

IV Verderb von Lebensmitteln BRAUN

1 Definition und Übersicht

Als verdorben sind Lebensmittel dann einzustufen, wenn sie so nachteilige Veränderungen erfahren haben, dass sie für den menschlichen Verzehr unbrauchbar geworden sind [HAYES, 1985].

Die Auslöser des komplexen Verderbnisvorganges sind außerordentlich vielschichtig und die Mechanismen ihres Zusammenwirkens noch nicht vollständig erforscht. Neben mikrobiellen und biochemischen Vorgängen kommen auch originäre Enzyme der Lebensmittel sowie biotische Faktoren, wie z. B. Schädlingsbefall, physikalisch-chemische Einflüsse oder physiologische Ursachen in Betracht. Der Verlust an Lebensmitteln durch Verderbnis aufgrund mikrobieller Aktivität allein wird auf etwa ein Drittel der Weltproduktion geschätzt und bedeutet ökonomische Einbußen in Milliardenhöhe [LUND et al., 2000].

Im Allgemeinen wird Verderb durch Veränderungen in Aussehen, Geschmack, Geruch oder Konsistenz augenscheinlich. Die lebensmittelrechtliche Bewertung des Produktes erfolgt nach dem Grad der Ausprägung und erfordert ein hohes Maß an Sachverstand. So äußert sich beginnender Verderb zunächst oft in unerheblichen Qualitätsminderungen, die zumeist toleriert werden, und das Produkt gilt als uneingeschränkt verkehrsfähig. Der Zeitpunkt, ab dem ein Lebensmittel als verdorben und nicht mehr verkehrsfähig eingestuft wird, hängt beispielsweise auch von regionalen Ansichten, Gewohnheiten oder wirtschaftlichen Gegebenheiten ab.

Nach aktueller Rechtslage gilt ein verdorbenes Lebensmittel als nicht sicher. Es ist davon auszugehen, dass diese Produkte für den Verzehr durch den Menschen ungeeignet sind und daher nicht in den Verkehr gebracht werden dürfen (VO 178/2002, Artikel 14, (2)b). Zusätzlich ist in Verbindung mit Punkt 5 (Artikel 14) bei der Entscheidung dieser Frage zu berücksichtigen, ob das Lebensmittel infolge einer durch Fremdstoffe oder auf andere Weise bewirkten Kontamination, durch Fäulnis, Verderb oder Zersetzung, ausgehend von dem beabsichtigten Verwendungszweck, nicht für den Verzehr durch den Menschen inakzeptabel geworden ist.

2 Mikrobieller Verderb (Mikroorganismen, mikrobielle Enzyme)

Mikrobieller Verderb wird durch die Vermehrung und die Stoffwechselaktivität von Mikroorganismen ausgelöst.

Zunächst reichen die im Lebensmittel frei verfügbaren niedermolekularen Stoffe als Energiequelle für die Mikroorganismen aus und führen z. B.

- zu massivem Wachstum mit Bildung sichtbarer oberflächlicher Bakterien-, Hefe- oder Schimmelpilzkolonien,
- zu klebrigen, schmierigen Oberflächen,
- zu Trübungen von Flüssigkeiten,
- zu Verfärbungen oder charakteristischen Geruchsabweichungen.

Im weiteren Verlauf werden die substanziellen Produktabweichungen sehr oft durch enzymatisch bedingte stoffliche Umsetzungen induziert. Die wichtigsten am Verderb beteiligten mikrobiellen Enzyme sind extrazelluläre Lipasen, Proteasen, Carbohydrasen und Oxidoreduktasen, die nach ihrer Synthese durch die zytoplasmatische Membran der Mikroorganismen ausgeschleust werden. Auswirkungen so genannter endogener oder intrazellulärer Enzyme, die nach dem Zelltod oder der Zellzerstörung weiter aktiv sein können, sind für den Verderbnisprozess von untergeordneter Bedeutung [FEHLHABER, 1992].

Keime, die diese entscheidenden Enzyme exkretieren können, kommen ursprünglich zumeist in geringer Zahl im Lebensmittel vor, können aber gegenüber der übrigen Flora während der Lagerung des Produktes einen Selektionsvorteil erreichen und induzieren dann die typischen Geruchs- und Geschmacksabweichungen. Für diese Gruppe von Mikroorganismen hat sich der Begriff „specific spoilage organisms = SSO“ durchgesetzt (siehe Abb. 2-1).

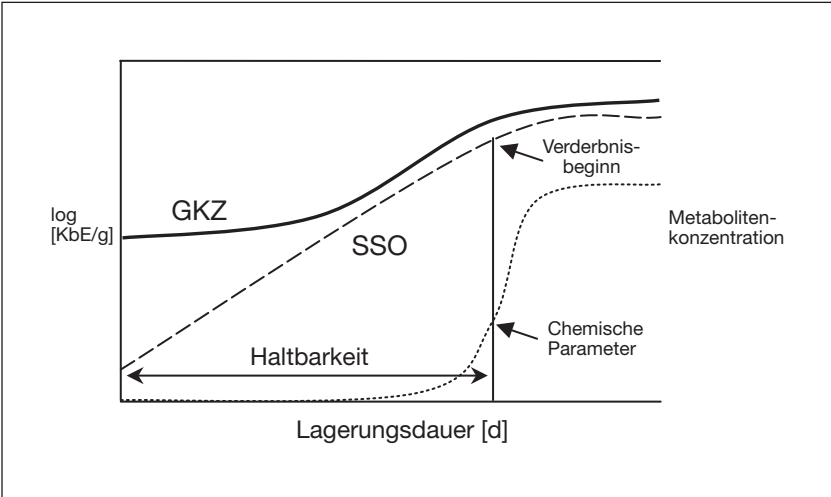


Abb. 2-1 Modell des mikrobiellen Verderbnisprozesses
(in Anlehnung an DALGAARD, 1993)
GKZ = Gesamtkeimzahl, SSO = Specific spoilage organisms

Entscheidend für das Wachstum der Mikroorganismen (Verderbniserreger inbegriffen) sind die nach MOSSEL et al. (1995) kategorisierten Parameter wie

- „intrinsic factors“ (z. B. pH-Wert, Wasseraktivität, Redoxpotenzial, Anwesenheit antimikrobieller Substanzen sowie sonstige physikalische, chemische und strukturelle Zusammensetzung des Lebensmittels),
- „extrinsic factors“ (Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit etc.),
- „implicit parameters“ (Zusammensetzung und Verhalten der Mikroflora im Lebensmittel unter synergistischen und/oder antagonistischen Einflüssen) sowie
- die Verfahren der Haltbarmachung (Räuchern, Salzen, Säuern, Zusatz von Antioxidantien etc.).

Als bedeutsame Verderbnisauslöser sind Spezies von *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Brochothrix*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, Hefen und Schimmelpilzen sowie Arten der aeroben und anaeroben Sporenbildner einzustufen. Detaillierte Informationen zu einzelnen Keimgruppen bzw. zur Verderbnisverhinderung während der Lebensmittelproduktion sind dem 2006 erschienenen Nachschlagewerk „Food spoilage microorganisms“ (Woodhead Publishing) zu entnehmen.

Untersuchungen (siehe Tab. 2-1) belegen, dass der Anteil der proteolytisch/lipolytisch aktiven Flora in Lebensmitteln überraschend hoch ist [BRAUN & FEHLHABER, 2001].

Tab. 2-1 Aerobe Gesamtkeimzahlen und Anteil an Proteolyten und Lipolyten (Bestimmung auf fett- bzw. eiweißhaltigen Medien) in ausgewählten Lebensmitteln tierischer Herkunft (KbE/g)
(V: Variationsbreite; Percentile 25-75; M*: Medianwerte; n=20)

		Leberwurst	Forelle frisch	Vollmilch, past.
GKZ	V	1,1x10 ³ –2,5x10 ⁴	1,3x10 ⁵ –6,6x10 ⁵	1,4x10 ² –8,8x10 ²
	M*	4,8x10 ³	3,5x10 ⁵	2,4x10 ²
Lipolyten (Tributylin*)	V	7,0x10 ² –1,0x10 ⁴	1,0x10 ⁵ –6,0x10 ⁵	2,0x10 ¹ –3,8x10 ²
	M*	3,5x10 ³	2,6x10 ⁵	1,0x10 ²
Lipolyten (Butterfett*)	V	7,5x10 ² –1,2x10 ⁴	n.u.	<1,0x 10 ² –5,0x10 ¹
	M*	3,0x10 ³		<1,0x 10 ²
Lipolyten (Olivenöl*)	V	9,5x10 ² –1,2x10 ⁴	1,3x10 ⁵ – 6,0x10 ⁵	n.u.
	M*	3,0x10 ³	3x10 ⁵	
Proteolyten (Casein*)	V	7,5x10 ² –1,0x10 ⁴	4,6x10 ⁴ –3,4x10 ⁵	<1,0x 10 ² –1,3x10 ²
	M*	2,0x10 ³	2,6x10 ⁵	3,0x10 ¹
Proteolyten (Fleisch/Fisch*)	V	1,8x10 ² –7,8x10 ³	7,2x10 ² –1,6x10 ⁴	n.u.
	M	1,0x10 ³	1,2x10 ³	

n.u. → nicht untersucht * Zusätze in Nährmedien

Als Beispiele für produkt- bzw. auch keimspezifische Abweichungen in Lebensmitteln können die Süßgerinnung und der Bittergeschmack der Milch durch proteolytische Bazillusarten (vor allem *Bacillus cereus*), die Oberflächenfäulnis von gekühltem Fleisch durch *Proteus* spp. und die *Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella*-Assoziation, die Zersetzungsprozesse im Fleisch in Knochennähe („bone taint“) durch *Clostridium putrefaciens* und *Clostridium algidicarnis*, der Flat-sour-Verderb von Konserven durch Kohlenhydrat spaltende Bazillusarten, die Gärung in Fleischsalaten durch Laktobazillen, Hefen und *Leuconostoc*-Arten oder die Weißfäule von Käse durch proteolytische Clostridienarten genannt werden.

Bei den genannten Enzymen (Lipasen, Proteasen, Carbohydrasen, Oxidoreduktasen) handelt es sich prinzipiell um globuläre Proteine unterschiedlicher Größe, die häufig so genannte Coenzyme als prosthetische (hinzugefügte) Gruppen oder anorganische Ionen enthalten, die für ihre Wirksamkeit erforderlich sind. Die Aminosäuresequenz und die daraus resultierende Konformation (Sekundär-, Tertiärstruktur) sichern die räumliche Struktur für ihre Effektivität und Spezifität (Bindungs-, Gruppen- und Artspezifität).

Die Enzyme unterliegen der von der IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) und der IUB (International Union of Biochemistry) 1992 festgelegten Nomenklatur. EC (Enzyme Commission)-Nummern charakterisieren die jeweiligen Enzymtypen.

Demnach gehören **Lipasen** oder Triacylglycerolester-Hydrolasen (EC 3.1.1.3) zur Gruppe der Esterasen, die wiederum den Hydrolasen (EC 3) zugeordnet sind. Sie katalysieren die Hydrolyse der Esterbindung von Glycerolestern langkettiger aliphatischer Fettsäuren an einer Öl/Wasser-Grenzfläche, wobei freie Fettsäuren, Diglyceride, Monoglyceride und Glycerol entstehen [BARISZLOVICH et al., 1990].

Neben der Hydrolyse katalysieren Lipasen auch andere Biotransformationen, wie die Veresterung primärer, sekundärer und tertiärer Alkohole, Umesterungsreaktionen und die Alkoholyse. Die entstehenden Fettsäuren werden zu meist durch weitergehende Oxidationen, Reduktionen und Polymerisationen so umgewandelt, dass die typischen Fettveränderungen wie z. B. Ranzig- oder

Seifigkeit auftreten. Eine Sonderform des Fettverderbs ist die Methylketonbildung, die einerseits in wasserhaltigen Fetten die unerwünschte „Parfümranzigkeit“ und andererseits in Roquefortkäse das gewollte, charakteristische Aroma hervorruft.

Bewährt haben sich für den Nachweis von Lipolyten unter anderem tributyrinhaltige Nährmedien, auf denen um die Kolonien deutliche Aufhellungszonen bzw. Hydrolysezonen sichtbar werden. Typische Lipasebildner sind Spezies der Genera *Pseudomonas*, *Serratia*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium* sowie *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus curvatus*, Hefen und Schimmelpilze.

Unter **Proteasen** (EC 3.4) werden Enzyme verstanden, die den Abbau von Proteinen und Peptiden durch hydrolytische Spaltung der Peptidbindung (Proteolyse) katalysieren. Der Proteolyse wird meist auch die weitere Zersetzung der entstandenen Aminosäuren durch Desaminierung, Decarboxylierung und Desulfhydrierung zu verschiedenen Endprodukten wie beispielsweise Ammoniak, Alkohole, CO₂, Amine oder Schwefelwasserstoff, die je nach Zeitpunkt der Umsetzung sensorisch wahrnehmbar (bitter, süßlich, alt, faulig etc.) werden, zugeordnet. Hierbei können auch die für den Menschen toxisch wirksamen Sekundärprodukte wie Histamin oder Tyramin entstehen.

Eine andere Klassifizierung der Proteasen legen SCHLEE & KLEBER (1991) zu Grunde. Nach ihrem Angriffsort in der Polypeptidkette werden demnach Endoproteasen (Endopeptidasen, Proteinasen), die die Hydrolyse von Peptidbindungen in der Peptidkette, und Exoproteasen (Exopeptidasen), die die Aminosäureabspaltung an den Kettenenden bewirken, unterschieden. Im Allgemeinen werden aber Exoproteasen als extrazelluläre, Endoproteasen als in der Zelle verbleibende Enzyme verstanden. Weiterhin werden von den Autoren nach ihrem pH-Wert-Wirkungsoptimum saure, neutrale, alkalische Proteasen und nach ihren Katalysemechanismen Serin-, Cystein-, Metallo- und Aspartatproteasen differenziert.

Proteolyten werden in der Regel auf eiweißhaltigen Medien (Zusatz von Casein, Fleischeiweiß, Gelatine) nachgewiesen, wobei die Hydrolyse ebenfalls durch Aufhellungszonen um die Kolonien erkennbar ist. Zur Bildung von Pro-

teasen sind vor allem Spezies von *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, Clostridien, Hefen und Schimmelpilzen befähigt.

Carbohydrasen (EC 3.2) als weitere Untergruppe der Hydrolasen katalysieren die hydrolytische Spaltung von Kohlenhydraten zu Monosacchariden. Mehrere Wege führen dann von den Hexosen zu Brenztraubensäure (Pyruvat). Neben positiven Effekten wie Säuerung und Geschmacksgebung bei fermentierten Milch- und Fleischerzeugnissen, können unerwünschte Erscheinungen wie Gärung, Entstehen von schleimigen, fadenziehenden Substanzen (Dextrane und Levane), unangenehmer Geschmack und Geruch durch die Bildung von Buttersäure, Essigsäure etc. zu Stande kommen. Als Nachweis für glykolytische Prozesse wird üblicherweise die quantitative Bestimmung Säure bildender Bakterien auf laktosehaltigen Medien (z. B. Chinablau-Laktose-Agar) herangezogen.

Oxidoreduktasen (EC 1) als Gruppe der Elektronen und Wasserstoff übertragenden Enzyme katalysieren Redoxreaktionen, die häufig in Farbveränderungen resultieren. Die reduzierende Wirkung dieser Enzymgruppe, z. B. von Dehydrogenasen, kann zur Entfärbung von Produkten führen, wobei die vorhandenen Farbstoffe zu farblosen Leukoverbindungen gewandelt werden. Weiterhin induzieren Reduktasen bei Fischen die Bildung von flüchtigen Aminen (Umwandlung von TMAO = Trimethylaminoxid zu TMA = Trimethylamin), die den typischen Geruch beginnenden Verderbs provozieren und deren Nachweis als Verderbnisindikator bewertet wird.

Oxidierend wirkende Enzyme, produziert durch Peroxid bildende *Lactobacillus*-Arten, bewirken beispielsweise die Umwandlung von Myoglobin in Metmyoglobin, die eine Braunfärbung von Rohwürsten nach sich zieht. Auch die verderbnisanzeigenden Grünfärbungen von Produkten sind auf Oxidationen zurückzuführen.

Die Synthese der genannten Enzyme verläuft im Allgemeinen nach dem generellen Schema der Proteinbiosynthese, bei der durch Transkription und Translation die in der DNA der Zelle verschlüsselte genetische Information umgesetzt wird. Einige Bakterienspezies, z. B. *Pseudomonas* spp., sind zu

einer multiplen und gleichzeitigen Synthese von Lipasen und Proteasen befähigt.

Ausschlaggebend für die zumeist induzierbare Synthese extrazellulärer Enzyme sind, ähnlich wie bei dem Wachstum der Mikroorganismen bereits erwähnt, Faktoren wie Temperatur, Substrate, Aktivatoren und Inhibitoren. Die maximale Enzymproduktion ist bei 20–37 °C und in einem pH-Bereich von 6–8 zu erwarten. Bemerkenswert erscheint, dass bei psychrotrophen Bakterien eine verstärkte Enzymsynthese bei niedrigen Temperaturen stimuliert wird, vermutlich um das Sinken der Enzymaktivität als Folge der verringerten Vermehrung kompensieren zu können. Daneben sind auch die bakteriellen Wachstumsphasen entscheidend. Häufig werden die Enzyme zwar zeitgleich mit der Keimvermehrung gebildet, aber erst in der späten exponentiellen bzw. in der stationären Phase exkretiert. Als Ursache gilt die Nährstofflimitation nach Beendigung der exponentiellen Vermehrung. In der Regel ist daher erst bei einer Dichte von etwa 10^7 Verderbniszellen/ml oder g mit einer nachweisbaren Enzymsynthese zu rechnen, in eigenen Studien konnten Lipasen und Proteasen bereits ab 10^5 Bakterien/g nachgewiesen werden [BRAUN, 2003]. Diese frühe Synthese könnte nach BOOTH (2002) als eine Überlebensstrategie von Bakterien in Form eines „Stress response“ auf stressinduzierende Milieubedingungen gewertet werden.

Die Aktivität der Enzyme ist ebenfalls abhängig von Parametern wie Temperatur, pH-Wert, Salzgehalt, Substrat- und Enzymkonzentration. Sie wird entsprechend der Enzymstruktur weiterhin durch Effektoren beeinflusst, die die Reaktionsgeschwindigkeit von enzymkatalysierten Reaktionen beschleunigen (Aktivatoren) oder verlangsamen (Inhibitoren). Aktivitätsfördernd wirken, je nach katalytischem Zentrum des Enzyms, vor allem Calcium-, aber auch Mangan-, Zink-, Magnesium- und Eisenionen, aktivitätshemmend generell Schwermetalle, Harnstoff, Cystein oder 8-Hydroxychinolin. Optimale Enzymaktivitäten können im Bereich von 20–50 °C erwartet werden. Für den pH-Wert gibt es keine allgemein gültigen Feststellungen, aber orientierend ist ein Bereich von 6,5 bis 8,5, für alkalische Proteasen von 10 und 12 anzugeben. Mit Absenkung der Temperatur (z. B. bei gekühlten Lebensmitteln), des pH-Wertes (gesäuerte Produkte) oder des a_w -Wertes (Salzfisch, Dauerwurstwaren, Hart-

käse) kommt es erwartungsgemäß zu einem Abfall der Enzymaktivität. Aber auch bei suboptimalen Umgebungsbedingungen können noch überraschend hohe Aktivitäten vorliegen. *Pseudomonas-fluorescens*-Proteasen zeigen z. B. bei 7 °C noch 30 %, *Aeromonas-hydrophila*-Proteasen bei 4 °C noch 35 % ihrer ursprünglichen Hydrolyse-Aktivität. Auch Temperaturen unter dem Gefrierpunkt führen nicht zu einer vollständigen Hemmung der Enzymaktivitäten.

In hitzebehandelten Erzeugnissen kann zwar generell mit einer Abtötung der Verderbniserreger oder einer deutlichen Reduzierung ihrer Dichte gerechnet werden, aber bereits exkretierte Enzyme können weiter wirksam sein. Im Allgemeinen werden Enzyme bei der Einwirkung höherer Temperaturen durch die Entfaltung der Polypeptidketten inaktiviert. Proteasen und Lipasen psychrotropher und thermophiler Mikroorganismen können aber nach Literaturangaben außergewöhnlich hohe Hitzeresistenzen aufweisen. Als besonders hitzestabil werden die Proteasen der *Pseudomonas* spp., von *Aeromonas hydrophila*, *Serratia marcescens*, aber auch die Lipasen von Pseudomonaden, *Staphylococcus* spp. und *Aeromonas hydrophila* beschrieben.

Neue Untersuchungsergebnisse [KNOBLOCH und BRAUN, 2007; BRAUN und KNOBLOCH, 2008] belegen, dass auch alternative Behandlungsmethoden für Lebensmittel, wie bspw. die Hochdruckbehandlung, Enzymwirkungen nicht vollständig eindämmen. Während vegetative Formen der Mikroorganismen signifikant reduziert oder inaktiviert werden, müssen z. B. die Proteasen von *Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens* oder *Bacillus megaterium* als druckresistent (600 MPa für 60 min) eingeschätzt werden. Drucksensibler erwiesen sich *Bacillus cereus*-Proteasen oder *Aeromonas hydrophila*-Lipasen. Mit einem Druck von 200 MPa konnte bei *Pseudomonas fragi*-Lipasen sogar eine Aktivitätssteigerung bis zu 10 % initiiert werden.

In diesem Kontext wird deutlich, dass das Wirkungsspektrum mikrobieller Enzyme das des bakteriellen Vermehrungsvermögens in der Regel übersteigt. Das heißt, die auf mikrobieller Enzymaktivität beruhenden Verderbnisprozesse können sich in Bereiche fortsetzen, in denen der eigentliche Verderbniserreger bereits abgetötet ist oder „ruht“.

Die enzymatische Aktivität kann entweder durch die Ermittlung der Konzentrationsabnahme des Substrates oder durch die Messung der Konzentrationszunahme spezieller, während der katalysierten Reaktion entstehender Abbauprodukte bestimmt werden [KALISZ 1988]. Ein reflektometrischer Test auf der Basis von Br, Cl, Indoxylcaprylat steht zum Nachweis von Lipaseaktivitäten in Milch zur Verfügung. Applikationsvorschriften für Fleisch, Fleischerzeugnisse, Fisch- und Fischerzeugnisse wurden von BÜCHNER (2007) erarbeitet. Für die Aktivitätsbestimmung von Proteasen (Angabe in Fluorescens-Werten) existiert beispielsweise ein Test auf Caseinbasis für enzymhaltige Bouillons. Applikationsvorschriften für Lebensmittel liegen noch nicht vor.

Der Nachweis des Lebensmittelverderbs gestaltet sich aufgrund seiner Multi-kausalität schwierig. Bisher wird vorwiegend die Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl neben einer sensorischen Prüfung unter Zuhilfenahme von Texturprofilanalysen eingesetzt. Die Ergebnisse reflektieren allerdings nur einen Teil des komplexen Verderbnisvorganges. Einerseits besteht nicht immer eine Übereinstimmung zwischen der aeroben Gesamtkeimzahl und dem organoleptischen Befund, andererseits wird keine Aussage zum Fermentationsvermögen der Keime ermöglicht.

Eine objektivere Bestätigung zur Feststellung von Verderbnis wird in chemischen Analysen gesehen, z. B. in der Bestimmung von freien Fettsäuren, von flüchtigen Aminen oder TVB-N = Total viable basic nitrogen (Fisch) oder von Peroxiden. Nachteile dieser Verfahren ergeben sich daraus, dass teilweise noch keine Grenzwerte existieren, wiederholte Analysen wie bei der Peroxidbestimmung erforderlich sind oder kein universeller Einsatz möglich ist.

Die Erfassung flüchtiger Metabolite als Folge bakterieller Vermehrung mithilfe verschiedener Varianten der Gaschromatographie erfährt deshalb in den letzten Jahren größere Aufmerksamkeit. Als etabliert gelten die Verfahren bereits für Fisch, Meeresfrüchte und Milch.

Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Entwicklung der so genannten elektronischen Nase, die Metaboliten detektiert, aber aufgrund der nicht spezifischen Adsorption der elektronischen Sensoren nicht identifiziert. Der erfolgreiche Einsatz dieser Geräte kann nach Auswertung des

internationalen Schrifttums dennoch für vakuumverpacktes Rindfleisch, für in modifizierter Atmosphäre verpacktes Geflügelfleisch, für Zerealien, für Milch sowie für „graved“ Lachs bestätigt werden.

Für die Vorhersage des Eintritts von Verderb bzw. für Haltbarkeitseinschätzungen sind die klassische Mikrobiologie, aber auch moderne biochemische Methoden wie die ATP-Bestimmung und Biolumineszenz von eingeschränktem Wert, da sie zumeist nur retrospektive Informationen liefern.

Zur Haltbarkeitsbestimmung von Lebensmitteln werden daher zumeist zahlreiche Lagerungsversuche durchgeführt, um eventuelle Gesetzmäßigkeiten modellieren und die gewonnenen Werte extrapolieren zu können. Die Haltbarkeitsvorausagen stützen sich zumeist auf das näherungsweise Beschreiben des Qualitätsverlustes, also auf das kinetische Modellieren von Verderbnismechanismen in Lebensmitteln. Dabei wird die Rate der Qualitätsminderung als Funktion von intrinsischen Faktoren (z. B. aerobe Gesamtkeimzahl, Katalysatoren, Inhibitoren, pH-Wert und Wasseraktivität) und externen Bedingungen wie Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit und Licht beschrieben.

In der Lebensmittelindustrie wird die Temperaturabhängigkeit auch häufig als Q-10-Approach (Verhältnis der Reaktionsratenkonstanten bei Temperaturen, die um 10 °C differieren) ausgedrückt. Das ist auch das Grundprinzip des sogenannten Accelerated Shelf Life Testing, das vorwiegend in der Pilotphase von Produktentwicklungen angewendet wird [LABUZA, 2000]. Um schneller über Daten zu verfügen, wird das Produkt unter ungünstigeren Bedingungen, zumeist höherer Temperatur, gelagert und periodisch bis zum offensichtlichen Ende der Haltbarkeit untersucht, um die gewonnenen Daten nach Modellierung für die „real“ vorkommenden Bedingungen zu nutzen.

Ein weiteres Verfahren ist die WEIBULL-Hazard-Methode, die auf Grundlage einer kumulativen Auswertung von Mess- oder Beobachtungswerten die prozentuale Wahrscheinlichkeit des Verderbs eines Lebensmittels in Abhängigkeit von der Zeit angibt. Durch eine Ja/Nein-Bewertung (verdorben/nicht verdorben) von lagernden Proben eines Erzeugnisses aus laufender Produktion können unter betrieblichen Bedingungen durch die Anwendung der WEIBULL-

Funktion (variable Verderbnisdichte als Funktion der Zeit) Aussagen zur Haltbarkeit abgeleitet werden (zusammengefasst bei THIEMIG et al., 1998).

Eine kostengünstige Alternative zu den Lagerungsversuchen bietet die Anwendung mathematischer Modelle („predictive microbiology“), die in den letzten Jahren auch für Verderbniserreger entwickelt wurden und deren Verhalten unter verschiedenen Umweltbedingungen, zumeist Temperatur, pH-Wert und Wasseraktivität, beschreiben. Derartige Modelle liegen u. a. für Pseudomonaden, *Brochothrix*, *Enterobacteriaceae* und verschiedene Hefen vor. Zu berücksichtigen bleibt bei der Anwendung mathematischer Modelle jedoch, dass beispielsweise die Lagphase von Organismen bisher nicht so akkurat wie die Wachstumsphase modellierbar ist. In Anlehnung an diese Wachstumsmodelle konnten in eigenen Untersuchungen Enzymaktivitätsmodelle („predictive enzymology“) erarbeitet werden, die den Effekt von Lipasen und Proteasen ausgewählter Verderbniserreger unter dem Einfluss von Temperatur, Wasseraktivität und pH-Wert vorausschauend wiedergeben (zusammengefasst bei BRAUN 2003). Auch hier ist zu bedenken, dass während der Lagerung auftretende Milieuänderungen, z. B. in Form von pH- oder a_w -Änderungen, in diesen Modellen nicht berücksichtigt werden konnten.

In der „Real World Shelf Life Technology“ haben sich unter anderem Temperatur-Zeit-Indikatoren als selbstklebende Etiketten auf verderblichen Produkten im Handel als sehr nützliches Element zur Verbraucherunterstützung bewährt [FU & LABUZA, 1994]. Diese Indikatoren basieren auf mechanischen, chemischen oder mikrobiologischen Systemen, die sich in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur irreversibel verändern und dem Verbraucher so den Frischestatus anzeigen (siehe Abb. 2-2).



Abb. 2-2 Temperatur-Zeit-Indikatoren auf Verpackungen als Angabe zum Frischestatus eines Produktes

3 Nichtmikrobieller Verderb

Die Auswirkungen des nichtmikrobiellen Verderbs ähneln den im vorherigen Kapitel beschriebenen Veränderungen zum Teil erheblich. Oft verlaufen beide Prozesse einzeln oder simultan, so dass nicht immer eine eindeutige Zuordnung der Veränderungen möglich ist.

3.1 Originäre Enzyme

Die Eigenenzyme der lebenden Zelle oder so genannte originäre Enzyme wirken im lebenden, energievorsorgten Organismus kontrolliert im Sinne der Erhaltung und des Aufbaus. Nach dem Schlachten, der Eiablage oder dem Milchentzug kommt es durch das Fehlen der energiereichen Verbindungen zu ungesteuerten Abbauvorgängen. Diese für die Zelle nachteiligen Folgen können für dasselbe Objekt als Lebensmittel durchaus eine Qualitätssteigerung bedeuten. Beispiele für die **erwünschte** Wirkung originärer Enzyme sind die vorwiegend durch Proteasen induzierte Fleischreifung, der typische Wildgeschmack („haut goût“) oder die Aromatisierung von Rohschinken.

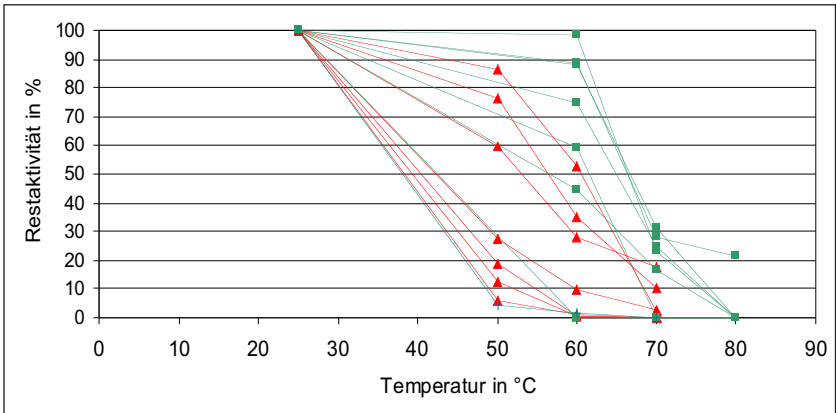
Unerwünscht sind hingegen die durch mangelnde Kühlung hervorgerufenen, überstürzt ablaufenden Reifungsprozesse, die sich in fauligem, muffig-säuerlichem Geruch in der Tiefe der Muskulatur (stickige Reifung/saure Gärung) äußern. Besonders verderbnisgefährdet sind die ausnehmend enzymreichen, stoffwechselaktiven Organe wie Leber, Niere, Drüsen und das Blut. In Schweineleber konnte in eigenen Studien [BRAUN et al. 2002] eine Lipaseaktivität von 180 mg/kg bestimmt werden, in Schweinefleisch nur 46 µg/kg. Auf das Wirken originärer Enzyme ist auch das Weichwerden von Obst durch pektinolytische Enzyme oder die Verflüssigung des Eiklars bei gealterten Eiern durch die Zersetzung des Ovomucins rückführbar. Größere Bedeutung haben originäre Lipasen und Lipoxygenasen bei Verderbnisvorgängen der Rohmilch und in reinen Fetten, die in Fettspaltungen oder Fettoxydationen resultieren und damit zu Ranzigkeit, Seifigkeit oder Tranigkeit führen können.

IV.3 Nichtmikrobieller Verderb

3.1 Originäre Enzyme

Oxidierend wirkende originäre Enzyme können durch Umwandlung der Blut- und Muskelfarbstoffe zu Farbveränderungen des Fleisches oder von Fleischwaren führen, in dem das hellrote Myoglobin in graubraunes Metmyoglobin umgewandelt wird. Auch die Gelbfärbung des Fischfleisches lässt auf die Oxidation von Fischfett schließen. Ein weiteres Beispiel ist das Bräunen von Früchten durch das Wirken von gewebeeigenen Polyphenyloxidasen. Das Ausmaß der Veränderungen ist dabei wie beim mikrobiellen Verderb vor allem von den bereits mehrfach genannten „intrinsic factors“ wie pH-Wert, Wasseraktivität, Salzgehalt, Struktur des Lebensmittels etc. und „extrinsic factors“ wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit abhängig. Allerdings sind originäre Enzyme im Vergleich zu mikrobiellen als hitzelabiler einzustufen. In eigenen Untersuchungen (siehe Abb. 3.1-1) wurden Fischlipasen beispielsweise nach 5-minütiger Erhitzung bereits ab 60 °C, Fleischlipasen ab 70 °C komplett inaktiviert, während Lipasen von *Pseudomonas* spp. noch bei über 80 °C wirksam waren [BRAUN et al. 2002]. Stoffliche Veränderungen in ausreichend erhitzten Produkten lassen daher überwiegend auf mikrobielle Ursachen schließen.

Abb. 3.1-1 Vergleichende Darstellung der Hitzestabilität bakterieller (Quadrat) und gewebeeigner (Dreiecke) Lipasen



3.2 Chemisch-physikalische Ursachen

Hierzu zählen verschiedene Gruppen, die ein Lebensmittel in der Regel verdorben erscheinen lassen, teilweise aber auch gesundheitliche Risiken in sich bergen. Einzuordnen sind hier unter anderem:

- Verschmutzungen und Verunreinigungen wie Fremdkörper, Federreste usw., die stets als hygienewidrig anzusehen sind und teilweise potenzielle gesundheitliche Risiken darstellen;
- Annahme von Fremdgerüchen vor allem bei Eiern, Milch und Milchprodukten, die je nach Intensität zur Untauglichkeit führen können;
- technologische Fehler wie Dunkelfärbungen und Karamellisierungen durch übermäßiges Erhitzen oder Räuchern, Entmischungen von Emulsionen, mechanische Einwirkungen (z. B. Verpackungs-, Eischalenschäden) oder beispielsweise der Salzausschlag durch Dosierungsfehler von Zusatzstoffen, die Braunfärbung von Kartoffeln durch Kälteeinwirkung („cold temperature injury“), die nach Grad der Ausprägung zu bewerten sind;
- Austrocknungen: durch Verdunstung von Wasser vergrößerte Luftkammern bei Hühnereiern, Welkwerden von Obst und Gemüse, Gewichtsverluste, bei langer Gefrierlagerung von Fleisch die Ausbildung von Gefrierbrand (z. T. rehydratisierbar, teilweise Entwicklung von Gewebnekrosen = „Brand“), die zur Untauglichkeit führen können;
- Auswirkungen von Luftsauerstoff, Licht, Wärme, Feuchtigkeit: z. B. oxidativer Fettverderb (Ranzigkeit) von (stark erhitzten) Fetten durch Autooxidation vorzugsweise mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Form von autokatalytischen Radikalkettenreaktionen, die zunächst zur Bildung von Hydroperoxiden führen, welche weiter zu geruchsintensiven Carbonylverbindungen (flüchtige Aldehyde wie Hexanal), Alkanen oder Alkenen abgebaut werden; die Bewertung dieser Veränderungen muss ihren Ausprägungsgrad berücksichtigen;
- Bildung von Rückständen (ausführlich in Kapitel II.6 beschrieben).

3.3 Schädlinge und Parasiten

Als sehr heterogen zusammengesetzte Gruppe von Tieren sind **Schädlinge** (Hygiene-, Vorrats-, Materialschädlinge, Lästlinge) einzustufen, die vor allem durch Fressen, Nagen, Bohren und Verschmutzungen (Puppen, Kot, Eier, Häutungshüllen) Ekel erregende, hygienewidrige Zustände hervorrufen. Zudem sind sie als Überträger von pathogenen Keimen und Fäulnisregenern bekannt. Wesentliche Vertreter der Schädlinge und die Lebensmittel, die von ihnen bevorzugt befallen werden, sind in Tab. 3.3-1 zusammengefasst.

Parasiten können neben Gesundheitsschädigungen auch Lebensmittelveränderungen wie beispielsweise bindegewebige Knötchen („milk spots“) in der Leber durch wandernde *Ascaris-suum*-Larven oder verkalkte Zysten durch abgestorbene Sarkosporidien in der Muskulatur hervorrufen, die zwar keine Gesundheitsgefährdung darstellen, aber dennoch für den Verbraucher unakzeptabel sind. Auch bei bloßer Anwesenheit bereits abgetöteter Parasiten, z. B. *Anisakis-simplex*- oder *Pseudoterranova-decipiens*-Larven im Räucherfisch, sind die Lebensmittel als Ekel erregend und somit verdorben einzuschätzen.

Tab. 3.3-1 Bedeutsame Schädlinge

Schädling	Lebensmittel	
Fliegen	Schmeißfliege (<i>Calliphora</i> -Arten)	Fleisch u. Wurstwaren
	Gold- u. Glanzfliegen (<i>Lucilia</i> -Arten)	Fleisch
	Fleischfliege (<i>Sarcophaga</i> -Arten)	Fleisch
	Essig-/Fruchtfliege (<i>Drosophila</i> -Arten)	Marmelade, Obst, Säfte, Wein, Bier
	Käsefliege (<i>Piophilidae</i>)	Hartkäse, Schinken
Käfer	Schinkenkäfer (<i>Nicrobia</i> -Arten)/ Speckkäfer (<i>Dermestes</i> -Arten)	Speck, Käse, Fleisch, Wurstwaren, Eipulver, Fischmehl

IV.3 Nichtmikrobieller Verderb

3.3 Schädlinge und Parasiten

Tab. 3.3-1 Bedeutsame Schädlinge (Forts.)

Schädling		Lebensmittel
	Reismehlkäfer (<i>Tribolium</i> -Arten)	Getreide, Gewürze, Teigwaren, Milchpulver
	Reiskäfer (<i>Sitophilus oryzae</i>)	Getreide, Reis
	Diebskäfer (<i>Ptinus</i> -Arten)	Trockene Lebensmittel, Verpackungsmaterial
Milben	Mehlmilbe (<i>Acarus siro</i>)	Mehl, Getreide
	Modermilbe (<i>Tyrophagus</i> -Arten)	Süßwaren
	Backobstmilbe (<i>Carpoglyphus lactis</i>)	Süßwaren, Fruchtsaft, Trockenfrüchte, Wein
	Käsemilbe (<i>Tyrolichus casei</i>)	Käse, Schinken, Rohwürste, Getreide
Schaben	Deutsche Schabe (<i>Blattella germanica</i>)	Lebensmittel, Abfälle
Silberfischchen	<i>Lepisma saccharina</i>	Kohlenhydratreiche Lebensmittel
Motten	Mehlmotte (<i>Ephestia kuehniella</i>)	Mehl, Grieß, Paniermehl
Ratten, Mäuse	Wanderratte (<i>Rattus norvegicus</i>) Hausmaus (<i>Mus musculus</i>)	Lebensmittel
Ameisen	Pharaoameise (<i>Monomorium pharaonis</i>)	Lebensmittel

3.4 Physiologische Ursachen

Normabweichungen bzw. Veränderungen an Lebensmitteln, die durch physiologische Ursachen bedingt sein können, werden vom Verbraucher nicht einheitlich bewertet. So wird beispielsweise der leicht modrige Geruch von Karpfen, Rotaugen, Schleien oder Barben toleriert. Hingegen wird ein deutlicher Eber- oder Ziegenbockgeruch, das „warmed over flavour“ (ein muffiger, metallischer Geruch in nochmals erwärmtem Fleisch), oder auch der Bittergeschmack in karottenhaltiger Babynahrung nicht akzeptiert.

Nicht zu beanstanden sind physiologische Besonderheiten wie ein leichter NH_3 -Geruch bei Rochen- und Haifischfleisch, der Bittergeschmack von Grapefruitfrüchten oder Röstprodukten, die Gasbildung (Bombage) von verpacktem Kefir, ein leichter H_2S -Geruch bei Schweinefleischkonserven oder die auf Grünfutteraufnahme beruhende gelbliche Fettfarbe bei Schlachttieren.

Literatur

BARISZLOVICH, M.; MEUSEL, D.; TÜLSNER, M. (1990): Die Charakterisierung mikrobieller Lipasen. 1. Mitt. Zur Bestimmung der Lipaseaktivität. *Nahrung* **34**: 701–7

BOOTH, I.R. (2002): Stress and the single cell: Intrapopulation diversity is a mechanism to ensure survival upon exposure to stress. *Int. J. Food Microbiology* **78**: 19–30

BRAUN, P.; FEHLHABER, K. (2001): Quantitatives Vorkommen von Lipolyten und Prolyten in Lebensmitteln tierischer Herkunft. *Dt. Tierärztl. Wschrift* **108**: 371–5

BRAUN, P.; BÜCHNER, S.; FEHLHABER, K. (2002): Quantitative Bestimmung von Lipasen und deren Hitzestabilität in Lebensmitteln tierischer Herkunft. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschrift* **15**: 24–9

BRAUN, P. (2003): Untersuchungen des Fett- und Eiweißabbaus durch spezifische Verderbnisorganismen – ein Beitrag zur Etablierung einer wissenschaftlich fundierten Haltbarkeitsvoraussage für Lebensmittel. *Habilitation, Universität Leipzig*

BRAUN, P.G.; Knobloch, S. (2008): Können mikrobielle Enzyme durch Hochdruckbehandlung inaktiviert werden? *Leipziger Blaue Hefte: Proceedings 4. Leipziger Tierärztekongress 17.–19.1.2008*: 697–699

IV.3 Nichtmikrobieller Verderb

3.4 Physiologische Ursachen

BÜCHNER, S. (2007). Bestimmung mikrobieller und gewebeigener Lipasen mit dem Reflectoquant® Lipase-Test (Merck KGaA). Dissertation, Veterinärmedizinische Fakultät, Leipzig

DALGAARD, P. (1993): Evaluation and prediction of microbial fish spoilage. Ph.D. Thesis. The Technological Laboratory of the Danish Ministry of Fisheries and the Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark

FEHLHABER, K. (1992): Lebensmittelverderb. In: FEHLHABER K.; JANETSCHKE, P.: Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene. 1. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, 126–30

FU, B.; LABUZA, T.P. (1997): Shelf Life Testing: Procedures and Prediction Methods. Chap. 19 in: YEN CON HONG (ed.): Frozen Food Quality. CRC Press, Denver CO, 377–415

HAYES, P.R. (1985): Food Microbiology and Hygiene. Elsevier, London, 80–139

KALISZ, H.M. (1988): Microbial proteinases. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. **36**: 1–65

KNOBLOCH, S., BRAUN, P.G. (2007). Einfluss von Hochdruck auf mikrobielle Lipasen verschiedener Verderbniserreger. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, Sonderausgabe 25.–28.9.2007, 44.

LABUZA, T.P. (2000): The Search for Shelf Life. An update on continued efforts in understanding practical strategies for determining and testing the shelf life of food products. http://fscn.che.umn.edu/Ted_Labuza/PDF_files/papers/Search%20For%20Shelf%20Life-FTA.pdf, 26.10.2002

LUND, B.M.; BAIRD-PARKER, A.C.; GOULD, G.W. (2000): The Microbiological Safety and Quality of Foods. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, S. 1885

MOSSEL, D.A.A.; CORRY, J.E.L.; STRUIJK, C.B.; BAIRD, R.M. (1995): Essentials of the Microbiology of Foods: a textbook for advanced studies. Wiley, England, 175–214

SCHLEE, D.; KLEBER, H.-P. (1991): Wörterbücher der Biologie. Biotechnologie, Teil II. 1. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 828

THIEMIG, F.; BUHR, H.; WOLF, G. (1998): Charakterisierung der Haltbarkeit und des Verderbsverhaltens frischer Lebensmittel. Erste Ergebnisse zur Anwendung der WEIBULL-Hazard-Analyse. Fleischwirtsch. **78**: 152–4

WOODHEAD PUBLISHING (2006): Food spoilage microorganisms. Ed. C. de W. Blackburn.