 ml 0,1M HCl hergestellt. Es handelte sich dabei um folgende Amine (Fa. Serva):

Cadaverin·2HCl; Histamin·2HCl; Putrescin·2HCl; Spermin·4HCl;
Spermidin·3HCl; Tyramin·HCl.

3.2.2.2 Aufschluss für den Nachweis der biogenen Amine

10 Gramm der Wurstmasse wurden mit 90 Gramm 10%iger Trichloressigsäure aufgefüllt. Die Probenpartikel wurden anschließend feinst dispergiert (Ultra-Turrax T25, Fa. IKA). Die Suspension wurde über einen Faltenfilter in einen 100 ml Erlenmeyer-Kolben überführt und mittels Parafilm luftdicht verschlossen. Die Lösungen wurden bei 0°C bis zur Derivatisierung der biogenen Amine gelagert.

3.2.2.3 Derivatisierung

400 µl des Extraktes wurden mittels Kolbenhubpipette in einen Spitzkolben transferiert. Anschließend wurde mit 1 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung alkalisiert und 1 ml Dansylchlorid-Lösung zugefügt. Nach intensivem

Rütteln wurde der Spitzkolben verschlossen und bei 70°C für 10 Minuten im Wasserbad erwärmt und daraufhin mittels Rotationsverdampfer bei 50°C die flüssige Phase abgedampft. Die im Spitzkolben zurückgebliebenen Derivate der biogenen Amine wurden durch Zugabe von 2 ml Acetonitril gelöst und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (Nr. 3810) überführt. Nach Zentrifugieren bei 10000 x g, 15 min, +4°C (Kühlzentrifuge Sigma TK30) wurde der klare Überstand für die HPLC Analyse verwendet.

Zur Derivatisierung der Standardlösungen wurden je 0,1 ml der Standardlösungen (insgesamt 0,6 ml) in einen Spitzkolben einpipettiert und wie oben behandelt.

3.2.2.4 Chromatographische Trennung und Quantifizierung der Amine

Die derivatisierten Amine wurden mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie auf einer C₁₈-RP HPLC Säule (Fa. ACE, Aberdeen, UK) auf einem Waters 2690 System (Waters, Milford, USA) mit einem Laufmittelgradienten nach Tab. 6 getrennt. Die Säulentemperatur betrug 25°C. Die Detektion erfolgte durch Messung der Absorption bei 254 nm (Waters 996 photo-diode-array detector, Fa. Waters, Milford, USA).

Tabelle 6: Laufmittelgradient

Zeit (min.)	Laufmittel „A“, %	Laufmittel „B“, %	Fluss, gesamt (ml/min)
0-6	40	60	0,5
6-9	30	70	0,5
9-13	20	80	0,5
13-18	10	90	0,5
18-20	0	100	0,5
20-22	10	90	0,5
22-24	20	80	0,5
24-26	30	70	0,5
26-28	40	60	0,5

Die Identifizierung der Probenpeaks erfolgte durch Vergleich der Retentionszeiten mit den Peaks der Referenzsubstanzen. Die Quantifizierung erfolgte über den Vergleich der Peakflächen.

4 Ergebnisse

4.1 Veränderungen des Rohmaterial während der Lagerung

4.1.1 Mikroflora

Die Lagerung des Rohmaterials (Faschiertes) hatte signifikante Auswirkungen auf den Gehalt von Laktobazillen, Enterobacteriaceen und Pseudomonaden und daraus folgend auch auf die Gesamtkeimzahl.

Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl:

In allen Versuchen war ein Anstieg der Gesamtkeimzahl über die Lagerdauer hinweg erkennbar. Die Gesamtkeimzahl lag bei nicht gelagertem Fleisch bei durchschnittlich 6,8 bis 7,0 $\log_{10}$ kbE/g und stieg bis zum Tag 10 der Lagerung auf über 9,0 $\log_{10}$ kbE/g signifikant ($p < 0,01$) an (Tab. 7). Die Werte der Gesamtkeimzahlen bei den Proben, die nicht gelagert wurden, setzen sich zum Großteil aus Laktobazillen und Staphylokokken zusammen, die aus dem Zusatz der Starterkulturen stammen, daher scheinen diese Werte für frisches Faschiertes sehr hoch.

Tabelle 7: Gesamtkeimzahl (Mittelwerte) im Rohmaterial in $\log_{10}$ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	6,78	6,98	6,98	6,96
2 Tage Lagerung	7,12	6,87	8,25	7,35
7 Tage Lagerung	9,63	9,11	8,65	9,03
10 Tage Lagerung	9,48	9,42	9,21	9,65

Laktobazillen:

In Versuch 1 stieg der Gehalt an Laktobazillen über die Lagerdauer von 10 Tagen von anfänglich 6,7 auf 7,98 $\log_{10}$ kbE/g, dabei war die größte Zunahme zwischen Tag 2 und 7 zu beobachten. In den Versuchen 2 und 3 kam es kaum zu einem Anstieg. Die Laktobazillen-Konzentration stieg hier von 6,7 $\log_{10}$ kbE/g auf durchschnittlich 7,0 $\log_{10}$ kbE/g nach 10 Tagen Lagerung. In Versuch 4 war der Gehalt an Laktobazillen sowohl vor (4,0 $\log_{10}$ kbE/g) als auch nach der Lagerung (6,8 $\log_{10}$ kbE/g) deutlich geringer als in den drei anderen Versuchen (Tab. 8). Der stärkste Anstieg fand dabei zwischen den Tagen 2 und 7 der Lagerung statt, was auf das längere Intervall zwischen den beiden Untersuchungen zurückzuführen sein kann.

Tabelle 8: Laktobazillen (Mittelwerte) im Rohmaterial in $\log_{10}$ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	6,70	6,71	6,71	4,00
2 Tage Lagerung	6,81	6,64	6,53	5,10
7 Tage Lagerung	7,95	6,70	6,29	6,77
10 Tage Lagerung	7,98	6,99	6,96	6,75

Staphylokokken:

Während der Lagerung des Fleisches über 10 Tage kam es zu keiner signifikanten Änderung ($p > 0,05$) der Staphylokokken-Konzentrationen. Die durchschnittlichen Konzentrationen waren im Bereich 6,4 - 6,8 $\log_{10}$ kbE/g (Tab. 9).

Tabelle 9: Staphylokokken (Mittelwert) im Rohmaterial in $\log_{10}$ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	6,60	6,65	6,65	6,39
2 Tage Lagerung	6,60	6,63	6,56	6,56
7 Tage Lagerung	6,69	6,67	6,62	6,68
10 Tage Lagerung	6,60	6,61	6,45	6,74

Enterobacteriaceen:

Die Konzentration an Enterobacteriaceen stieg mit zunehmender Lagerdauer in allen Versuchen signifikant an ($p < 0,01$). Dieser Anstieg betrug ca. $4,5 \log_{10}$ kbE/g innerhalb von 10 Tagen Lagerung (Tab. 10). In den Versuchen 1, 2 und 3 lag der Gehalt an Enterobacteriaceen im Faschierten bei rund $3,5 \log_{10}$ kbE/g und in Versuch 4 bei $2,2 \log_{10}$ kbE/g. Mit $8,6 \log_{10}$ kbE/g war in Versuch 1 die Enterobacteriaceen-Konzentration am höchsten, hier war aber auch die Anfangskonzentration höher als in den anderen Versuchen.

Tabelle 10: Enterobacteriaceen (Mittelwert) im Rohmaterial in $\log_{10}$ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	3,76	3,16	3,16	2,20
2 Tage Lagerung	4,43	3,29	4,19	2,79
7 Tage Lagerung	6,50	7,13	7,52	6,64
10 Tage Lagerung	8,55	7,35	7,71	6,67

Pseudomonaden:

In allen vier Versuchen stieg die Konzentration an Pseudomonaden im Laufe der Lagerung signifikant an ($p < 0,01$). In den Versuchen 1,2 und 3 betrugen die Anfangskeimzahlen durchschnittlich $4,5 \log_{10}$ kbE/g und die Keimzahlen nach

10 Tagen Lagerung durchschnittlich $9,2 \log_{10}$ kbE/g (Tab. 11). Obwohl in Versuch 4 die Menge an Pseudomonaden mit $3,9 \log_{10}$ kbE/g im frischen Rohmaterial deutlich geringer war als in den anderen Versuchen, wurde hier nach 10 Tagen Lagerung der höchste Pseudomonaden-Gehalt ($9,6 \log_{10}$ kbE/g) erreicht.

Tabelle 11: Pseudomonaden (Mittelwert) im Rohmaterial in $\log_{10}$ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	4,43	4,72	4,72	3,89
2 Tage Lagerung	5,82	4,90	7,50	5,66
7 Tage Lagerung	8,50	8,77	8,51	9,01
10 Tage Lagerung	9,31	9,19	9,08	9,55

Enterokokken:

Während der Lagerung des Fleisches über 10 Tage kam es zu keiner signifikanten Änderung ($p > 0,05$) der Enterokokken-Konzentrationen. In Versuch 2 und 3 wurden ca. $3 \log_{10}$ und in Versuch 4 ca. $6 \log_{10}$ *Enterococcus faecalis*/g zugesetzt, was sich auch im Ergebnis widerspiegelt (Tab. 12).

Tabelle 12: Enterokokken (Mittelwert) im Rohmaterial in $\log_{10}$ kbE/g in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	< 2	3,6	3,6	5,7
2 Tage Lagerung	2,6	3,5	3,8	6,1
7 Tage Lagerung	<2	3,7	4,4	6,0
10 Tage Lagerung	<2	3,4	3,5	5,8

4.1.2 Biogene Amine

Während der Lagerung des Faschierten kam es zu einer Zunahme der Konzentrationen an biogenen Aminen. Die durchschnittlichen Konzentrationen nach zehntägiger Lagerung waren aber – außer bei Tyramin – unter 10 mg/kg.

Putrescin:

Am Tag 0 der Lagerung wurden Putrescinkonzentrationen von 1 - 2 mg/kg bestimmt. Während der Lagerung war ein Anstieg zu beobachten, die Endkonzentrationen waren aber unter 10 mg/kg (Tab. 13).

Tabelle 13: Mittlere Putrescinkonzentrationen (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	1,80	1,12	1,12	1,24
2 Tage Lagerung	8,94	0,42	0,94	2,90
7 Tage Lagerung	3,59	0,58	5,23	18,10
10 Tage Lagerung	4,78	4,15	7,68	6,71

Cadaverin:

Die Konzentration an Cadaverin stieg in allen Versuchen über die Lagerdauer hinweg an, die durchschnittlichen Gehalte blieben aber unter 10 mg/kg (Tab. 14).

Tabelle 14: Mittlere Cadaverinkonzentrationen (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	2,40	0,41	0,41	0,76
2 Tage Lagerung	1,07	0,16	4,09	0,39
7 Tage Lagerung	1,50	3,20	7,82	9,29
10 Tage Lagerung	5,60	5,12	9,53	9,97

Histamin:

Bei allen vier Versuchen kam es zu keinem signifikanten ($p > 0,05$) Anstieg der Histaminkonzentration. Die Werte lagen meist unter 2 mg/kg, aber niemals über 5 mg/kg (Tab. 15).

Tabelle 15: Mittlere Histaminkonzentration (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	0,47	1,34	1,34	0,20
2 Tage Lagerung	2,00	2,17	0,51	1,02
7 Tage Lagerung	0,77	1,30	1,06	2,20
10 Tage Lagerung	0,72	1,00	2,04	0,62

Tyramin:

Am Tag 0 der Lagerung wurden durchschnittliche Tyraminkonzentrationen um 1 mg/kg nachgewiesen. Mit der Lagerung wurden in allen 4 Versuchen signifikant ($p < 0,01$) höhere Tyraminkonzentrationen nachgewiesen (Tab. 16). In Versuch 4 wurde bereits nach 7 Tagen Lagerung mehr als der dreifache Gehalt an Tyramin festgestellt als in den beiden Versuchen, bei denen vor der Lagerung keine Enterokokken zugesetzt worden waren.

Tabelle 16: Mittlere Tyraminkonzentration (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	0,38	1,63	1,63	0,36
2 Tage Lagerung	0,93	0,14	3,62	3,54
7 Tage Lagerung	2,04	3,62	5,47	11,05
10 Tage Lagerung	5,07	3,45	6,43	15,36

Spermidin:

Die durchschnittlichen Spermidinkonzentrationen betrugen 0,40 - 1,73 mg/kg (Tab. 17). In den Versuchen 1 bis 3 wurden nach 10 Tagen Lagerung des Rohmaterials geringere Werte an Spermidin als im frischen Rohmaterial festgestellt. In Versuch 4 zeigte sich ein gegenteiliges Bild, hier stieg der Gehalt an Spermidin über die Lagerdauer hinweg an.

Tabelle 17: Mittlere Spermidinkonzentration (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	1,02	1,39	1,39	0,63
2 Tage Lagerung	0,95	0,40	0,55	0,71
7 Tage Lagerung	0,98	1,30	0,42	0,83
10 Tage Lagerung	0,70	0,51	0,49	1,73

Spermin:

Wie bei Spermidin stieg in Versuch 4 der Gehalt an Spermin über die Lagerdauer hinweg an, wohingegen in den Versuchen 1 bis 3 der Gehalt an Spermin in 10 Tage gelagertem Fleisch geringer war als im frischen Rohmaterial.

In den ersten drei Versuchen nahm die Konzentration von über 6 mg/kg auf unter 5 mg/kg ab. In Versuch 4 stieg sie von 5,6 mg/kg auf durchschnittlich 7,5 mg/kg (Tab. 18).

Tabelle 18: Mittlere Sperminkonzentrationen (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	6,83	6,28	6,28	5,58
2 Tage Lagerung	4,99	3,88	4,68	7,01
7 Tage Lagerung	3,88	4,56	3,40	6,77
10 Tage Lagerung	4,48	4,92	4,21	7,46

„Biogenic Amine Index“ (BAI)

Bei nicht gelagertem Faschiertem war der BAI im Bereich von 5 mg/kg, und stieg mit der Lagerung deutlich an. Eine deutliche Qualitätsminderung (BAI Werte über 20 mg/kg) war bei den Versuchen 1 und 2 erst am 10. Tag bzw. in den Versuchen 3 und 4 am 7. Tag feststellbar.

Tabelle 19: Summe der Konzentrationen von Putrescin, Cadaverin, Histamin und Tyramin (mg/kg) im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 4 („Biogenic Amine Index“ nach HERNÁNDEZ-JOVER et al., 1996a)

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage Lagerung	5,05	4,5	4,5	2,56
2 Tage Lagerung	12,94	2,89	9,16	7,85
7 Tage Lagerung	7,9	8,7	19,58	40,64
10 Tage Lagerung	16,17	13,72	25,68	32,66

4.2 Auswirkungen der Lagerung des Rohmaterials auf das Produkt

4.2.1 Mikroflora

Gesamtkeimzahl:

Die Gesamtkeimzahl war in allen Versuchen bei Würsten aus frischem Rohmaterial um ca. 0,4 - 0,8 $\log_{10}$ kbE/g höher als in Würsten aus 10 Tage gelagertem Fleisch (Tab. 20). In Würsten aus frischem Rohmaterial lag die Keimzahl nach 7 Tagen Wurstreifung bei durchschnittlich 9,2 $\log_{10}$ kbE/g. Im Gegensatz dazu enthielten Würste aus gelagertem Fleisch (10 Tage) durchschnittlich 8,4 bis 8,8 $\log_{10}$ kbE/g.

Tabelle 20: Durchschnittliche Gesamtkeimzahl ($\log_{10}$ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	9,27	9,20	9,20	9,22
2 Tage	9,07	9,23	9,09	9,07
7 Tage	8,70	8,59	8,52	8,78
10 Tage	8,61	8,75	8,78	8,40

Laktobazillen:

In Versuch 1 war eine kontinuierliche Abnahme der Laktobazillen zu verzeichnen. Je länger das Rohmaterial vor der Wurstherstellung gelagert wurde, desto niedriger war der Gehalt an Laktobazillen im Endprodukt (Tab. 21). In den Versuchen 2 und 3 war kein deutlicher Unterschied in der Laktobazillen-Konzentration zwischen Würsten aus gelagertem und frischem Rohmaterial zu erkennen. In Versuch 4 war der Gehalt an Laktobazillen in Würsten aus frischem Rohmaterial mit 6,2 $\log_{10}$ kbE/g deutlich geringer als in

Würsten aus gelagertem Fleisch. Dies ist darauf zurückzuführen, dass hier in der Wurstmasse vor der Wurstreifung ein geringerer Gehalt an Laktobazillen ($4,0 \log_{10} \text{ kbE/g}$) enthalten war.

Tabelle 21: Durchschnittliche Laktobazillenkonzentration ($\log_{10} \text{ kbE/g}$) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	9,03	8,77	8,77	6,16
2 Tage	8,72	8,96	8,49	7,04
7 Tage	8,32	8,18	7,48	7,40
10 Tage	8,03	8,62	8,59	7,26

Staphylokokken:

Die durchschnittlichen Konzentrationen waren im Bereich $5,86 - 6,60 \log_{10} \text{ kbE/g}$, ohne dass eine Tendenz ablesbar wäre (Tab. 22).

Tabelle 22: Durchschnittliche Staphylokokkenkonzentration ($\log_{10} \text{ kbE/g}$) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	6,13	6,33	6,33	6,22
2 Tage	6,15	6,19	6,14	6,53
7 Tage	6,76	6,60	5,86	6,42
10 Tage	6,60	6,57	6,59	6,35

Enterobacteriaceen:

In allen Versuchen stieg die Konzentration an Enterobacteriaceen mit der Lagerdauer des Rohmaterials an (Tab. 23). Der Unterschied in der Enterobacteriaceen-Konzentration war hier bei den Würsten aus nicht bzw. 2 Tage gelagertem Rohmaterial noch nicht sehr groß. Würste aus 7 und 10 Tage

gelagertem Fleisch zeigten bereits einen deutlich höheren Gehalt an Enterobacteriaceen. Der Enterobacteriaceen Gehalt in Würsten aus frischem Fleisch lag bei 2,0 bis 2,6 $\log_{10}$ kbE/g. Mit Gehalten von 2,0 bis 2,5 $\log_{10}$ kbE/g war hier ein kein bzw. nur ein geringfügiger Unterschied zu Würsten aus kurz gelagertem Fleisch vorhanden. Deutlich höher mit 4,8 bis 7,4 $\log_{10}$ kbE/g war die Enterobacteriaceen-Konzentration in Würsten aus 7 Tage gelagertem Fleisch. Nach 10 Tagen Rohmaterial-Lagerung und 7 Tagen Wurstreifung wurden durchschnittlich 5,8 bis 7,5 $\log_{10}$ kbE/g nachgewiesen. In Versuch 4 waren die Konzentrationen an Enterobacteriaceen verglichen mit den anderen drei Versuchen etwas geringer, da in diesem Versuch bereits weniger Enterobacteriaceen im Rohmaterial enthalten waren.

Tabelle 23: Durchschnittliche Enterobacteriaceenkonzentration ($\log_{10}$ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	2,62	2,10	2,10	2,00
2 Tage	2,20	2,00	2,51	2,20
7 Tage	7,40	5,90	6,94	4,78
10 Tage	7,46	6,89	7,40	5,84

Pseudomonaden:

Je länger das Rohmaterial vor der Wurstherstellung gelagert wurde, umso höher war der Gehalt an *Pseudomonas* im Endprodukt (Tab. 24). Würste aus frischem Faschierem enthielten durchschnittlich 2,1 bis 2,7 $\log_{10}$ kbE/g. Wurde das Rohmaterial vor der Wurstherstellung 2 Tage gelagert, enthielt das Endprodukt mit 3,3 bis 4,6 $\log_{10}$ kbE/g bereits signifikant ($p < 0,05$) höhere Werte an Pseudomonaden. Ein weiterer deutlich stärkerer Anstieg an *Pseudomonas* erfolgte, wenn das Faschierte vor der Wurstherstellung 7 bzw. 10 Tage gelagert worden war. Hier wurden 6,0 bis 8,7 bzw. 7,3 bis 8,6 $\log_{10}$ kbE/g an Pseudomonaden nachgewiesen.

Tabelle 24: Durchschnittliche Pseudomonadenkonzentration ($\log_{10}$ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	2,73	2,10	2,10	2,56
2 Tage	4,60	3,66	4,34	3,31
7 Tage	8,69	7,18	7,37	6,01
10 Tage	8,56	7,79	7,96	7,28

Enterokokken:

Die Konzentration an Enterokokken änderte sich in keinem der vier Versuche signifikant, weder in Abhängigkeit von der Lagerdauer des Rohmaterials noch in Abhängigkeit von der Reifungsdauer der Rohwürste.

Tabelle 25: Durchschnittliche Enterokokkenkonzentration ($\log_{10}$ kbE/g) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	< 2	3,3	3,3	5,7
2 Tage	< 2	4,2	4,6	6,0
7 Tage	< 2	3,2	3,6	5,4
10 Tage	< 2	3,1	3,3	5,8

4.2.2 Biogene Amine

Die Endkonzentrationen der biogenen Amine Putrescin, Cadaverin, Tyramin und in 2 der 4 Versuche auch Histamin in Mettwürsten waren höher, wenn das zu Herstellung verwendete Faschierte 7 oder 10 Tage gelagert worden war.

Putrescin:

In den Versuchen 2 bis 4 war die Konzentration an Putrescin umso höher, je länger das Rohmaterial vor der Wurstherstellung gelagert worden war (Tab. 26). Aus 10 Tage gelagertem Faschierten hergestellte Würste wiesen Endkonzentrationen von 15-20 (Versuch 1 bis 3) bzw. 73,4 mg/kg Putrescin auf. Der Gehalt an Putrescin stieg in den Versuchen, in denen Enterokokken vor der Rohmaterial-Lagerung zugesetzt wurden, deutlich schneller an. Hier wurden bereits bei den Würsten, die 2 Tage gelagert wurden, höhere Putrescinkonzentrationen als in den beiden anderen Versuchen erreicht.

Tabelle 26: Mittlere Putrescinkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	4,74	0,05	0,05	5,96
2 Tage	3,90	1,13	6,25	8,61
7 Tage	25,87	8,05	13,38	29,25
10 Tage	16,43	15,30	19,96	73,36

Cadaverin:

Der Cadaverin-Gehalt war in den Versuchen 2 bis 4 umso höher, je länger das Fleisch vor der Wurstherstellung gelagert worden war (Tab. 27). Nach 10 Tagen Fleischlagerung und 7 Tagen Rohwurstreifung wurden in diesen Versuchen 23,9; 39,1 bzw. 37,3 mg/kg Cadaverin ermittelt. In Versuch 1 wurden mit durchschnittlich 147,0 mg/kg in Würsten aus 7 Tage gelagertem Fleisch deutlich höhere Werte an Cadaverin nachgewiesen als in den anderen drei Versuchen. Wie auch schon bei Putrescin liegt der Cadaverin-Gehalt bei den Würsten aus 7 Tage gelagertem Fleisch in Versuch 1 höher als in Würsten aus 10 Tage gelagertem Fleisch.

Tabelle 27: Mittlere Cadaverinkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert:	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	1,86	0,12	0,12	0,92
2 Tage	2,31	0,27	8,80	1,09
7 Tage	147,01	9,12	20,18	17,36
10 Tage	101,48	23,85	39,05	37,28

Histamin:

In den Versuchen 1 und 4 war ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Lagerung des Rohmaterials und dem Gehalt an Histamin im Endprodukt festzustellen (Tab. 28). Bei den Versuchen 2 und 3 konnte man einen höheren Gehalt an Histamin in den Würsten feststellen, in denen 10 Tage gelagertes Fleisch verwendet wurde, als in den Würsten aus frischem Fleisch. Mit einer Ausnahme waren die Histaminkonzentrationen <10 mg/kg.

Tabelle 28: Mittlere Histaminkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	0,12	2,68	2,68	0,70
2 Tage	1,13	3,94	0,78	1,67
7 Tage	1,86	3,00	5,82	5,29
10 Tage	6,91	4,56	9,44	7,67

Tyramin:

Je länger das Fleisch vor der Wurstherstellung gelagert worden war, umso höher war der Gehalt an Tyramin im Endprodukt (Tab. 29). In den Versuchen 2 und 3 wurden geringere Werte an Tyramin als in den beiden anderen Versuchen festgestellt.

In Versuch 1 wiesen aus nicht gelagerten Faschierten hergestellte Mettwürste eine mittlere Tyraminkonzentration von 5,2 mg/kg auf. Bei Würsten, die aus 10 Tage gelagertem Fleisch hergestellt worden waren, betrug der Tyramingehalt 86,1 mg/kg.

In den Versuchen 2 und 3 wurden Tyraminkonzentrationen von 31,8 bzw. 37,8 mg/kg nach 10 Tagen Fleischlagerung und 7 Tagen Wurstreifung nachgewiesen. In Versuch 4 wurden mit 20,5 mg/kg bereits in Würsten aus frischem Fleisch vergleichsweise hohe Werte an Tyramin festgestellt. Hier stieg die Konzentration an Tyramin in Würsten aus 7 bzw. 10 Tage gelagertem Rohmaterial auf 59,3 bzw. 135,0 mg/kg.

Tabelle 29: Mittlere Tyraminkonzentration im Endprodukt (mg/kg) in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	5,17	0,53	0,53	20,46
2 Tage	19,09	3,38	21,20	32,12
7 Tage	56,91	16,57	25,77	59,34
10 Tage	86,13	31,79	37,80	134,98

Spermidin:

Der Spermidin-Gehalt lag im fertigen Produkt größtenteils unter 1 mg/kg (Tab. 30).

Tabelle 30: Mittlere Spermidinkonzentration (mg/kg) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	0,61	0,36	0,36	0,60
2 Tage	0,47	0,35	0,80	0,98
7 Tage	0,71	0,18	0,19	0,85
10 Tage	1,48	0,56	0,39	0,53

Spermin:

Der Spermin-Gehalt war in allen Proben unter 10 mg/kg (Tab. 31).

Tabelle 31: Mittlere Sperminkonzentration (mg/kg) im Endprodukt in den Versuchen 1 bis 4

Rohmaterial gelagert	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
0 Tage	4,83	3,96	3,96	5,74
2 Tage	4,27	3,59	5,66	8,06
7 Tage	3,06	1,62	2,22	4,38
10 Tage	6,22	3,22	2,94	4,78

4.3 Enterokokken

4.3.1 Verhältnis der Enterokokken zu anderen Mikroorganismengruppen

Die Konzentration an Enterokokken veränderte sich in keinem der vier Versuche signifikant ($p < 0,05$) (siehe Tab. 12 und 25).

Die Menge an Enterokokken war signifikant negativ mit den Laktobazillen- und Enterobacteriaceenkonzentrationen korreliert (Tab. 32).

Tabelle 32: Korrelationen zwischen den untersuchten Mikroorganismengruppen (Korrelation nach Pearson; Signifikanz 2-seitig)

	GKZ	Staph.	Milchsäure- bakterien	Entero- bacteriaceen	<i>Pseudo- monas</i>	Entero- kokken
GKZ	1	-,137 ,102	,551(**) ,000	,182(*) ,029	,129 ,124	-,089 ,291
Staph.	-,137 ,102	1	-,192(*) ,021	,411(**) ,000	,478(**) ,000	-,073 ,383
Milchsäure- bakterien	,551(**) ,000	-,192(*) ,021	1	-,062 ,458	-,191(*) ,022	-,566(**) ,000
Entero- bacteriaceen	,182(*) ,029	,411(**) ,000	-,062 ,458	1	,937(**) ,000	-,182(*) ,029
<i>Pseudomonas</i>	,129 ,124	,478(**) ,000	-,191(*) ,022	,937(**) ,000	1	-,083 ,322
Enterokokken	-,089 ,291	-,073 ,383	-,566(**) ,000	-,182(*) ,029	-,083 ,322	1

** Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

* Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

GKZ ... Gesamtkeimzahl; Staph. ... Staphylokokken.

4.3.2 Enterokokkengehalte und biogene Amine

4.3.2.1 Enterokokkengehalte und biogene Amine im Rohmaterial

Hinsichtlich der Putrescin- und Cadaverinkonzentrationen (Abb. 3 bzw. 4) unterschied sich Fleisch mit Enterokokkenzusatz von jenen ohne am 2. und 10. Tag der Lagerung nicht signifikant, während nach 7 Tagen Lagerung signifikant höhere Konzentrationen dieser Diamine in mit 10^6 Enterokokken /g inokuliertem Fleisch gefunden wurden ($p < 0,05$).

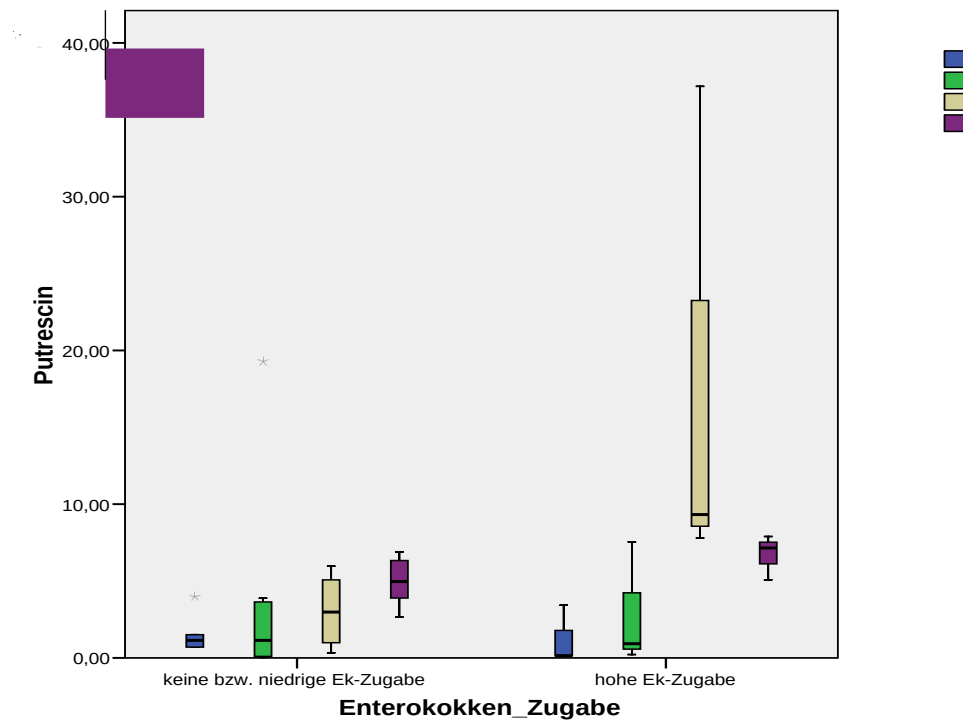


Abbildung 3: Putrescinkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz

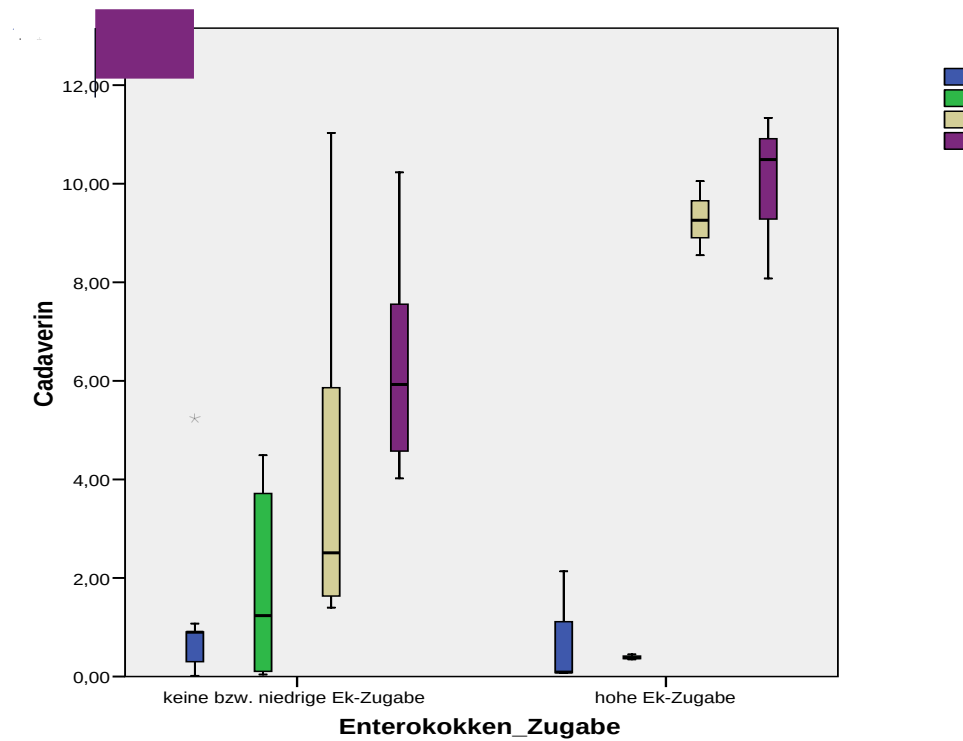


Abbildung 4: Cadaverinkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz

Es konnte kein signifikanter ($p < 0,05$) Unterschied des Histamin-Gehaltes im Rohmaterial während der zehntägigen Lagerung festgestellt werden (Abb. 5). Ab dem 7. Tag der Fleischlagerung bestand allerdings ein signifikanter ($p < 0,05$). Unterschied im Tyramin-Gehalt des Rohmaterials (Abb. 6).

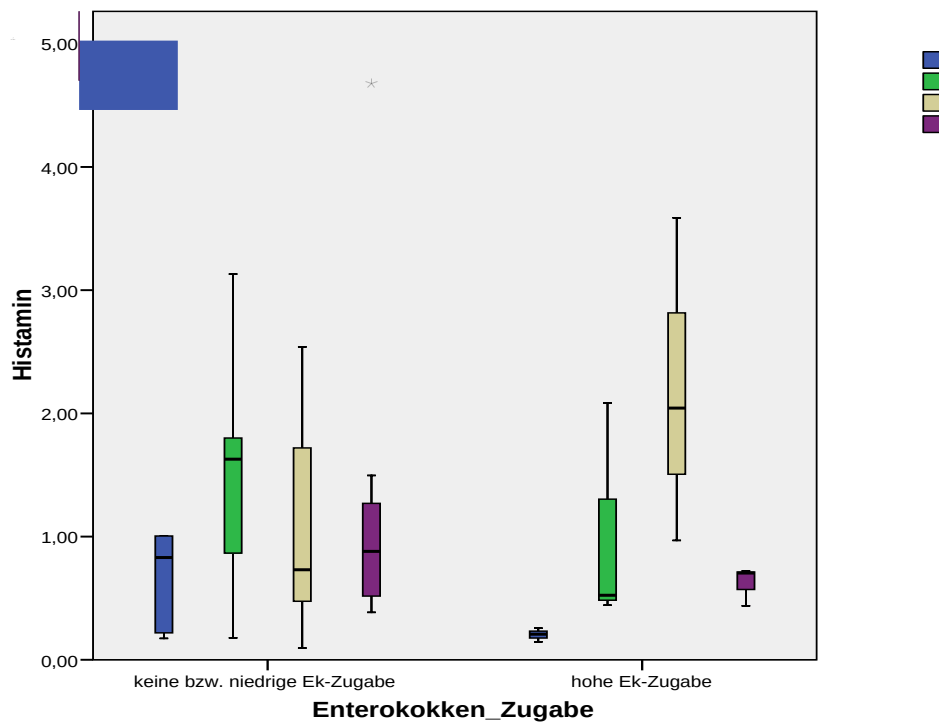


Abbildung 5: Histaminkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz

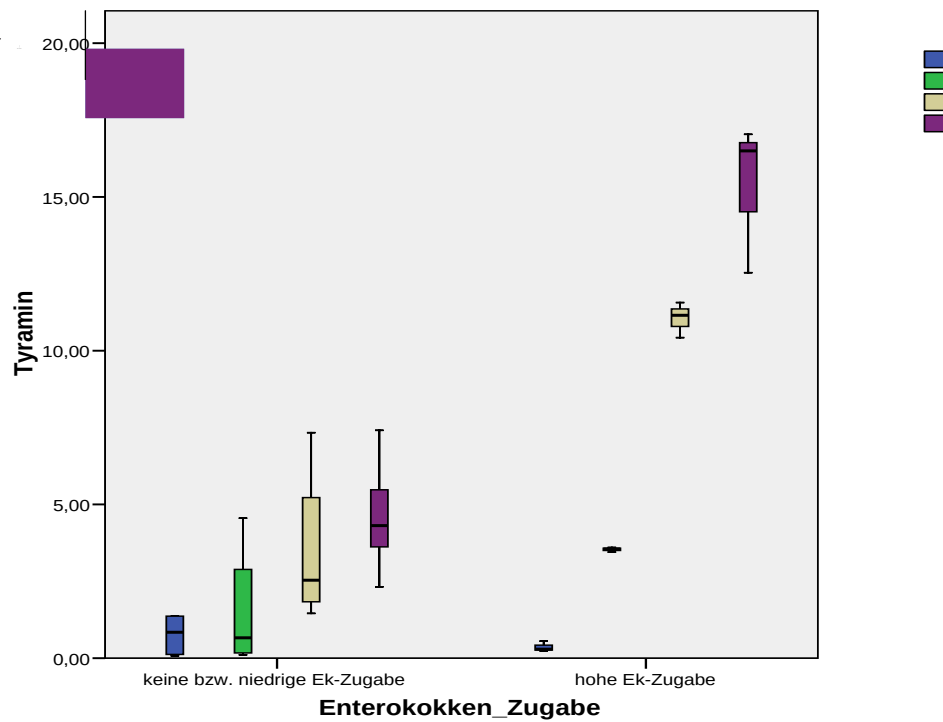


Abbildung 6: Tyraminkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz

Es bestand kein signifikanter Unterschied des Spermidin-Gehaltes im Rohmaterial nach 2 und 7 Tagen Lagerung, aber nach 10 Tagen Lagerung (Abb. 7). Der Spermidin-Gehalt war zum Versuchsbeginn im Rohmaterial in den Versuchen 1 bis 3 durchschnittlich höher als in Versuch 4.

Ab dem 2. Tag der Fleischlagerung lag ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Gehalt an Spermin im Rohmaterial zwischen dem Versuch mit hoher Enterokokken-Zugabe und den Versuchen mit niedriger bzw. keiner Enterokokken-Zugabe vor (Abb. 8).

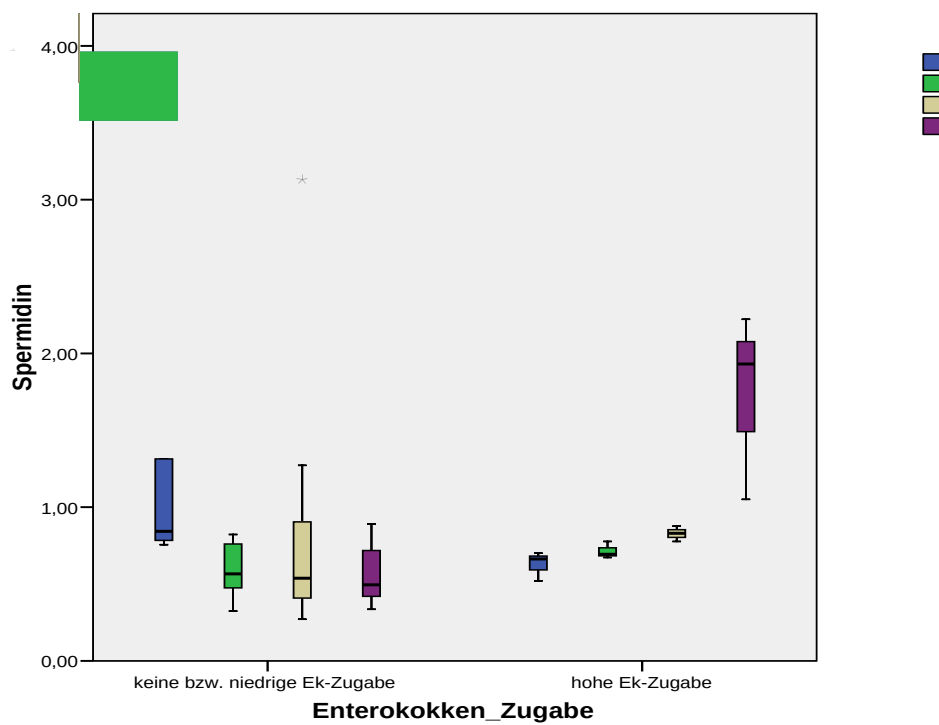


Abbildung 7: Spermidinkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz

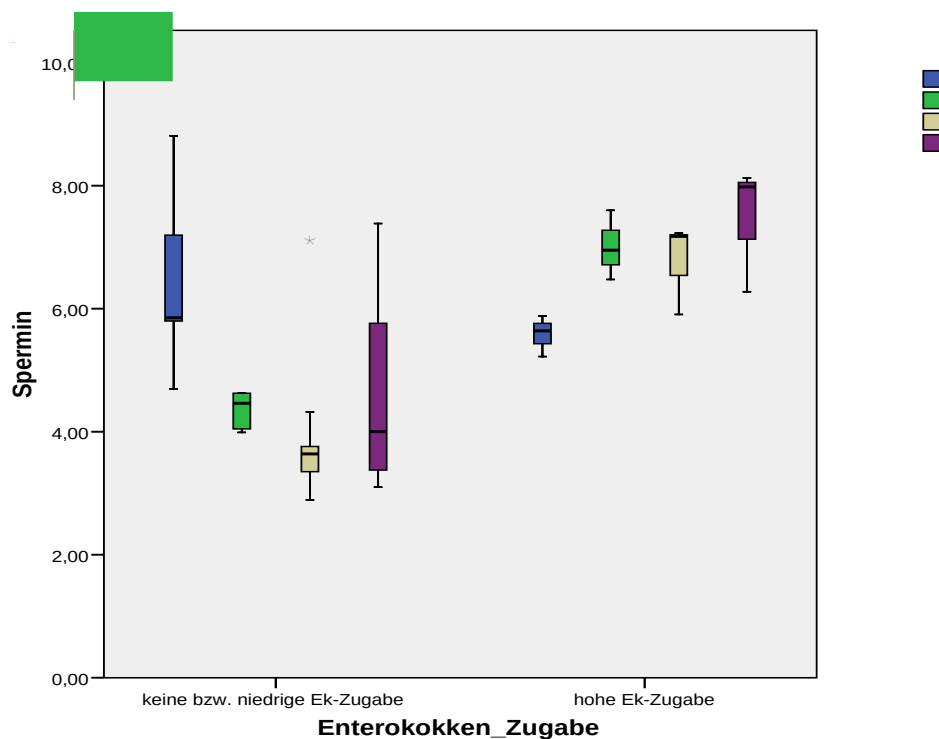


Abbildung 8: Sperminkonzentrationen (mg/kg) in bei 4°C gelagertem Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz

Die Unterschiede bei mit hohem und keinem bzw. niedrigem Zusatz von Enterokokken gelagerten Fleisch sind in Tab. 33 zusammengefasst.

Die Putrescin- und Cadaverin-Konzentration war im Rohmaterial das, sieben Tage gelagert wurde, signifikant höher, wenn ein hoher Gehalt an Enterokokken vor der Lagerung zugesetzt wurde. In Rohmaterial, das drei Tage länger gelagert wurde, konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Der Gehalt an Histamin war im Rohmaterial unabhängig von der Lagerdauer und dem Enterokokken-Zusatz nicht signifikant verschieden.

Wurde Rohmaterial für sieben oder zehn Tage gelagert, so war die Tyramin-Konzentration signifikant höher, wenn vor der Lagerung ein hoher Gehalt an Enterokokken zugegeben wurde.

Der Gehalt an Spermidin war in Rohmaterial, das zehn Tage gelagert wurde, signifikant niedriger, wenn keine oder nur wenige (10^3 kbE/g) Enterokokken zugesetzt wurden.

Die Konzentration an Spermin und war in jedem Rohmaterial unabhängig von der Lagerdauer signifikant unterschiedlich. Dabei war die Konzentration an Spermin im gelagerten Fleisch signifikant höher, wenn zum Rohmaterial vor der Lagerung $\sim 10^6$ Enterokokken /g zugesetzt wurden.

Tabelle 33: Signifikante Unterschiede in den Aminkonzentrationen von mit hohem und keinem bzw. niedrigem Enterokokkenzusatz gelagertem Rohmaterial zur Mettwurstherstellung

Lagerung des Rohmaterials (Tage)	Put.	Cad.	His.	Tyr.	Spd.	Spm.
0	-	-	-	-	*	*
2	-	-	-	-	*	*
7	*	*	-	*	-	*
10	-	-	-	*	*	*

- ... nicht signifikant; * ... $p < 0,05$

4.3.2.2 Enterokokkengehalte und biogene Amine im Endprodukt

In Würsten, die aus Fleisch hergestellt wurden, das mit Enterokokken inokuliert war und zumindest 2 Tage gelagert wurde, waren signifikant höhere Putrescinkonzentrationen nachweisbar (Abb. 9). Die Zugabe von einer hohen Menge an Enterokokken hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Menge an Cadaverin und Histamin im Endprodukt (Abb. 10 bzw. 11).

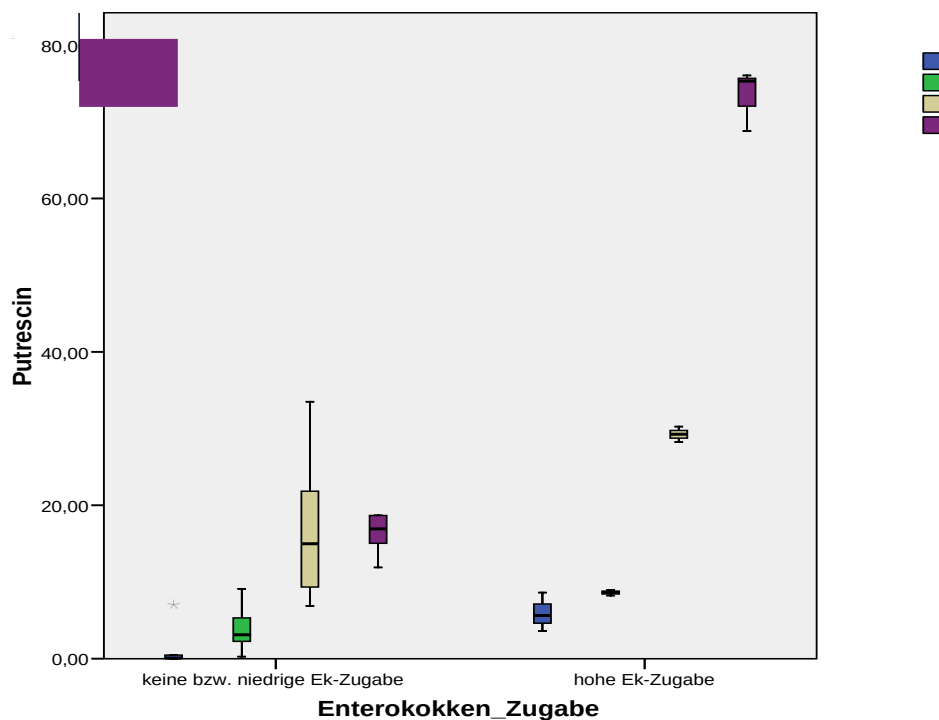


Abbildung 9: Putrescinkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden

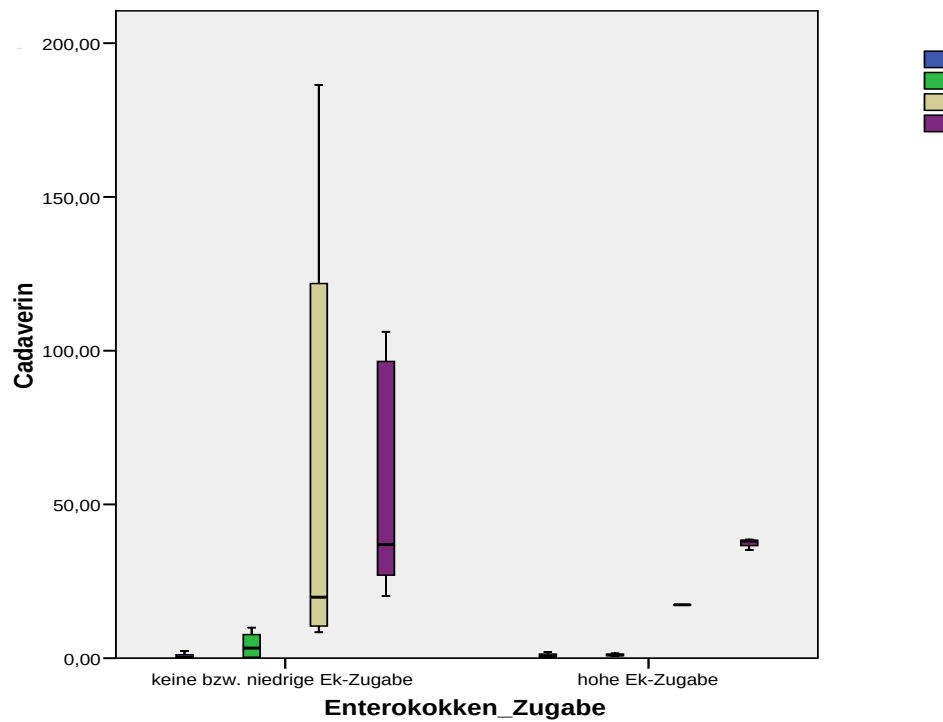


Abbildung 10: Cadaverinkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden

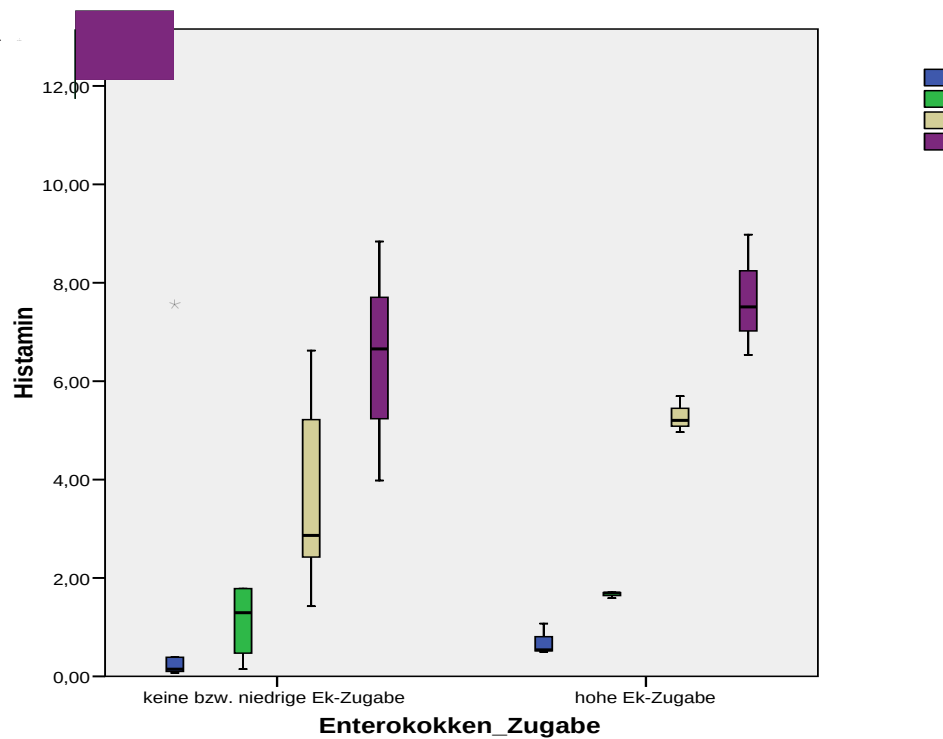


Abbildung 11: Histaminkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden

Eine hohe Zugabe an Enterokokken hatte einen signifikant höheren Tyramingehalt in den Wurstproben zur Folge, deren Rohmaterial nicht bzw. 2 oder 10 Tage gelagert wurde (Abb. 12). Kein signifikanter Einfluss konnte bei den Proben, deren Rohmaterial für 7 Tage gelagert wurde, festgestellt werden.

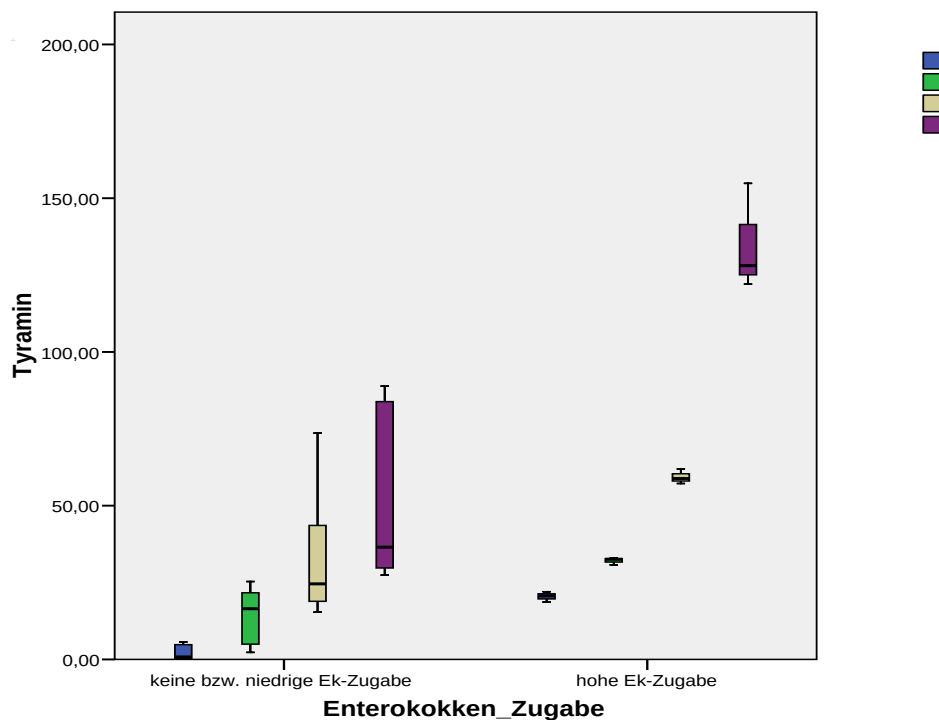


Abbildung 12: Tyraminkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden

Eine hohe Zugabe an Enterokokken hatte einen signifikant höheren Spermidin-Gehalt in den Wurstproben zur Folge, deren Rohmaterial für 2 bzw. 7 Tage gelagert wurde (Abb. 13). Kein signifikanter Einfluss konnte bei den Proben, deren Rohmaterial nicht bzw. für 10 Tage gelagert wurde, festgestellt werden.

Der Gehalt an Spermin war in den Proben, die aus nicht bzw. 2 oder 7 Tage gelagertem Rohmaterial hergestellt wurden, signifikant höher, wenn eine hohe Zugabe an Enterokokken vor der Rohmaterial-Lagerung erfolgte (Abb. 14).

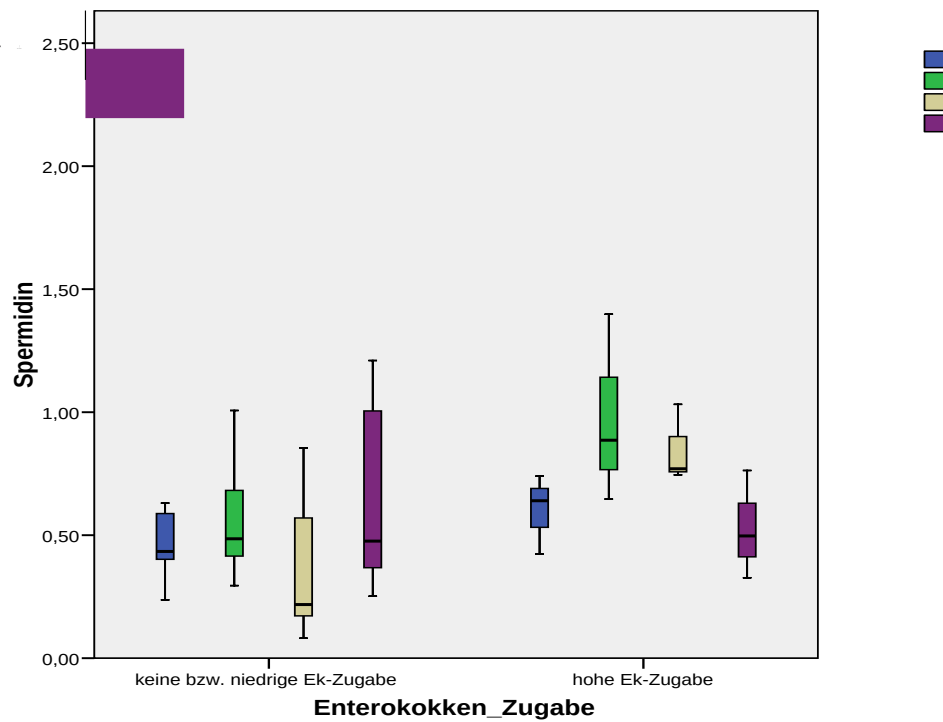


Abbildung 13: Spermidinkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden

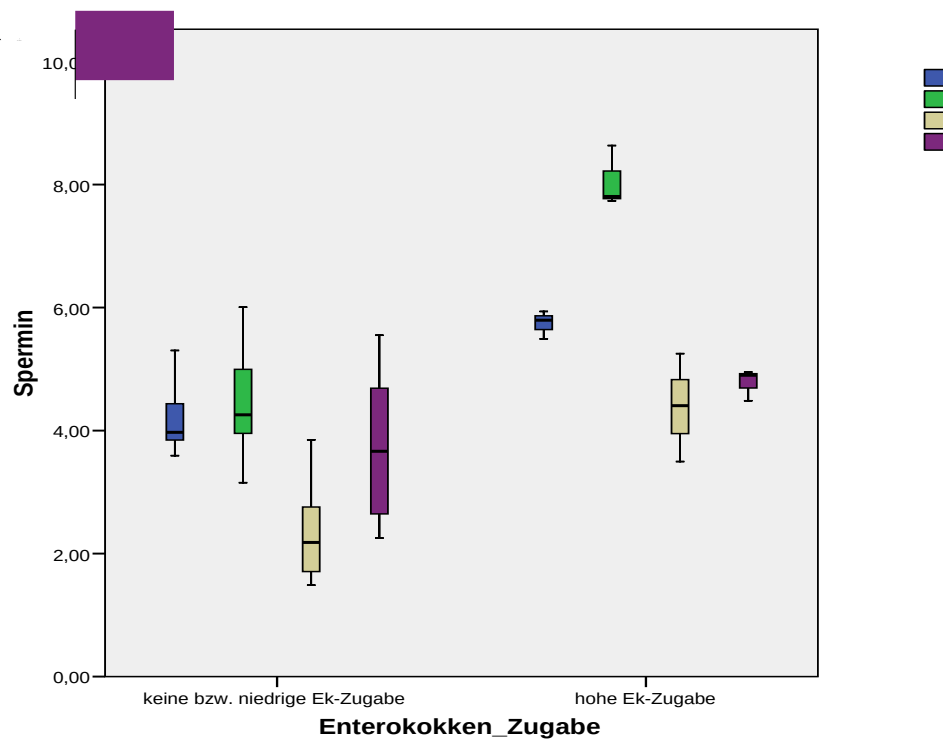


Abbildung 14: Sperminkonzentrationen (mg/kg) in Mettwürsten, die aus Faschiertem mit niedrigem ($\leq 3 \log_{10}$ kbE/g) und hohem ($6 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenzusatz hergestellt wurden

Die Unterschiede in den Aminkonzentrationen von Würsten, die aus mit und ohne Zusatz von Enterokokken gelagerten Fleisch hergestellt wurden, sind in Tab. 34 zusammengefasst.

Wurden die Mettwürste aus gelagertem Fleisch hergestellt, so konnte ein signifikanter Anstieg des Putrescin-Gehalt festgestellt werden, wenn das Rohmaterial mit einer hohen Enterokokken-Zahl inokuliert wurde.

Auf den Gehalt an Cadaverin und Histamin im Endprodukt hatte die Zugabe von Enterokokken keinen signifikanten Einfluss.

Wurden das Rohmaterial vor der Wurstherstellung für zehn Tage gelagert so hatte die hohe Zugabe an Enterokokken einen signifikanten Einfluss auf den Tyramin-Gehalt.

Im Endprodukt konnte ein signifikant höherer Gehalt an Spermidin sowie an Spermin festgestellt werden, wenn das Rohmaterial für zwei oder sieben Tage gelagert wurde und eine hohe Enterokokken-Zugabe zum Rohmaterial erfolgte. Dieser signifikante Unterschied konnte bei Würsten aus zehn Tage gelagertem Rohmaterial nicht festgestellt werden.

Tabelle 34: Signifikante Unterschiede in den Aminkonzentrationen in Mettwürsten, die aus mit und ohne Enterokokkenzusatz gelagertem Rohmaterial hergestellt wurden

Lagerung des Rohmaterials (Tage)	Put.	Cad.	His.	Tyr.	Spd.	Spm.
0	-	-	-	-	-	-
2	*	-	-	-	*	*
7	*	-	-	-	*	*
10	*	-	-	*	-	-

- ... nicht signifikant; * ... $p < 0,05$

5 Diskussion

5.1 Veränderungen des Rohmaterials während der Lagerung

Während der zehntägigen Lagerung des zur Wurstherstellung bestimmten Faschierten erfolgte ein Anstieg der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl um mehr als $2 \log_{10}$ kbE/g (Tab. 7). Dabei kam es zu einer deutlichen Verschiebung der Keimflora von einem Gemisch grampositiver Bakterien (Staphylokokken) und in geringerem Maß gramnegativer Bakterien zu einer Dominanz gramnegativer Keime, insbesondere von *Pseudomonas* sp. (Tab. 11) Erwartungsgemäß vermehrten sich diese Pseudomonaden unter den niedrigen Temperaturen und den aeroben Bedingungen [KOUTSOUMANIS und SOFOS, 2004] am stärksten, und dominierten nach 10 Tagen das Keimspektrum.

Auch bei Enterobacteriaceen war ein signifikanter Anstieg (mehr als $4 \log_{10}$ kbE/g) zu beobachten (Tab. 10). Da es unter den auf Fleisch isolierten Enterobacteriaceen auch zahlreiche psychrotrophe Stämme gibt [RIDELL und KORKEALA, 1997], ist diese starke Vermehrung bei Kühltemperaturen nicht unerwartet.

Bei Milchsäurebakterien war in 2 der 4 Versuche eine Zunahme der Keimzahlen festzustellen (Tab. 8). Das Temperaturoptimum für Milchsäurebakterien liegt zwar bei 30 – 40°C, es gibt aber psychrophile Vertreter [MÜLLER und WEBER, 1996; BAUMGART, 2008a], Ohne Speziesbestimmung der in dem Faschierten nachgewiesenen Milchsäurebakterien ist eine Klärung, warum zwischen den Versuchen so deutliche Unterschiede in der Keimzahl bestanden, schwierig.

Die Staphylokokken- und Enterokokkenkonzentrationen änderten sich kaum (Tab. 9, 12). Die naheliegendste Erklärung ist, dass die minimalen Wachstumstemperaturen von Staphylokokken deutlich über 4°C, nämlich bei 7 °C [BAUMGART et al., 2008] liegen bzw. dass schon bei Temperaturen von 10°C sich nicht mehr alle Enterokokkenspezies vermehren können [BAUMGART, 2008b].

Die Verschiebung der Mikroflora hin zu gramnegativen Keimen hat einerseits Bedeutung für grobsinnlich wahrnehmbaren Verderb, da sowohl *Pseudomas*

sp. und auch Enterobacteriaceen durch ihre proteolytische Aktivität Verderbsprodukte bilden können [MÜLLER und WEBER, 1996]. Dies schließt auch den Abbau von Aminosäuren hin zu biogenen Aminen ein. *Pseudomonas* sp. hat bei aerob gelagertem Fleisch große Bedeutung als Putrescin- und Cadaverinbildner [BEUTLING, 1996; PÖTZELBERGER, 1996]. Bei Enterobacteriaceen ist die Fähigkeit, diese Diamine zu bilden, weit verbreitet [PÖTZELBERGER, 1996; PIRCHER et al., 2007], aber es gibt doch Speziesunterschiede, die im Rahmen der biochemischen Speziesdifferenzierung verwendet werden [HOLT et al., 1994]. Die Histaminbildung durch Enterobacteriaceen ist ebenfalls spezies-spezifisch; hohe, gesundheitlich bedenkliche Histaminkonzentrationen in Fisch werden u.A. durch *Morganella* sp. und *Klebsiella* sp. verursacht [LEHANE und OLLEY, 2000]. In rohem Fleisch scheinen histaminbildende Enterobacteriaceen aber selten vorzukommen [PÖTZELBERGER, 1996; PIRCHER et al., 2007].

Man sollte daher erwarten, dass es - neben der Bildung von Tyramin als allgemeinem Alterungsindikator [BAUER und PAULSEN, 2001] - auch zu einem Anstieg der Putrescin- und Cadaverinkonzentrationen während der Lagerung des Faschierten kommt. Tatsächlich sind die durchschnittlichen Konzentrationen dieser Diamine nach zehntägiger Lagerung aber mit <10 mg/kg (Tab. 13,14) noch in dem Bereich, der für „frisches“ Fleisch zu erwarten wäre [BAUER und PAULSEN, 2001; PAULSEN et al., 2006]. Es ist aber auch bekannt, dass die in Faschiertem bestimmten Keimzahlen nur schwach und nicht signifikant mit den Konzentrationen von Diaminen korrelieren [PAULSEN et al., 2002] und dass bei der Lagerung von Fleisch verderbsrelevante Bakterienkonzentrationen (d.h. 7-8 log₁₀ kbE/g; MÜLLER und WEBER, 1996) nachgewiesen werden, bevor es noch zu einem signifikanten Anstieg der Bildung von Diaminen kommt [BAUER und PAULSEN, 2001]. Andererseits bilden manche Enterobacteriaceen gerade unter aeroben Bedingungen weniger Diamine als unter anaeroben Bedingungen [RUIZ-CAPILLAS und JIMÉNEZ-COLMENERO, 2004].

Die Histaminkonzentrationen änderten sich während der Lagerung nicht signifikant und blieben unter 2 mg/kg (Tab. 15). Dies entspricht den bei frischem

und gelagertem Schweinefleisch erwarteten Werten [BAUER und PAULSEN, 2001; PAULSEN et al., 2006]. Die Spermidinkonzentrationen waren unter 2 mg/kg (Tab. 17) und lagen damit in dem für Schweinefleisch erwarteten Bereich [FUCHS, 2009], während die Sperminkonzentrationen (Tab. 18) erwartungsgemäß höher waren [KALÁC, 2006; KALÁC und KRAUSOVA, 2005]. Die Berechnung des „Biogenic Amine Index“ (BAI, Tab. 19) ergab für das Faschierte vor der Lagerung Werte <5 mg/kg, was für „frisches“ Fleisch spricht; nach zweitägiger Lagerung war der BAI bereits im Bereich 5-20 mg/kg (noch „akzeptabel“ nach HERNÁNDEZ-JOVER et al., 1996a). Nach 7- und 10tägiger Lagerung waren die BAI in Faschiertem, das vor der Lagerung nicht mit Enterokokken inokuliert worden war, deutlich niedriger (Bereich 5-20 mg/kg) als in Faschiertem, das mit ca. 3 bzw. 6 $\log_{10}$ kbE/g *Enterococcus faecalis* inokuliert worden war (20-50 mg/kg). Die naheliegendste Erklärung für diese Differenz muß aber nicht unbedingt die Aktivität des zugesetzten Enterokokkenisolates sein (siehe 5.3); vielmehr könnte auch der Einmischvorgang eine Kontamination mit Fremdorganismen ermöglicht haben.

Insgesamt entsprachen die im Faschierten nachweisbaren Gehalte an biogenen Aminen und auch die Entwicklung der Mikroflora den aus der Literatur zu entnehmenden Angaben.

5.2 Auswirkungen der Lagerung des Rohmaterials auf das Endprodukt

Die Entwicklung des 0 bis 10 Tage bei 4°C gelagerten Faschierten hatte Auswirkungen auf die Mikroflora der aus dem Faschierten hergestellten Würste. Bei der Betrachtung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl (Tab. 20) sind diese aber nicht ersichtlich, da durch die Zugabe der Starterkulturen (ca. 8 $\log_{10}$ kbE/g) die Gesamtkeimzahlen „egalisiert“ wurden. Deutlich wird der Einfluss der Lagerung des Rohmaterials bei der Betrachtung der Enterobacteriaceen und Pseudomonaden. Während die durchschnittlichen Enterobacteriaceen-Keimzahlen in aus 0 bzw. 2 Tage gelagertem Faschiertem bei 2,0 bis 2,6 $\log_{10}$ kbE/g waren, betrugen sie in aus 7 und 10 Tage altem Fleisch hergestellten Mettwürsten 4,8 bis 7,5 $\log_{10}$ kbE/g (Tab. 23). Die geringe Reduktion der

Enterobakteriaceen-Konzentration um eine $\log_{10}$ -Einheit kann auf die, für den Versuch sehr kurz gewählte und für Mettwürste typische, Reifung zurückzuführen [PAULSEN und KELNER, 1994]. Bei längerer Lagerung der Mettwürste könnte ev. eine stärkere Absenkung der Enterobakteriaceen-Konzentration beobachtet werden. Bei *Pseudomonas* sp. war eine ähnliche Entwicklung zu beobachten (Tab. 24). Die Staphylokokkenkonzentrationen in den Mettwürsten entsprechen denen des Rohmaterials, d.h. es kommt auch während der Mettwurstlagerung über 7 Tage zu keiner Vermehrung dieser Bakterien (Tab. 22). Die Lagerungstemperatur mit 18°C liegt zwar schon deutlich über der minimalen Wachstumstemperatur von etwa 7 °C [BAUMGART et al., 2008], Staphylokokken gelten aber als „poor competitors“ in einer gemischten Mikroflora [ICMSF, 1998; MOSSEL et al., 2005]. Die Konzentrationen der Milchsäurebakterien waren mit ca. 6 bis 9 $\log_{10}$ kbE/g (Tab. 21) prinzipiell in dem für Mettwürste erwarteten Bereich [LÜCKE, 1998]. Da in die Laktobazillenkonzentration sich aus den originär im Faschierten als auch aus den in der Starterkultur vorhandenen Laktobazillen zusammensetzen, kann über einen Einfluss der Lagerung des Faschierten auf die Laktobazillenkonzentration der Mettwurst keine Aussage gemacht werden.

Die Gehalte an biogenen Aminen folgten dem oben beschriebenen Muster bei der Lagerung des Faschierten. Mettwürste, die aus 0 bzw. 2 Tage gelagertem Fleisch hergestellt worden waren, wiesen demnach mittlere Putrescin- und Cadaveringehalte <10 mg/kg auf (Tab. 26, 27). Bei aus 7 bzw. 10 Tage gelagertem Fleisch hergestellten Mettwürsten waren die Diaminkonzentrationen (mit einer Ausnahme) deutlich höher. Die Tyraminkonzentrationen in Mettwürsten waren umso höher, je länger das Faschierte vor der Mettwurstherstellung gelagert worden war (Tab. 29). Dies entspricht Angaben aus der Literatur, wonach bei der Verwendung von überlagertem Rohmaterial zur Herstellung von Rohwürsten erhöhte Tyramin- und auch Putrescin- und Cadaverinkonzentrationen zu erwarten sind [BAUER und PAULSEN, 2001; PAULSEN, 1994; PAULSEN und BAUER, 1997]. Dabei muss das Rohmaterial selbst keine erhöhten Konzentrationen an biogenen Aminen aufweisen, sondern es ist vielmehr die durch Proteolyse erfolgte Bereitstellung freier

Aminosäuren, die die Bildung biogener Amine während der Rohwurstreifung begünstigt.

Die Spermin- und Spermidinkonzentrationen (Tab. 30, 31) entsprachen in etwa jenen des Rohmaterials. Die deckt sich mit der allgemeinen Ansicht, dass eine Bildung von Polyaminen in Fleisch und Fleischwaren nicht erfolgt und dass andererseits der mikrobielle Abbau dieser Verbindungen wenig Bedeutung hat [BAUER und PAULSEN, 2001].

5.3 Enterokokken

Enterokokken werden in einer Vielzahl von Lebensmitteln nachgewiesen [GIRAFFA, 1999]. Zumindest in Milchprodukten können die Konzentrationen bis zu $9 \log_{10}$ kbE/g betragen [BRANDL et al., 1985]. Sowohl bei *Enterococcus faecalis* als auch bei *Enterococcus faecium* ist die Fähigkeit, unter in-vitro Bedingungen Tyramin zu bilden, weit verbreitet [ENGESSER et al., 1990; MAIJALA et al., 1993; ÖZOGUL und ÖZOGUL, 2007; PIRCHER et al., 2007].

In keinem der Versuche kam es zu einer signifikanten Änderung der Enterokokkenkonzentration (Tab. 12). In Versuch 1 konnten nur in vereinzelter Proben Enterokokken nachgewiesen werden und die Enterokokken-Konzentration stieg nie über $3 \log_{10}$ kbE. Der Gehalt an Enterokokken in den Versuchen 2 und 3 lag bei 2,9 bis $4,6 \log_{10}$ kbE und zeigte keine deutliche Tendenz über Lager- bzw. Reifungsdauer. Auch in Versuch 4, bei dem die Enterokokken-Konzentration bei 5,4 bis $6,0 \log_{10}$ kbE lag, konnte man kein deutliches Muster erkennen.

Bei der Lagerung von Faschiertem bei 4°C für bis zu 10 Tage waren z.T. signifikante Unterschiede in den Amingehalten nachweisbar (Tab. 33). Faschiertes, das mit etwa $6 \log_{10}$ kbE/g *Enterococcus faecalis* beimpft worden war, wies nach 7 und 10 Tagen Lagerung signifikant höhere Tyraminkonzentrationen auf als ohne oder mit ca. $3 \log_{10}$ kbE/g *Enterococcus faecalis* beimpftes Faschiertes (Abb. 6). Da das zugesetzte Isolat unter experimentellen Bedingungen innerhalb von 48 h bei 30°C freies Tyrosin quantitativ zu Tyramin abbauen konnte, sind die absoluten Werte mit ca. 5 und

15 mg/kg aber vergleichsweise niedrig [PIRCHER et al., 2007]. Im Prinzip kann diese Diskrepanz durch drei Faktoren beeinflusst sein [PAULSEN et al., 2002]: (1) es liegt nur wenig freies Tyrosin vor; (2) die Enterokokkenkonzentration und damit die Enzymmenge ist zu niedrig; (3) es erfolgt neben der Bildung auch gleichzeitig - durch andere Mikroorganismen - ein Abbau von Tyramin.

Bei der Betrachtung der anderen untersuchten biogenen Amine ist zu beachten, dass das verwendete Isolat experimentell kein Putrescin, Cadaverin und Histamin bilden konnte. Hinsichtlich festgestellter signifikanter Unterschiede (Abb. 3-5, 7, 9; Tab. 33) ist zu berücksichtigen, dass hier andere aus dem Rohmaterial stammende Mikroorganismen Amine gebildet oder abgebaut haben könnten. Auch der Versuchsablauf und Inhomogenitäten des Rohmaterials könnten zu einer gewissen Variabilität der Zusammensetzung der Mikroflora und damit der Konzentrationen an biogenen Aminen beigetragen haben.

Mettwürste, die aus mit etwa $6 \log_{10}$ kbE/g *Enterococcus faecalis* beimpften Faschierten hergestellt worden waren, wiesen z.T. signifikant höhere Aminkonzentrationen (Tab. 34) auf als Mettwürste, die aus ohne oder mit ca. $3 \log_{10}$ kbE/g *Enterococcus faecalis* beimpftem Faschiertem hergestellt worden waren. Während die Unterschiede in den Tyraminkonzentrationen (Abb. 12) durch die Tyrosindecarboxylaseaktivität des Enterokokkenisolates erklärbar ist, gelten für andere signifikante Unterschiede (Abb. 9-11, 13, 14) die oben angeführten Überlegungen.

Bei der Beurteilung der Tyraminkonzentrationen ist zu beachten, dass beim Zusatz eines tyraminbildenden *Enterococcus faecalis* in der Größenordnung von $3 \log_{10}$ kbE/g keine signifikant höheren Tyraminkonzentrationen nachgewiesen werden konnten. Dies war nicht nur dann zu beobachten, wenn das Isolat erst bei der Mettwurstherstellung zugesetzt wurde (Versuch 2; s. Tab. 4), sondern auch, wenn das Isolat zum Faschierten zugesetzt wurde, und erst nach bis zu zehntägiger Lagerung die Mettwurstherstellung erfolgte (Versuch 3). In Faschiertem, das mit $6 \log_{10}$ kbE/g des Enterokokkenisolates inokuliert worden war, wurden etwa dreifach höhere

Tyaminkonzentration nachgewiesen, und in den daraus hergestellten Mettwürsten etwa doppelt so hohe Tyaminkonzentrationen (Versuch 4).

5.4 Biogene Amine und Enterokokkenkonzentration als Indikator für die Beschaffenheit des Rohmaterials

Der Einfluss der hygienischen Qualität von Fleisch auf den Gehalt biogenen Aminen konnte in diversen Studien aufgezeigt werden. Dabei wies Fleisch minderer hygienischer Qualität (damit ist Fleisch mit einer hohen Konzentration an Mikroorganismen und/oder unzweckmäßig gelagertes Rohmaterial bei zu hoher Temperatur oder über zu lange Zeit gemeint) höhere Konzentrationen von insbesondere Diaminen und Tyramin auf [EDWARDS et al, 1983; SLEMR, 1981; BAUER und PAULSEN, 2001; VINCI und ANTONELLI, 2002; ROKKA et al., 2004; VILLANUEVA-VALERO et al., 2005].

Bei der Verwendung von solchem minderwertigem Rohmaterial zur Herstellung von Rohwürsten kommt es auch zu einer verstärkten Bildung von biogenen Aminen [PAULSEN, 1994; PAULSEN et al., 1997; EEROLA et al., 1998]. Dies ist nicht nur dann zu beobachten, wenn die Aminkonzentrationen schon im Rohmaterial als hoch einzustufen sind. Es genügt vielmehr, dass während der Lagerung des Rohmaterials durch die proteolytische Aktivität von mikrobiellen Kontaminanten Aminosäuren freigesetzt werden, die dann während der Rohwurstreifung zu biogenen Aminen abgebaut werden können.

Das bedeutet, dass die Konzentrationen insbesondere von Putrescin, weiters Cadaverin sowie Tyramin im fertigen Produkt „Rohwurst“ einen Rückschluss auf die Beschaffenheit des verwendeten Rohmaterials erlauben [BAUER und PAULSEN, 2001]. Dies wird von den Ergebnissen der vorliegenden Studie bestätigt.

Aus der Literatur ist bekannt, dass Enterokokken auf Grund ihrer Beständigkeit gegen Reinigungs- und Desinfektionsmittel ein robuster Indikator für mikrobielle Kontamination sein können [GIRAFFA, 1999].

In der vorliegenden Studie konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass auch die Bestimmung der Enterokokkenkonzentration in der fertigen Rohwurst ein

robuster Indikator für die Beschaffenheit des Rohmaterials sein kann. Da es sowohl während der Lagerung des Rohmaterials als auch während der Rohwurstreifung zu keiner signifikanten Änderung der Enterokokkenkonzentration kam, erlaubt die Enterokokkenkonzentration im Endprodukt einen direkten Rückschluss auf mikrobielle Kontamination während der Fleischgewinnung, -bearbeitung und Wurstherstellung. Bei Enterokokkenkonzentrationen von ca. $6 \log_{10}$ kbE/g waren auch zum Teil signifikant höhere Aminkonzentration nachweisbar (s. Kap. 5.3). Bei Enterokokkenkonzentrationen von maximal $3 \log_{10}$ kbE/g – was nach den Angaben von LONCARIC et al. [in Druck] unter den üblichen Schlacht- und Fleischbearbeitungsbedingungen zu erwarten ist – waren auch keine signifikanten Anstiege der Amingehalte nachweisbar.

Somit kommt sowohl der Bestimmung biogener Amine als auch der Bestimmung der Enterokokkenkonzentration eine Bedeutung bei der Beurteilung gereifter Mettwürste zu. Während erhöhte Konzentrationen an biogenen Aminen auf – insbesondere mit den Lagerungsbedingungen assoziierte - Hygienemängel im Rohmaterial und ggf. auch auf Fehler in der Reifung hinweisen, bedeutet der Nachweis erhöhter ($>3 \log_{10}$ kbE/g) Enterokokkenkonzentrationen, dass es während der Fleischgewinnung oder der Rohwurstherstellung zu einer massiven mikrobiellen Kontamination kam, ohne dass damit eine Aussage über Fehler in der Fleischlagerung (Temperatur, Dauer) getroffen werden kann.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Zusammenhang zwischen der Bildung biogener Amine in Rohwürsten und dem Frischezustand des Rohmaterials aufzuzeigen. Der Rolle der Enterokokken wurde dabei spezielle Beachtung geschenkt. Das verwendete Rohmaterial (Faschiertes) wurde vor der Rohwurstherstellung zwischen 0 und 10 Tagen bei 4°C gelagert, anschließend wurden sie über 7 Tage bei 18°C gereift. Zusätzlich wurden in zwei Versuchen Enterokokken mit einer Konzentration von 10^3 kbE/g Rohmaterial und in einem Versuch mit einer Konzentration von 10^6 kbE/g zugesetzt. Es konnte ein Anstieg der Enterobacteriaceen und Pseudomonaden im Rohmaterial über die Lagerdauer hinweg nachgewiesen werden. Der Gehalt an den Diaminen Putrescin und Cadaverin war in Würsten, deren Rohmaterial 7 oder 10 gelagert worden war, deutlich höher als in Würsten aus frischem Fleisch. Auch der Gehalt an Tyramin spiegelte die Lagerungsdauer des Rohmaterials vor der Wurstherstellung wieder. Da sich der Gehalt an Enterokokken über die Lagerungs- und Reifungsdauer kaum änderte, können Enterokokken als Indikatoren für die mikrobielle Kontamination des Rohmaterials dienen. Die Konzentrationen an Putrescin, Cadaverin sowie Tyramin können Rückschlüsse auf Fehler während der Lagerung und Reifung von Rohwürsten erlauben.

The aim of this study was to find a relationship between the formation of biogenic amines in sausages and the freshness of the raw material. In particular, the significance of enterococci was considered. The raw material was stored between 0 and 10 days at 4°C and the sausages were ripend for 7 days at 18°C. In two of the four trials 10^3 /g enterococci were mixed into the raw material. 10^6 /g enterococci were added into the raw material in the fourth trial. The content of Enterobacteriaceae and Pseudomonas increased with the time of storage. The concentration of putrescine and cadaverine was noticeable higher in sausages which were produced of 7 or 10 day old raw material than in sausages which were made of fresh meat. The longer the meat was stored the

higher was the tyramine content in the finished product. The concentration of enterococci did not increase during the storage and ripening period. On that account enterococci can be used to indicate the microbial situation of the utilised raw material. The concentration of putrescine, cadaverine and tyramine allows a conclusion about deficiencies in storage of meat or during the ripening period.

7 Literaturverzeichnis

- ARLORIO M, COISSON JD, TRAVAGLIA F, CAPASSO M, RINALDI M, MARTELLI A. (2003): Proteolysis and production of biogenic amines in Toma Piemontese PDO cheese during ripening. *Italian Journal of Food Science*, 15(3): 395-404.
- ARNOLD SH, BROWN WD. (1978): Histamine toxicity from fish products. *Advances in Food & Nutrition Research*, 24: 113-154
- AYHAN K, KOLSARICI N, ÖZKAN GA. (1999): The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish soudjoucks. *International Journal of Food Microbiology*, 53: 183– 188.
- BANWART GJ. (1981): *Basic Food Microbiology*. AVI publishing Company Inc., Westport, CN.
- BARDÓCZ S. (1995): Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science & Technology*, 6: 341–346.
- BAUER F, PAULSEN P. (2001): Biogenic Amines in Meat and Meat Products. In: MORGAN DML, MILOVIC V, KRIZEK M, WHITE A. (Hrsg.): *COST 917, Biogenically Active Amines in Food*, Vol. 5, EUR 19882, S. 88-93.
- BAUMGART J, BOCKEMÜHL J, LEHMACHER A. (2008): Nachweis von pathogenen und toxinogenen Mikroorganismen. In: BAUMGART J, BECKER B. (Hrsg.): *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr, Hamburg, Kap. III.3, S. 55.
- BAUMGART J. (2008a): Verberbsorganismen und technologisch erwünschte Mikroorganismen. In: BAUMGART J, BECKER B. (Hrsg.): *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr, Hamburg, Kap. III.1, S. 20g.
- BAUMGART J. (2008b): Markerorganismen. In: BAUMGART J, BECKER B. (Hrsg.): *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr, Hamburg, Kap. III.2, S. 23.
- BEUTLING D. (1996): *Biogene Amine in der Ernährung*, Springer Verlag, Berlin.
- BIBEK R. (2001): *Fundamental Food Microbiology*. 2nd Edition, CRC Press
- BOVER-CID S, HERNANDEZ-JOVER T, MIGUELEZ-ARRIZADO MJ, VIDAL-CAROU MC. (2003): Contribution of contaminant enterobacteria and lactic acid bacteria to

biogenic amine accumulation in spontaneous fermentation of pork sausages. *European Food Research and Technology*, 216(6): 477-482.

BOVER-CID S, HOLZAPFEL WH. (1999): Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 59: 391– 396.

BOVER-CID S, SCHOPPEN S, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (1999): Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausages. *Meat Science*, 51: 305– 311.

BOVER-CID S, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (2000): Influence of hygienic quality of raw material on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausages. *Journal of Food Protection*, 63: 1544– 1550.

BOVER-CID S, HUGAS M, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (2001a): Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66: 185– 189.

BOVER-CID S, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (2001b): Changes in biogenic amines and polyamine contents in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar. *Meat Science*, 57: 215-221.

BOVER-CID S, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (2001c): Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in reduction of biogenic amines accumulation as a function of the raw material quality. *Journal of Food Protection*, 64: 367-373.

BOVER-CID S, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (2001d): Effect of the interaction between a low tyramine-producing *Lactobacillus* and proteolytic staphylococci on biogenic amine production during ripening and storage of dry sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 65: 113– 123.

BOVER-CID S, MIGUÉLEZ-ARRIZADO J, VIDAL-CAROU MC. (2001e): Biogenic amine accumulation in ripened sausages affected by the addition of sodium sulphite. *International Journal of Food Microbiology*, 46: 95– 104.

BRANDL E, ASPERGER H, PFLEGER F, IBEN C. (1985): *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 36(1):18–22.

- BUNCIC S, PAUNOVIC L, RADISIC D, VOJINOVIC G, SMILJANIC D, BALTIC M. (1993): Effects of gluconodeltalactone and *Lactobacillus plantarum* on the production of histamine and tyramine in fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 17: 303–309.
- BUNDESANSTALT FÜR FLEISCHFORSCHUNG KULMBACH. (1990): Sichere Produkte bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. Kulmbacher Reihe Band 10. Eigenverlag der Förderergesellschaft der Bundesanstalt f. Fleischforschung, Kulmbach.
- CANTONI C, BERSANI C, DAMENIS L, COMI G. (1994): Ammine biogene negli insaccati crudi stagionati. *Industria Alimentari*, 23: 1239–1243.
- CHANDER H, BATISH VH, BABU S, SINGH RS. (1989): Factors affecting amine production by a selected strain of *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Food Science*, 54: 940– 942.
- CHOUDHURY N, HANSEN W, ENGESSER D, HAMMES WP, HOLZAPFEL WH. (1990): Formation of histamine and tyramine by lactic acid bacteria in decarboxylase medium. *Letters in Applied Microbiology*, 11: 278– 281.
- COISSON JD, CERUTTI C, TRAVAGLIA F, ARLORIO M. (2004): Production of biogenic amines in 'salamini Italiani alla cacciatora PDO'. *Meat Science*, 67(2): 343-349.
- DAPKEVICIUS MLNE, NOUT MJR, ROMBOUTS FM, HOUBEN JH, WYMENGA W. (2000): Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 57: 107– 114.
- DE LLANO DG, CUESTA P, RODRIGUEZ A. (1998): Biogenic amine production by wild lactococcal and leuconostoc strains. *Letters in Applied Microbiology*, 26: 270–274.
- DURLU-OZKAYA F, AYHAN K, VURAL N. (2001): Biogenic amines produced by Enterobacteriaceae isolated from meat products. *Meat Science*, 58(2): 163-166.
- EDWARDS RA, DAINTY RH, HIBARD CM. (1983): The relationship of bacterial numbers and types to diamine concentration in fresh and aerobically stored beef, pork, and lamb. *Journal of Food Technology*, 18: 777-788.

- EDWARDS RA, DAINTY RH, HIBARD DM. (1985): Putrescine and cadaverine formation in vacuum packed beef. *Journal of Applied Bacteriology*, 58: 13-19.
- EDWARDS RA DAINTY RH, , HIBARD CM, RAMANTANIS SV. (1987): Amines in fresh beef of normal pH and the role of bacteria in changes in concentration observed during storage in vacuum packs at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 63: 427-434.
- EEROLA S, MAIJALA R, ROIG-SAGUÉS AX, SALMINEN M, HIRVI T. (1996): Biogenic amines in dry sausages as affected by starter culture and contaminant amine-positive *Lactobacillus*. *Journal of Food Science*, 61: 1243-1246.
- EEROLA HS, ROIG-SAGUES, AX, HIRVI TK. (1998): Biogenic amines in Finnish dry sausages. *Journal of Food Safety*, 18(2): 127-138.
- EITENMILLER RR, KOEHLER PE, REGAN PE. (1978): Tyramine in fermented sausages: factors affecting formation of tyrosine and tyrosine decarboxylase. *Journal of Food Science*, 43: 689– 693.
- ENGESSER D, HAMMES WP, HOLZAPFEL WH. (1990): Production of biogenic amines in semisynthetic media by lactic acid bacteria. *Food Biotechnology*, 4(1): 478–482.
- FISCHER A. (1988): Rohwurst. In: PRÄNDL O, FISCHER A et al. (Hrsg.): *Fleisch - Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 518-549.
- FUCHS T. (2009): Gehalte von biogenen Aminen und Polyaminen in Schlachtnebenprodukten von Hausschweinen. Diss., Vet.Med.Univ. Wien.
- GALE EF. (1946): The bacterial amino acid decarboxylase. *Advances in Enzymology*, 6: 1 –32.
- GENNARO MC, GIANOTTI V, MARENGO E, PATTONO D, TURI RM. (2003): A chemometric investigation of the effect of the cheese-making process on contents of biogenic amines in a semi-hard Italian cheese (Toma). *Food Chemistry*, 82(4): 545-551.
- GIRAFFA G. (1999): Enterococcus. In: ROBINSON RK, BATT CA, PATEL PD. (Hrsg.): *Encyclopedia of food microbiology*. Academic Press, San Diego, 617-624.

- GUERRERO-LEGARRETA I, CHAVEZ-GALLARDO AM. (1991): Detection of biogenic amines as meat spoilage indicators. *Journal of Muscle Foods*, 2: 263-278.
- HALÁSZ A, BARÁTH A, SIMON-SARKADI L, HOLZAPFEL W. (1994): Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Science & Technology*, 5: 42-49.
- HAMMES WP, HERTEL C. (1996): Selection and improvement of lactic acid bacteria used in meat and sausage fermentation. *Lait*, 76: 159– 168.
- HECHELMANN H. (1986): Mikrobiell verursachte Fehlfabrikate bei Rohwurst und Rohschinken. *Fleischwirtschaft*, 66 (4): 515-528.
- HENRY CHIN KD, KOEHLER PE. (1986): Effects of salt concentration and incubation temperature on formation of histamine, phenethylamine, tryptamine and tyramine during miso fermentation. *Journal of Food Protection*, 49: 423–427.
- HERNÁNDEZ-JOVER T, IZQUIERDO-PULIDO M, VECINANA-NOGUES MT, VIDAL-CAROU MC. (1996a): Biogenic amine sources in cooked cured shoulder pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 3097 – 3101.
- HERNANDEZ-JOVER T, IZQUIERDO-PULIDO M, VECIANA-NOGUÉS MT, VIDAL-CAROU MC. (1996b): Ion pair liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 2710– 2715.
- HERNANDEZ-JOVER T, IZQUIERDO-PULIDO M, VECIANA-NOGUÉS MT, MARINÉ-FONT A, VIDAL-CAROU MC. (1997a): Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2098– 2102.
- HERNÁNDEZ-JOVER T, IZQUIERDO-PULIDO M, VECIANA-NOGUES MT, MARINÉ-FONT A, VIDAL-CAROU MC. (1997b): Effect of starter cultures on biogenic amine formation during fermented sausage production. *Journal of Food Protection*, 60: 825-830.
- HOLT JG, KRIEG NR, SNEATH PH, STALEY JT, WILLIAMS ST. (1994): *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, S. 175-189.

- HYOUNGILL L, SHIN-HEE K, CHENG-I W, SANG H J, JONG-BANG E, HAEJUNG A. (2005): Histamine and Other Biogenic Amines and Bacterial Isolation in Retail Canned Anchovies. *Journal of Food Science*, 70(2): C145-C150.
- ICMSF (1998): *Microorganisms in foods*, Vol 6, Blackie Academic & Professional, London.
- INCZE K. (2007): European Products. In: TOLDRÁ K. (Hrsg.): *Handbook of fermented meat and poultry*. 1st Edition, Blackwell Publishing, Oxford, 307-318.
- INNOCENTE N, D'AGOSTIN P, CORRADINI C. (2001): Presence of biogenic amines in cheese produced in the mountains. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 52(5): 325-332.
- JARISCH R. (2004): *Histamin-Intoleranz, Histamin und Seekrankheit*. 2. Aufl., Thieme, Stuttgart.
- JOON-SEOK-MIN, SANG-OK-LEE, AERA-JANG, MOOHA-LEE, YANGHA-KIM. (2004): Production of biogenic amines by microflora inoculated in meats. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(10): 1472-1478.
- KALÁC P, KRAUSOVA P. (2005): A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90: 219-230.
- KALÁC P. (2006): Biologically active polyamines in beef, pork and meat products: A review. *Meat Science*, 73: 1-11.
- KANIOU I, SAMOURIS G, MOURATIDOU T, ELEFThERiADOU A, ZANTOPOULOS N. (2001): Determination of biogenic amines in fresh unpacked and vacuum-packed beef during storage at 4°C. *Food Chemistry*, 74: 515–519.
- KEBARY KMK, EL-SONBATY AH, BADAWI RM. (1999): Effects of heating milk and accelerating ripening of low fat ras cheese on biogenic amines and free amino acids development. *Food Chemistry*, 64: 67-75.
- KOUTSOUMANIS K, SOFOS JN. (2004): Microbial contamination. In: JENSEN WK, DEVINE C, DIKEMAN M. (Hrsg.): *Encyclopedia of Meat Science*, Vol. 2, Elsevier, 727-737

- KRÄMER J. (2002a): Tierische Lebensmittel: Wurstwaren. In: Lebensmittelmikrobiologie. 4. Auflage, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 296-303.
- KRÄMER J. (2002b): Haltbarmachung von Lebensmitteln: Kombinierte Verfahren. In: Lebensmittelmikrobiologie. 4. Auflage, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 192,193.
- KUNZ B. (1988a): Grundriss der Lebensmittel-Mikrobiologie. Behr's Verlag, Hamburg, 221-222.
- KUNZ B. (1988b): Grundriss der Lebensmittel-Mikrobiologie. Behr's Verlag, Hamburg, S. 229-230.
- LAKRITZ L, SPINELLI AM, WASSERMAN AE. (1975): Determination of amines in fresh and processed pork. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 23: 344-346.
- LATORRE-MORATALLA ML,, VECIANA-NOGUÉS T, BOVER-CID S, GARRIGA M, AYMERICH T, ZANARDI E, IANIERI A, FRAQUEZA MJ, PATARATA L, DROSINOS EH, LAUKOVÁ A, TALON R, VIDAL-CAROU MC. (2008): Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. Food Chemistry, 107: 912–921.
- LEHANE L, OLLEY J. (2000): Histamine fish poisoning revisited. International Journal of Food Microbiology, 58: 1-37.
- LEISTNER L. (1986): Hürden-Technologie für die Herstellung stabiler Fleisch-erzeugnisse. Fleischwirtschaft, 66: 10-15.
- LEISTNER L. (1994): Food design by hurdle technology and HACCP. Eigenverlag Adalbert Raps Foundation, Kulmbach.
- LEISTNER L, GORRIS, LGM. (Hrsg.) (1994): Food preservation by combined processes -EUR15776. European Commission Eigenverlag, NL, ISBN 90-900-7303-5
- LEITSÄTZE FÜR FLEISCH UND FLEISCHERZEUGNISSE (2008): Pkt. 2.21: http://www.bmelv.de/cln_044/nn_854172/SharedDocs/downloads/02-Verbraucherschutz/Lebensmittelsicherheit/LeitsaetzeGesc-OrdnungLebensmittelbuch/LeitsaetzeFleisch,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/LeitsaetzeFleisch.pdf. Letzter Aufruf: 22.12.2008

- LONCARIC, D, PAULSEN, P, TICHY, A., SMULDERS, FJM, UPMANN, M.: The microbiological effects of poor slaughter and processing hygiene in mutton production as determined by various marker organisms. Wien. Tierärztl. Mschr., in Druck.
- LÜCKE FK. (1998): Fermented Sausages. In: WOOD JB. (Hrsg.): Microbiology of Fermented Foods. 2nd ed., Vol.2, Blackie Academic & Professional, Glasgow, 441-483.
- MAIJALA R, EEROLA S, AHO MA, HIRN JA. (1993): The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. Journal of Food Protection, 50: 125–129.
- MAIJALA R. (1993): Formation of histamine and tyramine by some lactic acid bacteria in MRS-broth and modified decarboxylation agar. Letters in Applied Microbiology, 17: 40–43.
- MAIJALA R. (1994): Histamine and tyramine production by a Lactobacillus strain subjected to external pH decrease. Journal of Food Protection, 57: 259–262.
- MAIJALA R, EEROLA S, LIEVONEN S, HILL P, HIRVI T. (1995): Formation of biogenic amines during ripening of dry sausages as affected by starter culture and thawing time of raw materials. Journal of Food Science, 60: 1187-1190.
- MAIJALA R, NURMI E. (1995): Influence of processing temperature on the formation of biogenic amines in dry sausages. Meat Science, 39: 9-22.
- MASSON F, TALON R, MONTEL MC. (1996): Histamine and tyramine production by bacterial from meat products. Journal of Food Microbiology, 32: 199-207.
- MASSON F, JOHANSSON G, MONTEL MC. (1999): Tyramine production by a strain of *Carnobacterium divergens* inoculated in meat-fat mixture. Meat Science, 52: 65– 69.
- MONTEL MC, MASSON F, TALON R. (1999): Comparison of biogenic amine content in traditional and industrial French dry sausages. Sciences des Aliments, 19: 247– 254.
- MOSSEL DAA, CORRY JEL, STRUIJK CB. (2005): Essentials of the Microbiology of Foods. A Textbook for Adavanced Studies, J. Wiley & Sons, Chicester.
- MÜLLER G, WEBER H. (1996): Mikrobiologie der Lebensmittel, 8. Auflage. Behr, Hamburg, S. 44, 60

- NOVELLA-RODRIGUEZ S, VECIANA-NOGUES MT, IZQUIERDO-PULIDO M, VIDAL-CAROU MC. (2003): Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *Journal of Food Science*, 68(3): 750-755.
- NOVELLA-RODRIGUEZ S, VECIANA-NOGUES MT, ROIG-SAGUES AX, TRUJILLO-MESA AJ, VIDAL-CAROU MC. (2004a): Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *Journal of Dairy Research*, 71(2): 245-252.
- NOVELLA-RODRIGUEZ S, VECIANA-NOGUES MT, ROIG-SAGUES AX, TRUJILLO-MESA AJ, VIDAL-CAROU MC. (2004b): Comparison of biogenic amine profile in cheeses manufactured from fresh and stored (4°C, 48 hours) raw goat's milk. *Journal of Food Protection*, 67(1): 110-116.
- ORDOÑEZ JA, DE PABLO B, PEREZ DE CASTRO B, ASENSIO MA, SANZ, B. (1991): Select chemical and micobiological changes in refrigerated pork stored in carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39: 668-672.
- ÖSTERREICHISCHES LEBENSMITTELBUCH (ÖLMB), IV. Auflage (2007): Kap.14: Fleisch und Fleischerzeugnisse – B 4.5; http://www.bmgfj.gv.at/cms/site/attachments/4/9/6/CH0832/CMS1167207128242/b_14.pdf. Letzter Aufruf: 22.12.2008
- ÖZOGUL F, ÖZOGUL Y. (2007): The ability of biogenic amines and ammonia production by single bacterial cultures. *European Food Research and Technology*, 225(3-4): 385 – 394.
- PARENTE E, MARTUSCELLI M, GARDINI F, GRIECO S, CRUDELE MA, SUZZI G. (2001): Evolution of microbial populations and biogenic amine production in dry sausages produced in Southern Italy. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 882– 891.
- PAULSEN, P. (1994): Zur Bildung von biogenen Aminen in Rohwürsten. Diss., Vet.Med. Univ. Wien.
- PAULSEN P, KELNER A. (1994): Die Bildung biogener Amine in Rohwürsten in Abhängigkeit vom mikrobiologischen Status des Ausgangsmaterials. 24. Jahrestagg. der ÖGHMP, Salzburg.

- PAULSEN P, BAUER F. (1997): Biogene Amine in Rohwürsten. II. Einflußfaktoren für die Bildung von biogenen Aminen in Rohwürsten. *Fleischwirtschaft*, 77: H.4, 362-364.
- PAULSEN P, BAUER F, VALI S. (1997): Biogenic amines in fermented sausage. 1. Methods for the determination of biogenic amines. *Fleischwirtschaft*, 77: 450-452.
- PAULSEN P, DICKAKOVA Z, MATE D, BAUER F. (2002): Studies on the relation of the microflora and biogenic amines content of minced meat and fermented sausage - short communication. *Ernaehrung/nutrition*, 26(4): 156-159.
- PAULSEN P, HAGEN U, BAUER F. (2006): Changes in biogenic amine contents, non-protein nitrogen and crude protein during curing and thermal processing of *M. longissimus*, pars lumborum of pork. *European Food Research and Technology*, 223: 603–608.
- PEREIRA CI, BARRETO CRESPO MT, SAN ROMAÑO MV. (2001): Evidence for proteolytic activity and biogenic amines production in *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus homohiochii*. *International Journal of Food Microbiology*, 68: 211 –216.
- PIRCHER A, BAUER F, PAULSEN P. (2007): Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses. *European Food Research and Technology*, 226: 225-231.
- PÖTZELBERGER DE. (1996): Die Bildung biogener Amine während Lagerung und Verderb von verpacktem Frischfleisch. Diss., Vet.Med. Univ. Wien.
- PÖTZELBERGER DE, PAULSEN P, HELLWIG E, BAUER F. (1997): Investigations on shelf life and shelf life assessment of raw meat. Formation of biogenic amines and microbiological changes during storage. *Fleischwirtschaft*, 77(12): 1086-1089.
- RIDELL J, KORKEALA H. (1997): Minimum growth temperature of *Hafnia alvei* and other Enterobacteriaceae isolated from refrigerated meat determined with a temperature gradient incubator. *International Journal of Food Microbiology*, 35: 287-292

- ROIG-SAGUÉS AX, EEROLA S. (1997): Biogenic amine in meat inoculated with *Lactobacillus sakei* starter strains and an aminepositive lactic acid bacterium. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung, 205: 227–231.
- ROKKA M, EEROLA S, SMOLANDER M, ALAKOMI HL, AHVENAINEN R. (2004): Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions. Biogenic amines as quality-indicating metabolites. Food Control, 15(8): 601-607.
- RUIZ-CAPILLAS C, MORAL A. (2001): Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius meluccius*, L.) stored in ice. Journal of Food Science, 66: 1030-1032.
- RUIZ-CAPILLAS C, JIMÉNEZ-COLMENERO F. (2004): Biogenic amines in meat and meat products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44: 489–499.
- SANTOS-BUELGA C, PENÁ-EGIDO MJ, RIVAS-GONZALO JC. (1986): Changes in tyramine during Chorizo-sausages ripening. Journal of Food Science, 51: 518– 527.
- ŞENÖZ B, IŞIKLI N, COKSÖYLER N. (2000): Biogenic amines in Turkish sausages (Sucucks). Journal of Food Science, 65: 764– 767.
- SILLA SANTOS MH. (1998): Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in Spanish fermented meat products. International Journal Food Microbiology, 39: 227– 230.
- SLEMR T. (1981): Biogene Amine als potentieller chemischer Qualitätsindikator für Fleisch. Fleischwirtschaft, 61: 921-924.
- SLEMR J, BEYERMANN K. (1985): Concentration profiles of diamines in fresh aerobically stored pork and beef. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 33: 336-339.
- SLOMKOWSKA A, AMBROZIAK W. (2002): Biogenic amine profile of the most popular Polish beers. European Food Research and Technology, 215(5): 380-383.
- SMITH TA. (1980): Amines in food. Food Chemistry, 6: 169 – 200.

- STRAUB BW, KICHERER M, SCHILCHER SM, HAMMES WP. (1995): The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung*, 201: 79– 82.
- SUZZI G, GARDINI F. (2003): Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 41– 54.
- TEN BRINK B, DAMINIK C, JOOSTEN HMLJ, HUIS IN'T VELD JHJ. (1990): Occurrence and formation of biologically active amines in food. *International Journal of Food Microbiology*, 11: 73-84.
- TREVIÑO E, BEIL D, STEINHART H. (1997): Formation of bioorganic amines during the maturity process of raw meat products, for example of cervelat sausages. *Food Chemistry*, 60: 521–526.
- VILLANUEVA-VALERO B, BAUER F, SMULDERS FJM, ARINO A, HAGEN U, PAULSEN P. (2005): Biogenic amines and polyamines and total aerobic count during storage of vacuum-packaged porcine kidney, liver and spleen. *Food Science and Technology International*, 11(5): 337-344.
- VINCI G, ANTONELLI ML. (2002): Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat. *Food Control*, 13(8): 519-524.
- WEBER H. (2004): *Mikrobiologie der Lebensmittel, Fleisch, Fisch, Feinkost*. Behr's Verlag, Hamburg, S. 348 bis 349.
- WIGLEY RC. (1999): Starter Cultures: Uses in the Food Industry. In: ROBINSON, R.K., BATT, et al. (Hrsg.): *Encyclopedia of Food Microbiology*. Vol.3, Academic Press, London, S. 2084-2095.
- WILKE K. (1992): Wurstwaren. In: FEHLHABER, K., JANETSCHKE, P.(Hrsg.): *Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene*. Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 302-328.
- WORTBERG B, WOLLER R. (1982): Quality and freshness of meat and meat products as related to their content of biogenic amines. *Fleischwirtschaft*, 62: 1457-1463.
- YOSHINAGA DH, FRANK HA. (1982): Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Applied and Environmental Microbiology*, 44: 447– 452.

8 Anhang:

8.1 Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in mit Starterkultur hergestellter Mettwurst („V1“)

8.1.1 Mikroflora

Tabelle 35: Gesamtkeimzahl in Versuch 1

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,8	9,4	9,3
	Tag 0	2	6,8	9,1	9,1
	Tag 0	3	6,7	9,1	9,3
	Tag 2	1	7,0	9,0	9,1
	Tag 2	2	7,3	9,0	9,0
	Tag 2	3	7,1	8,9	9,1
	Tag 7	1	9,7	9,4	8,8
	Tag 7	2	9,6	9,6	8,5
	Tag 7	3	9,6	9,5	8,8
	Tag 10	1	9,5	9,2	8,7
	Tag 10	2	9,5	9,1	8,5
	Tag 10	3	9,5	9,1	8,6

Tabelle 36: Laktobazillen in Versuch 1

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,8	9,3	9,1
	Tag 0	2	6,7	9,0	8,7
	Tag 0	3	6,6	9,1	9,2
	Tag 2	1	6,8	8,9	8,8
	Tag 2	2	6,8	9,0	8,7
	Tag 2	3	6,8	8,9	8,6
	Tag 7	1	7,9	7,4	8,4
	Tag 7	2	8,0	7,7	8,3
	Tag 7	3	7,9	7,6	8,2
	Tag 10	1	7,9	8,3	8,1
	Tag 10	2	7,9	8,3	7,7
	Tag 10	3	8,1	8,3	8,2

Tabelle 37: Staphylokokken in Versuch 1

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,7	6,6	6,3
	Tag 0	2	6,5	6,4	6,3
	Tag 0	3	6,6	6,1	5,8
	Tag 2	1	6,8	6,0	5,9
	Tag 2	2	6,6	6,3	6,4
	Tag 2	3	6,4	6,3	6,2
	Tag 7	1	6,7	6,6	6,8
	Tag 7	2	6,7	6,7	6,7
	Tag 7	3	6,7	6,6	6,7
	Tag 10	1	6,6	6,6	6,6
	Tag 10	2	6,5	6,7	6,6
	Tag 10	3	6,6	6,9	6,6

Tabelle 38: Enterobacteriaceen in Versuch 1

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	3,9	3,0	2,8
	Tag 0	2	3,7	2,6	2,6
	Tag 0	3	3,7	2,8	2,5
	Tag 2	1	4,2	2,0	2,0
	Tag 2	2	4,5	2,0	2,6
	Tag 2	3	4,5	2,8	2,0
	Tag 7	1	< 6,5	6,4	7,5
	Tag 7	2	< 6,5	6,4	7,4
	Tag 7	3	< 6,5	6,7	7,3
	Tag 10	1	8,4	8,7	7,4
	Tag 10	2	8,7	7,8	7,5
	Tag 10	3	8,5	7,9	7,4

Tabelle 39: Pseudomonaden in Versuch 1

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	4,5	3,7	2,7
	Tag 0	2	4,4	3,4	2,8
	Tag 0	3	4,4	3,4	2,7
	Tag 2	1	5,8	2,3	4,4
	Tag 2	2	5,9	3,3	4,5
	Tag 2	3	5,7	3,4	4,9
	Tag 7	1	< 8,5	9,4	8,7
	Tag 7	2	< 8,5	9,5	8,6
	Tag 7	3	< 8,5	9,4	8,7
	Tag 10	1	9,3	8,5	8,6
	Tag 10	2	9,3	8,5	8,6
	Tag 10	3	9,4	8,6	8,5

Tabelle 40: Enterokokken in Versuch 1

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	< 2,0	2,7	< 2,0
	Tag 0	2	2,0	2,7	< 2,0
	Tag 0	3	< 2,0	< 2,0	< 2,0
	Tag 2	1	2,3	< 2,0	< 2,0
	Tag 2	2	2,7	< 2,0	< 2,0
	Tag 2	3	2,8	< 2,0	< 2,0
	Tag 7	1	< 2,0	< 2,0	< 2,0
	Tag 7	2	< 2,0	< 2,0	< 2,0
	Tag 7	3	< 2,0	< 2,0	< 2,0
	Tag 10	1	< 2,0	< 2,0	< 2,0
	Tag 10	2	< 2,0	2,0	< 2,0
	Tag 10	3	< 2,0	2,3	< 2,0

8.1.2 Biogene Amine

Tabelle 41: Putrescin in Versuch 1

	Put	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,73	3,63	7,01
	Tag 0	2	0,70	3,16	0,48
	Tag 0	3	3,97	3,28	6,75
	Tag 2	1	19,30	1,86	3,12
	Tag 2	2	3,64	2,09	5,46
	Tag 2	3	3,88	3,59	3,12
	Tag 7	1	2,98	14,15	33,51
	Tag 7	2	2,70	12,20	21,84
	Tag 7	3	5,08	12,73	22,27
	Tag 10	1	6,31	15,42	14,40
	Tag 10	2	4,15	14,34	16,93
	Tag 10	3	3,90	15,98	17,96

Tabelle 42: Cadaverin in Versuch 1

	Cad	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	1,08	1,63	2,09
	Tag 0	2	0,90	1,74	1,14
	Tag 0	3	5,24	0,64	2,37
	Tag 2	1	1,91	0,16	0,13
	Tag 2	2	0,06	0,35	3,30
	Tag 2	3	1,24	2,30	3,49
	Tag 7	1	1,63	61,00	186,44
	Tag 7	2	1,46	56,59	132,76
	Tag 7	3	1,40	59,25	121,84
	Tag 10	1	7,56	51,22	106,18
	Tag 10	2	4,68	50,70	96,50
	Tag 10	3	4,58	56,94	101,75

Tabelle 43: Histamin in Versuch 1

	His	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,17	0,50	0,15
	Tag 0	2	0,40	1,21	0,15
	Tag 0	3	0,83	0,35	0,07
	Tag 2	1	1,68	0,24	0,15
	Tag 2	2	1,63	0,34	1,46
	Tag 2	3	2,69	1,68	1,78
	Tag 7	1	0,23	1,08	2,43
	Tag 7	2	0,10	0,83	1,74
	Tag 7	3	1,98	0,66	1,43
	Tag 10	1	1,27	0,88	7,71
	Tag 10	2	0,50	2,01	6,38
	Tag 10	3	0,39	1,57	6,66

Tabelle 44: Tyramin in Versuch 1

	Tyr	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,84	0,94	5,04
	Tag 0	2	0,12	1,42	4,80
	Tag 0	3	0,18	2,20	5,68
	Tag 2	1	0,48	7,49	16,42
	Tag 2	2	1,66	6,07	19,17
	Tag 2	3	0,66	9,61	21,68
	Tag 7	1	2,12	29,98	73,61
	Tag 7	2	1,46	28,53	53,55
	Tag 7	3	2,54	27,86	43,58
	Tag 10	1	7,41	30,78	88,88
	Tag 10	2	4,18	29,13	83,85
	Tag 10	3	3,62	32,83	85,66

Tabelle 45: Spermidin in Versuch 1

	Spd	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	1,31	1,04	0,61
	Tag 0	2	0,97	0,95	0,59
	Tag 0	3	0,78	2,21	0,63
	Tag 2	1	0,82	0,65	0,49
	Tag 2	2	1,27	0,63	0,44
	Tag 2	3	0,76	2,08	0,49
	Tag 7	1	0,90	0,87	0,86
	Tag 7	2	0,75	1,27	0,71
	Tag 7	3	1,27	0,94	0,57
	Tag 10	1	0,50	0,64	2,34
	Tag 10	2	0,89	0,43	0,88
	Tag 10	3	0,72	0,52	1,21

Tabelle 46: Spermin in Versuch 1

	Spm	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,98	11,63	5,23
	Tag 0	2	8,81	7,15	3,97
	Tag 0	3	4,69	8,10	5,30
	Tag 2	1	4,45	4,75	4,36
	Tag 2	2	4,55	4,27	4,20
	Tag 2	3	5,97	5,63	4,26
	Tag 7	1	3,76	3,45	3,85
	Tag 7	2	3,54	3,96	2,88
	Tag 7	3	4,32	3,00	2,46
	Tag 10	1	4,25	4,49	9,44
	Tag 10	2	3,45	3,36	3,68
	Tag 10	3	5,76	3,77	5,55

8.2 Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in mit Starterkulturen und gleichzeitigem Zusatz von *Enterococcus faecalis* hergestellten Mettwürsten („V2“)

8.2.1 Mikroflora

Tabelle 47: Gesamtkeimzahl in Versuch 2

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	7,0	9,2	9,3
	Tag 0	2	7,0	9,2	9,2
	Tag 0	3	6,9	9,0	9,2
	Tag 2	1	6,7	9,3	9,2
	Tag 2	2	6,9	9,2	9,3
	Tag 2	3	7,0	9,1	9,2
	Tag 7	1	9,4	8,9	8,7
	Tag 7	2	8,9	9,1	8,6
	Tag 7	3	9,1	8,9	8,5
	Tag 10	1	9,2	8,9	8,8
	Tag 10	2	9,6	8,8	8,7
	Tag 10	3	9,5	8,7	8,7

Tabelle 48: Laktobazillen in Versuch 2

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,7	9,0	9,0
	Tag 0	2	6,7	9,2	8,4
	Tag 0	3	6,7	8,9	8,9
	Tag 2	1	6,5	9,2	9,0
	Tag 2	2	6,8	9,1	8,9
	Tag 2	3	6,6	8,9	9,0
	Tag 7	1	6,6	8,4	8,4
	Tag 7	2	6,7	8,6	8,0
	Tag 7	3	6,7	8,4	8,1
	Tag 10	1	6,9	8,1	8,7
	Tag 10	2	7,1	8,0	8,5
	Tag 10	3	7,0	7,5	8,7

Tabelle 49: Staphylokokken in Versuch 2

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,6	6,6	6,2
	Tag 0	2	6,8	6,5	6,5
	Tag 0	3	6,5	6,5	6,3
	Tag 2	1	6,8	6,7	6,2
	Tag 2	2	6,7	6,4	6,2
	Tag 2	3	6,5	6,1	6,2
	Tag 7	1	6,7	6,6	6,6
	Tag 7	2	6,6	6,7	6,7
	Tag 7	3	6,7	6,7	6,5
	Tag 10	1	6,6	6,4	6,7
	Tag 10	2	6,6	6,5	6,5
	Tag 10	3	6,6	6,5	6,5

Tabelle 50: Enterobacteriaceen in Versuch 2

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	3,1	2,5	2,3
	Tag 0	2	3,3	2,0	2,0
	Tag 0	3	3,1	2,3	2,0
	Tag 2	1	3,1	2,0	2,0
	Tag 2	2	3,4	2,0	2,0
	Tag 2	3	3,4	2,0	2,0
	Tag 7	1	7,1	6,1	5,9
	Tag 7	2	7,0	6,2	5,9
	Tag 7	3	7,2	6,0	5,9
	Tag 10	1	7,3	6,8	7,1
	Tag 10	2	7,4	7,1	6,8
	Tag 10	3	7,4	6,8	6,8

Tabelle 51: Pseudomonaden in Versuch 2

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	4,6	3,2	2,3
	Tag 0	2	4,8	3,4	2,0
	Tag 0	3	4,8	3,1	2,0
	Tag 2	1	4,9	2,5	4,0
	Tag 2	2	4,9	2,6	3,8
	Tag 2	3	4,8	2,6	3,2
	Tag 7	1	8,6	8,2	7,0
	Tag 7	2	8,8	8,3	7,1
	Tag 7	3	8,9	8,0	7,4
	Tag 10	1	9,2	8,1	7,8
	Tag 10	2	9,2	7,8	7,9
	Tag 10	3	9,1	7,8	7,7

Tabelle 52: Enterokokken in Versuch 2

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	3,5	3,1	3,2
	Tag 0	2	3,7	3,3	3,3
	Tag 0	3	3,6	3,4	3,4
	Tag 2	1	3,5	3,4	4,3
	Tag 2	2	3,4	3,3	4,3
	Tag 2	3	3,5	3,2	4,0
	Tag 7	1	3,8	3,4	3,2
	Tag 7	2	3,6	3,5	3,3
	Tag 7	3	3,8	3,3	3,1
	Tag 10	1	3,5	3,4	3,2
	Tag 10	2	3,3	3,5	2,9
	Tag 10	3	3,5	3,3	3,2

8.2.2 Biogene Amine

Tabelle 53: Putrescin in Versuch 2

	Put/ohne	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	1,139	0,057	0,079
	Tag 0	2	1,512	0,219	0,003
	Tag 0	3	0,701	0,989	0,055
	Tag 2	1	0,099	0,817	2,262
	Tag 2	2	0,034	0,120	0,842
	Tag 2	3	1,120	3,952	0,280
	Tag 7	1	0,340	1,889	9,347
	Tag 7	2	0,989	1,600	7,910
	Tag 7	3	0,398	1,635	6,884
	Tag 10	1	2,906	11,482	11,895
	Tag 10	2	2,662	11,771	18,665
	Tag 10	3	6,892	15,786	15,345

Tabelle 54: Cadaverin in Versuch 2

	Cad/ohne	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,017	1,490	0,087
	Tag 0	2	0,302	0,080	0,243
	Tag 0	3	0,906	0,058	0,026
	Tag 2	1	0,336	0,215	0,419
	Tag 2	2	0,105	2,621	0,048
	Tag 2	3	0,042	0,407	0,335
	Tag 7	1	2,158	5,610	10,467
	Tag 7	2	4,939	5,701	8,469
	Tag 7	3	2,510	4,489	8,417
	Tag 10	1	4,127	13,414	20,206
	Tag 10	2	4,020	14,620	26,991
	Tag 10	3	7,213	15,086	24,363

Tabelle 55: Histamin in Versuch 2

	His/ohne	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	2,801	1,742	0,101
	Tag 0	2	1,005	3,841	0,389
	Tag 0	3	0,219	6,014	7,562
	Tag 2	1	3,131	2,254	5,177
	Tag 2	2	1,590	1,893	6,452
	Tag 2	3	1,800	3,361	0,182
	Tag 7	1	0,628	0,587	3,287
	Tag 7	2	2,539	0,561	2,865
	Tag 7	3	0,731	0,190	2,860
	Tag 10	1	0,996	0,920	3,981
	Tag 10	2	0,517	0,717	5,237
	Tag 10	3	1,496	1,061	4,451

Tabelle 56: Tyramin in Versuch 2

	Tyramin/ohne	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,078	0,069	0,814
	Tag 0	2	3,436	0,332	0,379
	Tag 0	3	1,366	0,113	0,393
	Tag 2	1	0,152	0,824	2,880
	Tag 2	2	0,171	1,480	4,973
	Tag 2	3	0,110	1,417	2,290
	Tag 7	1	1,688	8,928	15,431
	Tag 7	2	7,334	8,655	15,372
	Tag 7	3	1,834	6,125	18,900
	Tag 10	1	2,547	11,913	29,090
	Tag 10	2	2,322	13,928	36,515
	Tag 10	3	5,475	16,618	29,755

Tabelle 57: Spermidin in Versuch 2

	Spd/ohne	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,756	0,302	0,402
	Tag 0	2	2,557	0,433	0,434
	Tag 0	3	0,843	0,465	0,237
	Tag 2	1	0,324	0,437	0,295
	Tag 2	2	0,401	0,604	0,415
	Tag 2	3	0,475	0,343	0,326
	Tag 7	1	0,368	0,333	0,081
	Tag 7	2	3,130	0,400	0,330
	Tag 7	3	0,409	0,347	0,136
	Tag 10	1	0,336	0,477	0,252
	Tag 10	2	0,420	0,599	1,005
	Tag 10	3	0,781	0,624	0,410

Tabelle 58: Spermin in Versuch 2

	Spm/ohne	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	5,799	3,443	4,437
	Tag 0	2	7,196	3,625	3,846
	Tag 0	3	5,853	5,440	3,593
	Tag 2	1	3,989	3,203	3,653
	Tag 2	2	3,038	4,895	3,955
	Tag 2	3	4,625	3,352	3,153
	Tag 7	1	2,892	3,940	1,487
	Tag 7	2	7,113	4,584	1,734
	Tag 7	3	3,667	3,680	1,651
	Tag 10	1	4,002	4,850	2,253
	Tag 10	2	3,376	5,411	4,689
	Tag 10	3	7,385	6,615	2,714

8.3 Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in Mettwurst, die unter Zusatz von Starterkulturen und aus *Enterococcus faecalis* beimpftem Fleisch hergestellt wurde („V3“)

8.3.1 Mikroflora

Tabelle 59: Gesamtkeimzahl in Versuch 3

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	7,0	9,2	9,3
	Tag 0	2	7,0	9,2	9,2
	Tag 0	3	6,9	9,0	9,2
	Tag 2	1	8,3	9,2	9,0
	Tag 2	2	8,3	9,1	9,2
	Tag 2	3	8,2	9,1	9,0
	Tag 7	1	8,8	8,7	8,5
	Tag 7	2	8,6	8,7	8,5
	Tag 7	3	8,6	8,6	8,5
	Tag 10	1	9,3	8,8	8,9
	Tag 10	2	9,1	8,8	8,7
	Tag 10	3	9,2	8,7	8,7

Tabelle 60: Laktobazillen in Versuch 3

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,7	9,0	9,0
	Tag 0	2	6,7	9,2	8,4
	Tag 0	3	6,7	8,9	8,9
	Tag 2	1	6,8	9,0	8,6
	Tag 2	2	6,4	8,7	8,7
	Tag 2	3	6,4	8,8	8,1
	Tag 7	1	6,3	7,9	7,3
	Tag 7	2	6,3	8,1	7,4
	Tag 7	3	6,3	8,1	7,7
	Tag 10	1	6,9	8,3	8,7
	Tag 10	2	7,0	8,3	8,5
	Tag 10	3	7,0	8,3	8,5

Tabelle 61: Staphylokokken in Versuch 3

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,6	6,6	6,2
	Tag 0	2	6,8	6,5	6,5
	Tag 0	3	6,5	6,5	6,3
	Tag 2	1	6,5	6,4	6,3
	Tag 2	2	6,6	6,7	6,0
	Tag 2	3	6,6	6,6	6,2
	Tag 7	1	6,6	6,5	6,3
	Tag 7	2	6,6	6,5	5,0
	Tag 7	3	6,6	6,5	6,3
	Tag 10	1	6,4	6,6	6,5
	Tag 10	2	6,6	6,6	6,9
	Tag 10	3	6,4	6,4	6,4

Tabelle 62: Enterobacteriaceen in Versuch 3

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	3,1	2,5	2,3
	Tag 0	2	3,3	2,0	2,0
	Tag 0	3	3,1	2,3	2,0
	Tag 2	1	3,9	3,3	2,8
	Tag 2	2	4,5	3,0	2,0
	Tag 2	3	4,1	3,0	2,7
	Tag 7	1	7,6	7,1	6,9
	Tag 7	2	7,5	7,1	7,0
	Tag 7	3	7,5	7,2	7,0
	Tag 10	1	7,7	7,5	7,4
	Tag 10	2	7,9	7,4	7,5
	Tag 10	3	7,5	7,5	7,3

Tabelle 63: Pseudomonaden in Versuch 3

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	4,6	3,2	2,3
	Tag 0	2	4,8	3,4	2,0
	Tag 0	3	4,8	3,1	2,0
	Tag 2	1	7,4	5,8	4,3
	Tag 2	2	7,6	5,8	4,3
	Tag 2	3	7,5	5,8	4,4
	Tag 7	1	8,6	7,8	7,4
	Tag 7	2	8,3	7,7	7,4
	Tag 7	3	8,6	7,6	7,4
	Tag 10	1	9,0	8,1	8,0
	Tag 10	2	9,3	8,3	8,1
	Tag 10	3	9,0	8,1	7,8

Tabelle 64: Enterokokken in Versuch 3

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	3,5	3,1	3,2
	Tag 0	2	3,7	3,3	3,3
	Tag 0	3	3,6	3,4	3,4
	Tag 2	1	3,7	3,8	4,6
	Tag 2	2	3,9	3,7	4,6
	Tag 2	3	3,7	3,8	4,6
	Tag 7	1	4,6	4,5	3,6
	Tag 7	2	4,7	4,6	3,5
	Tag 7	3	4,0	4,1	3,6
	Tag 10	1	3,4	4,2	3,2
	Tag 10	2	3,5	4,0	3,4
	Tag 10	3	3,7	4,3	3,4

8.3.2 Biogene Amine

Tabelle 65: Putrescin in Versuch 3

	Put/mit	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	1,139	0,057	0,079
	Tag 0	2	1,512	0,219	0,003
	Tag 0	3	0,701	0,989	0,055
	Tag 2	1	0,032	1,565	4,287
	Tag 2	2	1,140	1,607	9,125
	Tag 2	3	1,656	2,001	5,324
	Tag 7	1	5,265	10,185	9,840
	Tag 7	2	4,457	10,191	15,310
	Tag 7	3	5,968	10,914	14,991
	Tag 10	1	11,756	15,060	18,678
	Tag 10	2	4,965	11,334	26,154
	Tag 10	3	6,332	7,838	15,044

Tabelle 66: Cadaverin in Versuch 3

	Cad/mit	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,017	1,490	0,087
	Tag 0	2	0,302	0,080	0,243
	Tag 0	3	0,906	0,058	0,026
	Tag 2	1	3,714	6,675	7,676
	Tag 2	2	4,489	6,074	9,939
	Tag 2	3	4,080	7,408	8,796
	Tag 7	1	5,861	11,295	17,674
	Tag 7	2	11,031	10,539	23,017
	Tag 7	3	6,567	12,469	19,837
	Tag 10	1	10,230	19,429	36,963
	Tag 10	2	12,435	12,355	47,590
	Tag 10	3	5,927	9,406	32,586

Tabelle 67: Histamin in Versuch 3

	His/mit	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	2,801	1,742	0,101
	Tag 0	2	1,005	3,841	0,389
	Tag 0	3	0,219	6,014	7,562
	Tag 2	1	0,480	0,465	1,294
	Tag 2	2	0,178	0,521	0,568
	Tag 2	3	0,866	0,143	0,472
	Tag 7	1	0,475	1,432	5,219
	Tag 7	2	1,720	1,256	6,622
	Tag 7	3	0,983	1,892	5,619
	Tag 10	1	0,880	3,724	7,138
	Tag 10	2	4,681	2,922	12,337
	Tag 10	3	0,555	1,656	8,838

Tabelle 68: Tyramin in Versuch 3

	Tyramin/mit	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,078	0,069	0,814
	Tag 0	2	3,436	0,332	0,379
	Tag 0	3	1,366	0,113	0,393
	Tag 2	1	3,422	7,571	16,500
	Tag 2	2	2,886	7,299	25,336
	Tag 2	3	4,554	8,307	21,757
	Tag 7	1	5,223	13,942	21,306
	Tag 7	2	5,194	11,309	31,406
	Tag 7	3	5,984	13,474	24,585
	Tag 10	1	10,154	19,175	27,434
	Tag 10	2	4,820	23,179	50,350
	Tag 10	3	4,311	15,436	35,627

Tabelle 69: Spermidin in Versuch 3

	Spd/mit	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,756	0,302	0,402
	Tag 0	2	2,557	0,433	0,434
	Tag 0	3	0,843	0,465	0,237
	Tag 2	1	0,497	0,324	1,007
	Tag 2	2	0,592	0,307	0,682
	Tag 2	3	0,566	0,485	0,702
	Tag 7	1	0,438	0,433	0,172
	Tag 7	2	0,538	0,442	0,218
	Tag 7	3	0,271	1,286	0,178
	Tag 10	1	0,684	0,445	0,336
	Tag 10	2	0,428	0,979	0,476
	Tag 10	3	0,362	0,201	0,368

Tabelle 70: Spermin in Versuch 3

	Spm/mit	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	5,799	3,443	4,437
	Tag 0	2	7,196	3,625	3,846
	Tag 0	3	5,853	5,440	3,593
	Tag 2	1	4,046	3,117	4,996
	Tag 2	2	5,540	3,306	5,984
	Tag 2	3	4,462	4,354	6,006
	Tag 7	1	3,639	3,849	1,708
	Tag 7	2	3,350	4,096	2,758
	Tag 7	3	3,222	6,198	2,181
	Tag 10	1	6,297	4,893	2,645
	Tag 10	2	3,098	3,091	3,663
	Tag 10	3	3,227	1,889	2,511

8.4 Entwicklung der Mikroflora und Gehalte an biogenen Aminen in Mettwurst, die unter Zusatz von Starterkulturen und aus *Enterococcus faecalis* beimpftem Fleisch hergestellt wurde („V4“)

8.4.1 Mikroflora

Tabelle 71: Gesamtkeimzahl in Versuch 4

			Tage der Reifung		
	log kbE/g	Probennummer	Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	7,1	9,1	9,1
	Tag 0	2	6,9	9,2	9,2
	Tag 0	3	6,9	9,2	9,3
	Tag 2	1	7,3	8,8	9,0
	Tag 2	2	7,3	8,9	9,1
	Tag 2	3	7,4	8,8	9,1
	Tag 7	1	9,0	8,7	8,7
	Tag 7	2	9,0	8,5	8,8
	Tag 7	3	9,1	8,5	8,8
	Tag 10	1	9,8	8,6	8,6
	Tag 10	2	9,6	8,5	8,3
	Tag 10	3	9,5	8,6	8,3

Tabelle 72: Laktobazillen in Versuch 4

			Tage der Reifung		
	log kbE/g	Probennummer	Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	< 4,0	7,1	6,1
	Tag 0	2	< 4,0	6,8	6,0
	Tag 0	3	< 4,0	7,5	6,3
	Tag 2	1	5,0	7,4	7,0
	Tag 2	2	5,3	7,3	7,1
	Tag 2	3	5,0	7,2	7,0
	Tag 7	1	6,9	6,8	7,5
	Tag 7	2	6,9	6,7	7,2
	Tag 7	3	6,5	6,9	7,5
	Tag 10	1	6,7	5,6	7,4
	Tag 10	2	6,7	5,5	7,3
	Tag 10	3	6,8	5,7	7,1

Tabelle 73: Staphylokokken in Versuch 4

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	6,4	6,5	6,2
	Tag 0	2	6,4	6,2	6,2
	Tag 0	3	6,4	6,0	6,3
	Tag 2	1	6,6	6,3	6,5
	Tag 2	2	6,5	6,0	6,4
	Tag 2	3	6,6	6,1	6,7
	Tag 7	1	6,7	6,5	6,5
	Tag 7	2	6,6	6,6	6,5
	Tag 7	3	6,7	6,5	6,2
	Tag 10	1	6,7	6,7	6,3
	Tag 10	2	6,8	6,7	6,4
	Tag 10	3	6,7	6,7	6,4

Tabelle 74: Enterobacteriaceen in Versuch 4

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	2,0	2,0	2,0
	Tag 0	2	2,3	2,5	2,0
	Tag 0	3	2,3	2,0	2,0
	Tag 2	1	2,7	2,0	2,0
	Tag 2	2	3,1	2,0	2,3
	Tag 2	3	2,6	2,0	2,3
	Tag 7	1	6,6	4,8	4,8
	Tag 7	2	6,8	4,6	4,8
	Tag 7	3	6,5	4,8	4,8
	Tag 10	1	6,6	5,9	5,8
	Tag 10	2	6,7	5,9	6,0
	Tag 10	3	6,7	5,8	5,7

Tabelle 75: Pseudomonaden in Versuch 4

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	3,8	2,0	3,7
	Tag 0	2	4,0	2,8	2,0
	Tag 0	3	3,9	2,3	2,0
	Tag 2	1	5,4	2,3	3,4
	Tag 2	2	5,7	2,9	3,3
	Tag 2	3	5,9	2,5	3,2
	Tag 7	1	9,0	7,2	6,3
	Tag 7	2	9,0	7,2	5,5
	Tag 7	3	9,0	7,2	6,3
	Tag 10	1	9,6	8,7	7,3
	Tag 10	2	9,5	8,4	7,3
	Tag 10	3	9,5	8,2	7,3

Tabelle 76: Enterokokken in Versuch 4

	log kbE/g	Probennummer	Tage der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	5,8	5,6	5,5
	Tag 0	2	5,7	5,5	5,7
	Tag 0	3	5,6	5,8	5,9
	Tag 2	1	6,1	5,8	6,0
	Tag 2	2	6,1	5,8	6,0
	Tag 2	3	6,1	5,6	6,1
	Tag 7	1	6,0	5,7	5,8
	Tag 7	2	6,0	5,7	5,1
	Tag 7	3	6,1	5,6	5,3
	Tag 10	1	6,0	5,9	5,7
	Tag 10	2	6,1	5,9	5,8
	Tag 10	3	5,2	6,1	5,8

8.4.2 Biogene Amine

Tabelle 77: Putrescin in Versuch 4

	Put	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,136	2,814	5,635
	Tag 0	2	3,431	10,336	3,619
	Tag 0	3	0,147	7,747	8,629
	Tag 2	1	7,546	1,493	8,944
	Tag 2	2	0,219	1,969	8,232
	Tag 2	3	0,926	2,861	8,655
	Tag 7	1	7,801	7,892	30,259
	Tag 7	2	37,173	7,714	29,260
	Tag 7	3	9,325	7,473	28,240
	Tag 10	1	7,154	15,507	68,770
	Tag 10	2	5,081	12,807	76,028
	Tag 10	3	7,897	14,303	75,295

Tabelle 78: Cadaverin in Versuch 4

	Cad	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,067	0,618	2,021
	Tag 0	2	2,134	1,436	0,658
	Tag 0	3	0,091	2,343	0,067
	Tag 2	1	0,347	0,027	1,573
	Tag 2	2	0,449	0,670	0,689
	Tag 2	3	0,382	0,904	1,021
	Tag 7	1	9,259	12,444	17,317
	Tag 7	2	10,051	12,816	17,384
	Tag 7	3	8,548	13,726	17,386
	Tag 10	1	10,490	20,163	38,078
	Tag 10	2	8,077	20,439	38,597
	Tag 10	3	11,336	19,708	35,169

Tabelle 79: Histamin in Versuch 4

	His	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,257	0,420	1,074
	Tag 0	2	0,146	0,860	0,498
	Tag 0	3	0,208	0,627	0,540
	Tag 2	1	2,084	2,538	1,696
	Tag 2	2	0,524	0,324	1,709
	Tag 2	3	0,443	0,318	1,590
	Tag 7	1	2,043	0,875	5,203
	Tag 7	2	0,969	1,116	5,694
	Tag 7	3	3,588	4,272	4,965
	Tag 10	1	0,704	2,377	6,532
	Tag 10	2	0,721	1,941	8,978
	Tag 10	3	0,438	2,176	7,509

Tabelle 80: Tyramin in Versuch 4

	Tyr	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,557	9,798	20,665
	Tag 0	2	0,236	8,892	18,696
	Tag 0	3	0,294	9,548	22,014
	Tag 2	1	3,453	9,062	33,014
	Tag 2	2	3,554	13,471	32,571
	Tag 2	3	3,600	12,314	30,787
	Tag 7	1	10,426	26,411	58,845
	Tag 7	2	11,565	26,549	61,945
	Tag 7	3	11,152	29,205	57,217
	Tag 10	1	17,034	68,129	128,062
	Tag 10	2	12,537	70,094	154,823
	Tag 10	3	16,496	69,739	122,063

Tabelle 81: Spermidin in Versuch 4

	Spd	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	0,521	0,571	0,740
	Tag 0	2	0,663	0,664	0,640
	Tag 0	3	0,701	0,598	0,424
	Tag 2	1	0,694	0,562	0,886
	Tag 2	2	0,673	0,860	0,647
	Tag 2	3	0,777	0,423	1,398
	Tag 7	1	0,777	0,639	0,745
	Tag 7	2	0,877	0,871	0,770
	Tag 7	3	0,830	0,992	1,032
	Tag 10	1	1,931	0,875	0,497
	Tag 10	2	1,051	0,890	0,763
	Tag 10	3	2,222	1,053	0,327

Tabelle 82: Spermin in Versuch 4

	Spm	Probennummer	Tag der Reifung		
			Tag 0	Tag 2	Tag 7
Tage der Lagerung	Tag 0	1	5,222	7,265	5,795
	Tag 0	2	5,640	6,384	5,937
	Tag 0	3	5,884	5,539	5,490
	Tag 2	1	6,475	4,074	7,734
	Tag 2	2	7,599	7,646	7,807
	Tag 2	3	6,952	7,720	8,634
	Tag 7	1	5,907	5,876	3,497
	Tag 7	2	7,228	5,379	5,252
	Tag 7	3	7,175	6,717	4,405
	Tag 10	1	7,981	6,133	4,485
	Tag 10	2	6,277	7,514	4,899
	Tag 10	3	8,125	5,605	4,952

Lebenslauf

ANGABEN ZUR PERSON

Name	NEUHOLD BIRGIT
Adresse	3721 Niederschleinz 32
Staatsangehörigkeit	Österreich
Geburtsdatum	30. Jänner 1985

SCHULBILDUNG

seit Sept. 2003	Universität Wien Studienrichtung Ernährungswissenschaften Wahlschwerpunkt: Ernährungsökonomie Voraussichtlicher Abschluss: Februar 2009
Sept. 1995 - Juni 2003	Gymnasium Hollabrunn 2020 Hollabrunn, Reucklstraße 9
Sept. 1991 - Juni 1995	Volksschule Sitzendorf 3714 Sitzendorf, Schulgasse 7

PRAKTIKUMSERFAHRUNG

August 2007	AMA Marketing GmbH Praktikantin im Bereich Qualitätsmanagement; Abteilung Obst, Gemüse, Kartoffel, Ei und Geflügel
Juli und August 2005; August 2006	Agrana Zucker und Stärke AG Ferialpraktikantin
Juli 2006	Landeskrankenhaus Waldviertel Horn Praktikantin im medizinisch - chemischen Labor

Niederschleinz, am 6. April 2009