

Wirkung von Nitrit auf Gram positive Infektionserreger in Rohwursterzeugnissen

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle I:	Max-Rubner-Institut (MRI) Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie, Kulmbach Prof. Dr. Dr. M. Gareis/Dr. R. Pichner
Forschungsstelle II:	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Abteilung Mikrobiologie Prof. Dr. S. Scherer/Dr. S. Müller
Industriegruppe:	Bundesverband der Deutschen Fleischwarenindustrie e.V. (BVDF), Bonn Projektkoordinator: H.-J. Kummer, E. Schiller Fleisch GmbH, Hof/Saale
Laufzeit:	2008 – 2011
Zuwendungssumme:	€ 403.000,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Infektionen, hervorgerufen durch den Verzehr von mit pathogenen Bakterien kontaminierten Lebensmitteln, stellen ein gesundheitliches Risiko für den Verbraucher dar. Daneben bergen mit Lebensmittelinfektionserregern kontaminierte Lebensmittel auch ein enormes wirtschaftliches Risiko für die Lebensmittelindustrie. Diese Branche ist durch den großen Anteil mittelständischer Unternehmen geprägt. Vor allem bei kleinen und mittleren Betrieben (KMU) kann im Zuge von möglichen Rückrufaktionen ein Verlust des Verbrauchervertrauens zu schwerwiegenden finanziellen Einbußen bis hin zu Betriebsschließungen führen.

Betroffen von einem Kontaminationsrisiko ihrer Erzeugnisse sind hierbei auch Produzenten von Rohfleischerzeugnissen wie Rohwurst: Das Rohmaterial (Schweine- bzw. Rindfleisch) für die Herstellung kann mit verschiedenen Krankheitserregern belastet sein. Neben Gram negativen enterischen Bakterien sind dies im Bereich Gram positiver vor allem *Listeria monocytogenes*, für die insbesondere Wiederkäuer ein Reservoir darstellen. Weitere Krankheitserreger, wie z.B.

Clostridium perfringens und *Staphylococcus aureus*, kommen als Kontaminanten auf Fleisch und Fleischerzeugnissen vor und sind hauptsächlich wegen ihrer Toxinbildung gefürchtet. Rohwurst ist ein Erzeugnis, welches zwar bei guter Herstellungspraxis keine Vermehrung von pathogenen Mikroorganismen zulässt, jedoch werden diese nicht immer vollständig eliminiert. Dies wurde z.B. auch in der EU-Verordnung über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel berücksichtigt, in der die Untersuchung auf *L. monocytogenes* in verzehrfertigen Lebensmitteln im Rahmen der betrieblichen Eigenkontrolle vorgeschrieben ist (Verordnung der Europäischen Kommission 2073/2005). Hierbei darf bei Lebensmitteln, die keine Vermehrung von *L. monocytogenes* begünstigen, innerhalb der angegebenen Haltbarkeit ein Warnwert von 100 Keimen/g nicht erreicht werden. Daher wird seitens der Fleisch verarbeitenden Industrie mit technologischen Maßnahmen angestrebt, solche unerwünschten Bakterien im Produkt zu eliminieren bzw. so weit wie möglich deren Anzahl zu minimieren.

Bei der Rohwurstherstellung wird dem Produkt zu Konservierungszwecken Nitrit zugesetzt. Die

Zugabe von Nitritpökelsalz soll dabei das Wachstum von pathogenen Bakterien inhibieren. Allerdings liegen kaum wissenschaftlich fundierte Daten über die tatsächliche Wirkung von Nitrit auf fleischrelevante Gram positive Problemkeime wie *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* und *Staphylococcus aureus* vor.

Obwohl der Zusatz von Nitrit in Form von Nitritpökelsalz oder Natriumnitrat bei vielen Fleischerzeugnissen allgemein üblich ist, eröffnet „Nitrit“ aus Sicht der Fleischwirtschaft ein größeres Problemfeld. Verbraucher befürchten eine gesundheitsschädliche Wirkung v.a. hinsichtlich einer möglichen Nitrosamin-Belastung. Daher streben die Hersteller eine Reduktion der Menge an Nitrit in den Rohwürsten auf ein notwendiges Minimum an. So könnten sie einerseits dem Wunsch des Verbrauchers nach Minimierung von Zusatzstoffen in Lebensmitteln nachkommen. Andererseits muss aber die mikrobiologische Sicherheit der Produkte gewährleistet sein, so dass meist nicht gänzlich auf einen Einsatz von Nitritpökelsalz verzichtet werden kann.

Vor diesem Hintergrund ist es von großer Bedeutung und Ziel des Forschungsvorhabens, i) den tatsächlichen Effekt von Nitrit in verschiedenen Rohwurstprodukten (kurzgereifte streichfähige Rohwurst, schnellgereifte Rohwurst mit GDL-Zusatz, langgereifte schnittfähige Rohwurst und schimmelpilzgereifte Rohwurst) auf verschiedene Gram positive Problemkeime zu untersuchen, ii) die Wirkung von Nitrit auf Gram positive Pathogene unter dem erforderlichen Einbezug multifaktorieller, für die Rohwurstherstellung relevanter Parameter, wie a_w -Wert, pH-Wert und Temperatur, und iii) die Wirkung von Nitrit auf die Bakterienzelle auf molekularbiologischer Ebene zu analysieren. Diese Studien sind eine wichtige Voraussetzung, um i) die den Rohwurstprodukten zugegebene Nitritmenge auf ein gewünschtes Mindestmaß zu reduzieren und ii) Rezepturen bzw. Reifungsbedingungen so anzupassen, dass die zugegebene Nitritmenge möglichst effektiv wirken kann. Auf Grundlage der in diesem Vorhaben erzielten Ergebnisse sollten Empfehlungen für die Praxis eine sichere Produktion von fermentierten Rohwursterezeugnissen gegeben werden.

Forschungsergebnis:

Das Überleben der pathogenen Bakterien *L. monocytogenes*, *S. aureus* und *C. perfringens* in kurzgereifter streichfähiger Rohwurst, schnellge-

reifter Rohwurst (GDL), langgereifter schnittfähiger Rohwurst und schimmelpilzgereifter Rohwurst wurde in Abhängigkeit von der dem Brät zugegebenen Nitritmenge (150 ppm, 100 ppm, 50 ppm und 0 ppm) systematisch in Challengeversuchen analysiert. Es konnte hierbei gezeigt werden, dass Nitrit nicht gleich effektiv auf alle Bakterien wirkt, und dass sich die Wirkung von Produkt zu Produkt unterscheidet. Dennoch können aus den Versuchen allgemeine Empfehlungen abgeleitet werden. Für die Herstellung von kurzgereifter, streichfähiger Rohwurst wird zur mikrobiologischen Stabilisierung die Zugabe von mind. 50 bis 100 mg/kg und für die Herstellung von langgereifter schnittfester sowie von Edelschimmelpilz gereifter Rohwurst eine Mindestkonzentration von 50 mg/kg Natriumnitrit empfohlen. Einzig bei der Herstellung der GDL-gereiften Produkte könnte auf den Einsatz von Natriumnitrit verzichtet werden. Hier bewirkt die schnelle Ansäuerung des Produkts unabhängig von der eingesetzten Nitritkonzentration ein schnelles Absterben der Bakterien innerhalb der ersten Reifetage.

Für die molekularbiologischen Analysen wurde als Modellkeim *L. monocytogenes* verwendet, da dieser Keim die höchste Mortalitätsrate der Lebensmittelpathogenen verursacht und häufig in Rohwursterezeugnissen nachgewiesen wird. Es konnten verschiedenste Angriffspunkte für das Nitrit in der Zielzelle identifiziert werden. Eine Übertragung der erhaltenen Ergebnisse auf weitere Gram positive Infektionserreger war im Rahmen dieses Vorhabens nicht möglich, da ein Zusatz von Nitrit ähnlich wie bei den *In-situ*-Versuchen bei jeder Keimart unterschiedliche Effekte zur Folge hatte.

Weiterhin konnte im Hochdurchsatzverfahren der Einfluss von Natriumnitrit auf das Wachstumsverhalten von *L. monocytogenes* EGDe unter Einbezug weiterer für die Rohwurstherstellung wichtiger Parameter (Temperatur, pH-Wert, Osmolarität, Sauerstoffverfügbarkeit) analysiert werden. Das Screening von 300 Wachstumsbedingungen ergab, dass die effektivste inhibitorische Wirkung von Nitrit auf das Wachstum von *L. monocytogenes* in Kombination mit einem Absenken des pH-Wertes beobachtet werden konnte. Eine solche pH-Wert-Absenkung wäre daher auch im Rohwurstprodukt sinnvoll. Hierfür wurden während des Projektes erste Versuche in einer langgereiften schnittfesten Rohwurst unter Einsatz einer alternativen schnell-säuernenden Starterkultur in Kombination mit einer angepassten Rezeptur und Reifungsbedingungen

durchgeführt. In diesen Versuchen wurde die gewünschte schnellere Ansäuerung und somit eine erhöhte mikrobiologische Sicherheit ohne negativen Einfluss auf die sensorischen Eigenschaften des Produktes erreicht. Mit der in den Versuchen angewendeten Kombination der technologischen Hürden (Einsatz der alternativen Starterkultur, Zusatz von 100 mg/kg Natriumnitrit) waren nach dem 18. Reifetag keine *Listeria*-Zellen mehr quantitativ im Produkt nachweisbar. Weiterhin konnte unter Verwendung der alternativen Starterkultur und Berücksichtigung weiterer technologischer Hürden ein mikrobiologisch sicheres Produkt hergestellt werden, bei welchem das Nitrat-Reservoir auf pflanzlicher Basis in Form von Brennesselextrakt zugesetzt wurde. Bei korrekter Deklaration des nitrathaltigen Pflanzenextraktes und Einhaltung der zugelassenen Nitrat-Grenzwerte im Produkt wird ein solches Produkt möglicherweise von kritischen Verbrauchern besser als Produkte mit Nitritpökelsalz-Zusatz akzeptiert.

Wirtschaftliche Bedeutung:

In der Fleisch verarbeitenden Industrie wird ein jährlicher Nettoumsatz von ca. 16 Mrd. € erwirtschaftet. So wurden in 2009 in Deutschland 429.339 Tonnen Rohwurst mit einem Wert von etwa 2,2 Mrd. Euro hergestellt. Dabei machte der Anteil der Rohwurstproduktion etwa ein Drittel der Gesamtproduktion von Wursterzeugnissen aus (BVDF, 2011). Die Angebotsvielfalt umfasst bei Rohwursterzeugnissen mehr als 600 unterschiedliche Sorten. Der Rohwurstverzehr lag 2009 bei durchschnittlich 5,4 kg Rohwurst pro Kopf, was etwa 18 % des Pro-Kopf-Verzehrs an Wurst und sonstigen Fleischerzeugnissen in Deutschland entspricht (DFV, 2011). Die aufgeführten Produktions- und Umsatzzahlen belegen den großen Stellenwert der Rohwurst-Produktgruppe in Deutschland.

Diese Sparte der Fleischverarbeitung des Ernährungsgewerbes ist besonders durch die hohe Anzahl von KMU geprägt: Die durchschnittliche Mitarbeiteranzahl lag 2009 je Betrieb bei 60 Personen (BVDF, 2011). Solche mittelständischen Unternehmen können sich kosten- und zeitintensive Challengeversuche, wie sie im Rahmen des Projektes durchgeführt wurden, nicht leisten. Eine Erforschung der Wirkung von Nitrit auf molekularbiologischer Ebene ist für solche Unternehmen ebenfalls aus Kosten-, aber auch aus Personalgründen nicht möglich. Jedoch sind Kenntnisse über solche Vorgänge für diese Betriebe

essentiell, um gezielt in Reifungsprozesse eingreifen zu können.

Bis auf wenige Ausnahmen, z.B. unter strikt ökologischen Kriterien hergestellten Produkten, werden Rohwürste mit Zusatz von Nitritpökelsalz hergestellt. Da Verbraucher gerade hinsichtlich chemischer Lebensmittelzusatzstoffe besonders sensibilisiert sind, können die Ergebnisse aus diesem Forschungsvorhaben den Betrieben klare Empfehlungen an die Hand geben, wie viel Nitritpökelsalz zur Herstellung von fermentierten Rohwurstprodukten technisch notwendig sind, um ein mikrobiologisch sicheres und einwandfreies Produkt zu gewährleisten. Sichere Produkte stärken das Verbrauchervertrauen und minimieren kostenintensive Rückrufaktionen.

Im Vergleich zu 2008 fiel 2009 die Rohwurstproduktion um 1,4 %, der Preis je Kilogramm Rohwurst stieg um 2,7 % (BVDF, 2011). Die fallenden Produktionszahlen verdeutlichen den starken Wettbewerb in dieser Branche. Unter diesem Gesichtspunkt ist es für die einzelnen Betriebe umso wichtiger, nicht durch kontaminierte Produkte in Verruf zu geraten, da dies im Zweifelsfall wirtschaftliche Folgen bis zur Insolvenz zur Folge haben kann. Daneben entsteht bei einer möglichen Rückrufaktion der Schaden nicht nur für den betroffenen Betrieb. In einem solchen Fall meidet der Verbraucher das Produkt unabhängig vom Hersteller, so dass unter Umständen alle Rohwurst erzeugenden Unternehmen Umsatzeinbußen hinnehmen müssen.

Der Einsatz von Pflanzen-/Gemüsekonzentraten als Nitritersatzstoffe wird derzeit zwar kontrovers diskutiert. Ein Bedarf an Nitritersatzstoffen besteht jedoch weiterhin, daher sind mittelfristig hierfür Regelungen bzw. Zulassungen zu erwarten. Bei Anpassung der technologischen Hürden können Rohwürste auch dann sicher hergestellt werden, wenn auf den Einsatz von Natriumnitrit als Konservierungsstoff verzichtet wurde und stattdessen Produkte auf pflanzlicher Basis zum Einsatz kommen.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2011.
2. Kabisch, J., Pichner, R., Kaspar, D., Wüstner, S., Müller, S., Scherer, S. und Gareis, M.: Analysis for optimisation of the mincing process. *Fleischwirt.* 92 (2), 93-99 (2012).
3. Pichner, R., Kaspar, D., Wüstner, S., Müller, S., Scherer, S. und Gareis, M.: Wirkung von Nitrit auf Gram positive Infektionserreger in

- Rohwurstzeugnissen. Mitt. Fleischforsch. Kulmbach 194, 215-228 (2011).
4. Kaspar, D., Wüstner, S., Eder, D., Kabisch, J., Pichner, R., Gareis, M., Scherer, S. und Müller, S.: Nitrite induced gene expression in *Listeria monocytogenes*. Vortrag 1st Intern. Symp. Fermented Meats, Freising, 13.-16.04.2011 (2011).
 5. Kabisch, J., Kaspar, D., Wüstner, S., Kador, M., Pichner, R., Müller, S., Scherer, S. und Gareis, M.: Wirkung von Nitrit auf Gram positive Infektionserreger in Rohwurstzeugnissen. Vortrag 51. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der DVG, 28.09.-01.10.2010, Garmisch-Partenkirchen. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, Sonderausgabe 17, 60 (2010).

Weiteres Informationsmaterial:

Max-Rubner-Institut (MRI)
Bundesforschungsinstitut für Ernährung und
Lebensmittel,
Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie
E.-C.-Baumannstr. 20, 95326 Kulmbach
Tel.: +49 9221 803-220
Fax: +49 9221 803-331
E-Mail: rohtraud.pichner@mri.bund.de

Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- u. Lebensmittel-
forschung, Abteilung Mikrobiologie
Weihenstephaner Berg 3
85354 Freising-Weihenstephan
Tel.: +49 8161 71-3516
Fax: +49 8161 71-4492
E-Mail: siegfried.scherer@wzw.tum.de
E-Mail: stefanie.mueller@wzw.tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:

