

Aktuell

Gasbildung in vakuumverpacktem Rindfleisch – ein neues Phänomen?

In der Praxis tritt vereinzelt der Fall auf, dass sich in gekühlten Vakuumpackungen mit Rindfleisch unerwünschterweise Gas bildet. Der Prozess beginnt mit der Ausbildung von kleinen Blasen und führt schliesslich zu einem ballonartigen Aufblähen der betroffenen Packungen, was sich auch in geruchlicher Hinsicht als sehr nachteilig erweist. Als Ursache hierfür werden in der Literatur diverse Arten der Bakteriengattung *Clostridium* genannt. Bei deren Übertragung scheint das Abziehen der Haut im Schlachtprozess ein besonderer Risikofaktor darzustellen, der durch ein zu frühes Einbringen des Rindfleisches in die Vakuumpackungen zusätzlich verstärkt werden dürfte. Basierend auf früheren Erfahrungen wurden an der Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP spezifische Kenngrössen geprüft, die eine erste rasche Beurteilung geblähter Vakuumpackungen erlauben.

Eine englische Forschergruppe beschrieb das Phänomen bereits Ende der neunziger Jahre (Dainty *et al.*, 1989). Das dabei gebildete Gas wird anfänglich als schwefelartig charakterisiert, nach 5 Minuten dominieren Begriffe wie «fruchtig» und «lösungsmittelartig», die ab 10 Minuten durch die Attribute «stark käsig» und «buttersäureartig» abgelöst werden. Als Verursacher konnten die Autoren eine Clostridienart isolieren, ohne weitere Spezifikationen anzugeben. Anlässlich der vergangenen 43. Kulmbacher Woche stellten Wissenschaftler des Max-Rubner-Institutes (MRI), Standort Kulmbach, neue Forschungsergebnisse vor, die die Bakterienart *Clostridium estertheticum* neben anderen Clostridienarten als Ursache für das Phänomen vorstellten (Ziegler *et al.*, 2008). Gemäss Aussage der Referentin kann *Clostr. estertheticum* widerstandsfähige Sporen bilden, nur unter Sauerstoffausschluss überleben und auch bei Kühltemperaturen von $-1,5$ bis 2 °C (Optimum: $12-15$ °C) wachsen.

Clostr. estertheticum zeichnet sich auch dadurch aus, dass bei Temperaturen von über 20 °C kein Wachstum mehr möglich ist, weshalb das Bakterium bei den mikrobiologischen Routineuntersuchungen nicht erfasst wird. Gemäss den Informationen aus Deutschland ist die Bestimmung von *Clostr. estertheticum* mit den bishe-

Tab. 1: pH-Wert und Keimzahlen in gekühltem, vakuumverpacktem Rindfleisch

		ohne Gasbildung (n = 3)	mit Gasbildung (n = 5)	Sign.
pH-Wert		$5,53 \pm 0,02$	$5,51 \pm 0,05$	n. s.
Gesamtkeimzahl	KBE/g	$6,1 \times 10^6 \pm 6,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6 \pm 2,5 \times 10^6$	n. s.
Milchsäurebildner	KBE/g	$3,7 \times 10^5 \pm 2,6 \times 10^5$	$5,5 \times 10^4 \pm 4,4 \times 10^4$	n. s.
Enterobacteriaceen	KBE/g	$5,4 \times 10^2 \pm 1,1 \times 10^2$	n. n. ($< 10^2$)	*
<i>Clostridium perfringens</i>	KBE/g	n. n. ($< 10^2$)	n. n. ($< 10^2$)	n. s.
Buttersäurebazillen	Sporen/g	n. n. (0)	n. n. (0)	–

KBE = kolonienbildende Einheiten, n. n. = nicht nachweisbar (in Klammern jeweilige Nachweisgrenze)

n. s. = nicht signifikant, * = signifikant ($P \leq 0,05$), – = keine statistische Auswertung (t-Test)

rigen Methoden nur unter grossem Zeit- und Arbeitsaufwand möglich (dauert bis 8 Wochen). Dies deshalb, weil keine spezifischen Anzuchtmedien bekannt sind und der Keim nur sehr langsam wächst. Am MRI Kulmbach wurde daher vor kurzem eine molekularbiologische Methode (PCR, mit zwei Primer-Paaren) entwickelt, die neu die zuverlässige Bestimmung von *Clostr. estertheticum* erlaubt. Die Ergebnisse wurden vorerst in mündlicher Form präsentiert (Ziegler *et al.*, 2008); eine ausführliche Publikation liegt gemäss unseren Kenntnissen noch nicht vor.

Als wahrscheinliche Risikofaktoren gelten der Besatz der Häute/Felle (\rightarrow Verschmutzungen mit Kot aus sauerstofffreiem Verdauungstrakt bzw. mit Bodenpartikeln?) mit den widerstandsfähigen Clostridien sporen und deren Übertragung aufs Fleisch im Verlauf des Schlachtprozesses, wie dies Ergebnisse einer Untersuchung aus Neuseeland zeigten (Boerema *et al.*, 2003). Ebenfalls als Risikofaktoren gelten die zum Teil mehrmonatigen Lagerzeiten von gekühltem Rindfleisch. Letztere sind neben den je nach Herkunft langen Transportwegen auch mit der beim Rind länger dauernden Fleischreifung in Verbindung zu bringen. Der Nachweis des psychophilen *Clostr. estertheticum* in Rindfleisch auch aus warmen Ländern lässt bezüglich der Übertragungswege weiterhin diverse Fragen offen, zumal das spezifische Bakterium anscheinend erstmals in der Arktis gefunden wurde. Als weiteren begünstigenden Faktor gilt es, neben der Übertragung der Clostridien sporen aufs Fleisch, auch die Wachstumsbedingungen der psychophilen und vielfach gasbildenden Clostridien bezüglich Temperatur (siehe oben) bzw. Sauerstoffausschluss zu berücksichtigen. Die Clostridien wandeln sich bekanntlich bei den für sie idealen Bedingungen von der Sporenform in die vegetative Form um, was im vorliegenden Fall mit der erwähnten Gasbildung einhergeht. Dies dürfte insbeson-

dere dann zutreffen, wenn das Rindfleisch zu früh nach der Schlachtung, d. h. bei noch zu hohen, für die Clostridien aber idealen Temperaturen in die Vakuumpackungen (\rightarrow Sauerstoffausschluss) eingebracht wird.

Nachdem das Phänomen verschiedentlich und in unregelmässigen Abständen auch in der Schweiz aufgetreten war, wurden bei ALP einzelne Vakuumpackungen mit Rindfleisch mit den gängigen Methoden der Routineanalytik (Gaszusammensetzung im Kopfraum der Packungen sowie flüchtige Carbonsäuren im Fleisch, jeweils mittels Gaschromatographie) wie auch mikrobiologisch untersucht. Dabei standen aus einem Praxisbetrieb fünf aufgeblähte und drei normale Vakuumpackungen mit Rindfleisch zur Verfügung.

Keine Unterschiede aus mikrobiellen Routineuntersuchungen ersichtlich

Die obgenannten Proben wurden durch ALP zwecks Absicherung mit den für mikrobiologische Untersuchungen üblichen Routinemethoden untersucht, wobei aufgrund der Literaturangaben auch die Buttersäurebazillen, die auch die meisten Clostridienarten umfassen, einbezogen wurden (Tab. 1).

Die Ergebnisse bestätigen, dass über die mikrobielle Routineanalytik keine Rückschlüsse auf die Gasbil-

dung in Vakuumpackungen von Rindfleisch möglich sind. Dies war auch beim pH-Wert zu beobachten. Obwohl nur in einem Fall signifikant, so deuten die vorliegenden Ergebnisse an, dass gewisse Keimgruppen in der gebildeten Gasatmosphäre weniger gut überleben können.

Deutliche Differenzen in der Gaszusammensetzung zu erkennen

Bei der Analyse der Zusammensetzung des gebildeten Gases im Kopfraum der Packungen mittels Gaschromatographie waren im Vergleich zu derjenigen von Luft markante Veränderungen zu erkennen (Tab. 2). So zeigte sich der allgemein mit mikrobiellen Stoffwechsellätigkeiten verbundene Anstieg an Kohlendioxid sehr deutlich. Der zudem sehr hohe Gehalt an Wasserstoff birgt auch eine gewisse Explosionsgefahr in sich, was in der Praxis sicherlich nicht unterschätzt werden darf. Ebenfalls nachgewiesen werden konnte ein tiefer Gehalt an Sauerstoff, der aufgrund des obligaten Sauerstoffausschlusses, der für das Überleben der Clostridien Voraussetzung ist, den eigentlichen Erwartungen entspricht.

Die beobachtete Gaszusammensetzung entspricht auch den Grössenordnungen der eingangs erwähnten englischen Untersuchung, in welcher Konzentrationen von $59-70$ ml CO_2 , $27-38$ ml Wasserstoff, $1,6-3$ ml Stick-

Tab. 2: Zusammensetzung des Gases in vakuumverpacktem Rindfleisch mit Gasbildung im Vergleich zur Aussenluft

		in Luft	mit Gasbildung (n = 5)
Sauerstoff (O_2)	ml/100 ml	20,94	$0,57 \pm 1,19$
Kohlendioxid (CO_2)	ml/100 ml	0,04	$68,08 \pm 6,19$
Stickstoff (N_2)	ml/100 ml	78,08	$4,18 \pm 3,64$
Wasserstoff (H_2)	ml/100 ml	Spuren	$26,17 \pm 3,19$
Ammoniak (NH_3)	ml/100 ml	n. n.	n. n.

n. n. = nicht nachweisbar



Stark aufgeblähte Vakuumverpackung mit Rindfleisch (von oben).



Stark aufgeblähte Vakuumverpackung mit Rindfleisch (seitlich).



Gasentnahme für die späteren Analysen.

stoff und 0,1–0,3 ml Sauerstoff im mikrobiell gebildeten Gas ermittelt wurden (Angaben jeweils pro 100 ml). In dieser Studie von Dainty *et al.* (1989) wurden zusätzlich definierte Mengen des Edelgases Argon in normale Packungen eingespritzt, um mit dessen Hilfe deren Gaszusammensetzung bestimmen zu können (was aufgrund der fehlenden Gasbildung sonst ja nicht möglich ist). Dabei resultierten Konzentrationen von 72–73 ml CO₂, 1 ml Wasserstoff, 24–27 ml Stickstoff und 0,1–3 ml Sauerstoff (Angaben jeweils pro 100 ml). Die im Vergleich der Packungen mit bzw. ohne Gasbildung im ähnlichen Bereich liegenden CO₂-Konzentrationen weisen wiederum auf allgemeine mikrobielle Prozesse hin, während die Verschiebungen in den Konzentrationen an Stickstoff und Wasserstoff mehr von der Zusammensetzung der jeweils vorhandenen Keimflora abhängig sein dürften.

Ebenfalls Unterschiede bei den flüchtigen Carbonsäuren

Bei der gaschromatographischen Bestimmung der flüchtigen Carbonsäuren ergaben sich gewisse, wenn auch nicht signifikante Verschiebungen in den Gehalten an Ameisen- und Essigsäure (Tab. 3). Ein äusserst deutlicher und hoch signifikanter Unterschied ($P \leq 0.0001$) trat jedoch im Buttersäuregehalt auf, der in den Vakuumpackungen mit Gasbildung rund 135 Mal (!) höher war als in den normalen Packungen. Die mikrobielle Bildung der Buttersäure erfolgt bekanntlich v. a. durch Clostridien. Daraus lässt sich ableiten, dass die Bestimmung der Buttersäurekonzentration ein guter Indikator für das Auftreten von Clostridien darstellen und damit erste Hin-

weise auf die Ursache von Gasbildungen in vakuumverpacktem Rindfleisch erlauben dürfte.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen auch diejenigen aus der Untersuchung von Dainty *et al.* (1989), in welcher in den Packungen mit Gas der Gehalt an Ameisensäure vergleichsweise um rund Faktor 3 und derjenige an Buttersäure um Faktor 84 bis 250 erhöht war. Gerade Letztere dürfte die eingangs erwähnten, zum Teil penetranten Geruchsveränderungen zumindest teilweise erklären, wenngleich in der vorhin genannten Studie auch erhöhte Gehalte an biogenen Aminen, Schwefelwasserstoff und einzelnen weiteren flüchtigen Aromakomponenten nachgewiesen wurden.

Schlussfolgerungen

Die vorliegende Untersuchung zeigt mit der Analyse des Buttersäuregehaltes, neben der in Deutschland entwickelten molekularbiologischen Methode zur Bestimmung von *Clostridium estertheticum*, eine weitere Möglichkeit auf, wie erste Hinweise auf die Ursache von Gasbildungen in

gekühlten Vakuumpackungen mit Rindfleisch gewonnen werden können. Dies ist in Analogie zum Käsebereich bei ALP, wo im Falle von Fehlgerüchen, verursacht durch *Clostridium tyrobutyricum*, anstelle des aufwendigeren mikrobiellen Nachweises zuerst auf die raschere Bestimmung der Gaszusammensetzung bzw. des Buttersäuregehaltes ausgewichen wird (Häni, 2006). Wenn es später jedoch darum geht, die einzelnen kritischen Punkte im Produktionsprozess (v. a. Übertragung von der Haut auf das Fleisch) im jeweiligen Betrieb abzuklären, wird man auch im vorliegenden Fall mit vakuumverpacktem Rindfleisch nicht um eine Überprüfung mittels alternativer Analysemethoden herumkommen. Dazu steht mit der nun am MRI entwickelten, molekularbiologischen Methode ein neues, für die Problemlösung wertvolles Instrument zur Verfügung, welches neu die direkte Bestimmung eines der wichtigsten Problemverursacher innert nützlicher Frist ermöglicht.

Der fleischverarbeitende Betrieb muss hingegen selber bestrebt sein,

das Risiko der Keimvermehrung betriebsintern möglichst zu minimieren. Dazu gehört insbesondere die Schlachthygiene, wo es mögliche Kontakte des Fleisches mit Haut-, Schmutz- bzw. Kotpartikeln (Übertragung von Sporen beim Abziehen der Haut?) zu vermeiden gilt. Aber auch bei den weiteren Prozessschritten wie der Zerlegung oder der Fleischlagerung ist eine Kontamination mit Clostridien sporen über die obgenannten Transportvehikel nicht auszuschliessen und muss entsprechend beachtet werden. Überdies empfiehlt es sich, einen zu frühen Zeitpunkt des Einbringens des Fleisches in die Vakuumpackungen (nicht zu hohe Kerntemperaturen!) zu vermeiden.

Die zitierte Literatur kann beim Erstautor nachgefragt werden.

R. Hadorn, S. Schlüchter,
M. Collomb, R. Badertscher,
J. Hummerjohann

Forschungsanstalt Agroscope
Liebefeld-Posieux ALP

Tab. 3: Gehalt an flüchtigen Carbonsäuren in gekühltem, vakuumverpacktem Rindfleisch

		ohne Gasbildung (n = 3)	mit Gasbildung (n = 5)	Sign.
Ameisensäure	mmol/kg	0,71 ± 0,44	1,13 ± 0,23	n. s.
Essigsäure	mmol/kg	1,64 ± 0,74	1,38 ± 0,18	n. s.
Propionsäure	mmol/kg	n. n.	n. n.	–
Buttersäure	mmol/kg	0,07 ± 0,08	9,40 ± 2,21	*
iso-Buttersäure	mmol/kg	n. n.	n. n.	–
iso-Caprinsäure	mmol/kg	n. n.	n. n.	–
iso-Valeriansäure	mmol/kg	n. n.	n. n.	–

n. n. = nicht nachweisbar, n. s. = nicht signifikant, * = signifikant ($P \leq 0,05$), – = keine statistische Auswertung