

4 ERGEBNISSE

4.1 Überprüfung der physiologischen und biochemischen Reaktionen der Sammlungsstäme

Für die Bakteriengruppen, die laut Literatur als psychrotrophe Fleischmikroflora eine Rolle spielen können, wurden Testbestecke aus physiologischen und biochemischen Reaktionen zusammengestellt, welche eine einfache Identifizierung der Genera bzw. Spezies ermöglichen sollten. Mit Hilfe dieser zeigten sich bei den Referenzstämmen die folgenden Reaktionen.

4.1.1 Physiologische und biochemische Eigenschaften der Referenz- und Wildstäme

Die physiologischen und biochemischen Resultate der Überprüfung der Sammlungsstäme sind in der Anhangstab. 1 dargestellt. In Tab. 21 wird die Aussagekraft der eingesetzten "Bunten Reihe" aufgezeigt.

4.1.1.1 Gram-negative Sammlungsstäme

Familie *Aeromonadaceae*

Die beiden als *Aeromonas hydrophila* in die Institutssammlung aufgenommenen Gram-negativen, Oxidase-positiven Stämme zeigten die typischen Reaktionsmuster der Spezies des Genus *Aeromonas*. Sie waren in der Lage, Glukose oxidativ und fermentativ abzubauen, jedoch nicht, Säure aus myo-Inosit zu produzieren und die Aminosäure L-Ornithin zu decarboxylieren. Da sie außerdem Säure aus L-Arabinose bildeten und im Voges-Proskauer-Test (VP) positiv reagierten, konnte die Spezieszuordnung als *Aeromonas hydrophila* bestätigt werden.

Strikt aerob wachsende, Oxidase-positive, bewegliche Stäbchen

Familie *Alcaligenaceae*

Alcaligenes (Alc.) faecalis ssp. *faecalis* DSM 30030^T, *Alc. faecalis* 17 und *Achromobacter (Achr.) xylosoxidans* spp. *denitrificans* DSM 30026^T, drei beweg-

lichen Stämme, welche Oxidase- und Katalase-positiv reagierten und auf PCA kein Pigment bildeten, waren nicht in der Lage, Glukose oxidativ oder fermentativ unter Säurebildung abzubauen, H₂S zu bilden oder Gelatine zu verflüssigen. Die Stämme *Achr. xylooxidans* ssp. *denitrificans* DSM 30026^T sowie *Alc. faecalis* 17 konnten Nitrat reduzieren. Somit sollte letzterer Stamm nicht als *Alc. faecalis*, sondern nach weiteren zusätzlichen Untersuchungen neu eingeordnet werden.

Shewanella putrefaciens

Beide als *Shewanella putrefaciens* in die Sammlung aufgenommenen Stämme konnten als Oxidase- und Katalase-positiv reagierende, bewegliche Bakterien H₂S bilden sowie Gelatine verflüssigen und Nitrat zu Nitrit reduzieren. Im Oxidations-Fermentations-Medium (OF-Medium) nach HUGH und LEIFSON fand kein Abbau der Glukose unter Säurebildung statt.

Pseudomonas (Ps.) spp.

Alle Sammlungsstämme des Genus *Pseudomonas* waren bewegliche, Oxidase- und Katalase-positive Stämme, welche Glukose im OF-Medium oxidativ abbauten, Citrat (Simmons-Citrat) als einzige Kohlenstoffquelle verwerteten und Säure aus L(+)-Arabinose bilden konnten. Negativ reagierten sämtliche Stämme in folgenden Reaktionen: H₂S-Bildung, Phenylalanindeaminierung, Indol-Bildung, VP-Reaktion, Methylrotreaktion (MR) und Wachstum bei 42°C. Die *Ps. fluorescens*- und *Ps. putida*-Stämme konnten bis auf *Ps. putida* Ps 79 Maltose nicht unter Säurebildung verwerten, wobei *Ps. putida* DSM 291^T und DSM 50222 außerdem D-Ribose nicht unter Säurebildung abbauten. *Ps. fragi* DSM 3456^T und *Ps. lundensis* CCUG 18757^T unterschieden sich in ihrem Verhalten, D-Xylose als einzige Kohlenstoffquelle nutzen zu können. Der *Ps. fragi*-Stamm war dazu in der Lage, der *Ps. lundensis*-Stamm jedoch nicht. Der als *Ps. putida* in die Stammsammlung aufgenommene Stamm Ps 79 erwies sich nach den durchgeführten Untersuchungen als der Spezies *Ps. fragi* zugehörig.

Familie *Moraxellaceae*

Acinetobacter (A.) spp.

Die Oxidase-negativen *Acinetobacter*-Stämme waren alle unbeweglich und reagierten Katalase-positiv sowie in der VP- und MR-Reaktion negativ. Die Stämme

A. calcoaceticus CCUG 19095^T und *A. haemolyticus* CCUG 888^T verwerteten Glukose oxidativ im OF-Medium und wuchsen sowohl bei 25°C als auch bei 37°C. *A. haemolyticus* CCUG 888^T zeigte zudem noch ein Hämolyseverhalten auf Blutagar sowie die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen. *A. johnsonii* CCUG 12804^T war der einzige *Acinetobacter*-Sammlungsstamm, welcher nicht bei 37°C wachsen konnte. *A. Iwoffii* CCUG 33984^T und *A. Iwoffii* Psy 14 vermehrten sich sowohl bei 4 und 25°C als auch bei 37°C, konnten aber Glukose nicht unter Säurebildung im OF-Medium verwerten.

Psychrobacter (Pb.) spp.

Pb. immobilis CCUG 9708^T, LMG 1125 und *Pb. phenylpyruvicus* CCUG 352^T stellten sich als Oxidase- und Katalase-positive, unbewegliche, nicht Pigmente bildende Stäbchen dar, welche zudem VP- und MR-negativ reagierten, aber in der Lage waren, Nitrat zu reduzieren. Im Gegensatz zu den *Pb. immobilis*-Stämmen war der geprüfte *Pb. phenylpyruvicus*-Stamm nicht fähig, Glukose unter aeroben Bedingungen zu verwerten.

Familie *Enterobacteriaceae*

In die Familie der *Enterobacteriaceae* waren 23 Stämme aufgenommen worden, welche alle Glukose im OF-Medium oxidativ und fermentativ abbauten sowie Oxidase-negativ reagierten und Nitrat reduzierten. Mit Hilfe des Identifizierungsschlüssels, welcher für die psychrotrophen Vertreter dieser Familie erstellt wurde, konnten die Zuordnungen zu den Spezies weitgehend bestätigt werden. Lediglich der Stamm *Enterobacter cloacae* En 70 war nach dem Identifizierungsschlüssel ein Stamm der Spezies *Citrobacter freundii* oder *Pantoea agglomerans*. *Enterobacter hafniae* En 68 wurde mit dem Schlüssel als *Hafnia alvei* identifiziert und der Stamm *Enterobacter liquefaciens* En 72 als *Serratia liquefaciens*. Der Stamm *Enterobacter liquefaciens* 522/90 stellte sich nach seinem Reaktionsverhalten als *Yersinia enterocolitica*-Stamm dar.

4.1.1.2 Gram-positive Sammlungsstämme

Brochothrix (B.) thermosphacta

Die Stämme *B. thermosphacta* ATCC 11509^T und 1a reagierten wie folgt: Katalase-positiv, unbeweglich, oxidativer und fermentativer Abbau von Glukose im OF-Medium, kein Wachstum bei 37°C.

Lactobacillus (L.) spp. und *Leuconostoc (Lc.) mesenteroides*

Die Stämme *L. curvatus* ssp. *curvatus* CCUG 31333 und *L. sakei* DSM 20017^T sowie *Lc. mesenteroides* DSM 20241 stellten sich im Gram-Präparat als Gram-positive Stäbchen dar, welche auf dem MRS-S-Nährboden gut sichtbare Kolonien bildeten. Alle drei Stämme reagierten Katalase-negativ und waren unbeweglich.

Da die aus dem Hackfleisch isolierten Milchsäurebakterien, bestehend aus Laktobazillen sowie anderen Gram-positiven Stäbchen (z.B. *Weissella*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*), im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter differenziert werden sollten, waren aus diesem Grund nur zwei Laktobazillus-Stämme und ein Stamm der Spezies *Leuconostoc mesenteroides* als Vertreter dieser Gruppe in die Prüfung aufgenommen worden.

Kurthia (K.) spp.

K. gibsonii DSM 20636^T und *K. zopfii* DSM 20580^T sind die Spezies des Genus *Kurthia*, die als psychrotrophe Bakterien im Fleisch eine Rolle spielen können. Sie stellten sich als Gram-positive, bewegliche Stäbchen dar, welche Katalase-positiv und VP-negativ reagierten. Da *Kurthia* nur verzögert Säure aus Glukose bilden kann, war bei beiden Stämmen der OF-Test mit Glukose negativ.

Listeria (List.) monocytogenes

List. monocytogenes DSM 20600^T und 691 stellten sich als Gram-positive, bewegliche Stäbchen dar, welche Katalase- und VP-positiv reagierten. Glukose wurde im OF-Medium oxidativ und fermentativ unter Säurebildung abgebaut.

Tab. 21: Aussagekraft der "Bunten Reihe" für psychrotrophe Bakterien

Speziesbezeichnung (laut Kultursammlung) (Anzahl der Stämme)	Speziesidentifikation (nach der "Bunten Reihe" für psychrotrophe Mikroorganismen)	
I. Familie Aeromonadaceae		
2 <i>Aeromonas hydrophila</i>	2 <i>Aeromonas hydrophila</i>	✓
II. strikt aerob wachsende Oxidase-positive bewegliche Stäbchen		
2 <i>Alcaligenes faecalis</i>	1 <i>Alcaligenes faecalis</i> 1 <i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	✓ ?
1 <i>Achr. xyl. denitrificans</i>	1 <i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	✓
2 <i>Shewanella putrefaciens</i>	2 <i>Shewanella putrefaciens</i>	✓
3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	3 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	✓
3 <i>Pseudomonas putida</i>	2 <i>Pseudomonas putida</i> 1 <i>Pseudomonas fragi</i>	✓ ?
1 <i>Pseudomonas fragi</i>	1 <i>Pseudomonas fragi</i>	✓
1 <i>Pseudomonas lundensis</i>	1 <i>Pseudomonas lundensis</i>	✓
III. Familie Moraxellaceae		
1 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1 <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	✓
1 <i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1 <i>Acinetobacter haemolyticus</i>	✓
1 <i>Acinetobacter johnsonii</i>	1 <i>Acinetobacter johnsonii</i>	✓
2 <i>Acinetobacter lwoffii</i>	2 <i>Acinetobacter lwoffii</i>	✓
3 <i>Psychrobacter</i> spp.	3 <i>Psychrobacter</i> spp.	✓
IV. Familie Enterobacteriaceae		
3 <i>Citrobacter</i> spp.	3 <i>Citrobacter</i> spp.	✓
3 <i>Enterobacter aerogenes</i>	3 <i>Enterobacter aerogenes</i>	✓
3 <i>Enterobacter cloacae</i>	2 <i>Enterobacter cloacae</i> 1 <i>Cb. freundii</i> oder <i>Pantoea agglomerans</i>	✓ ?
1 <i>Enterobacter hafniae</i>	1 <i>Hafnia alvei</i>	✓
2 <i>Enterobacter liquefaciens</i>	1 <i>Serratia liquefaciens</i> 1 <i>Y. enterocolitica</i>	✓ ?
3 <i>Hafnia alvei</i>	3 <i>Hafnia alvei</i>	✓
1 <i>Klebsiella pn. pneumoniae</i>	1 <i>Klebsiella pn. pneumoniae</i>	✓
1 <i>Klebsiella oxytoca</i>	1 <i>Klebsiella oxytoca</i>	✓
2 <i>Proteus mirabilis</i>	2 <i>Proteus mirabilis</i>	✓
1 <i>Proteus vulgaris</i>	1 <i>Proteus vulgaris</i>	✓
2 <i>Serratia marcescens</i>	2 <i>Serratia marcescens</i>	✓
1 <i>Yersinia enterocolitica</i>	1 <i>Yersinia enterocolitica</i>	✓

⇒ Die entwickelte "Bunte Reihe" für psychrotrophe Bakterien erschien geeignet zur Überprüfung der psychrotrophen Hackfleischmikroflora.

4.1.2 Physiologische und biochemische Eigenschaften der Isolate aus Hackfleisch

Zur Prüfung der physiologischen und biochemischen Eigenschaften gelangten insgesamt 419 Bakterienstämme. Aus 40 Proben der Hackfleischsorte Rindergehacktes waren 103 Stämme (RG 1-103), aus 50 Proben Schabefleisch 105 Stämme (SF 1-105), aus 40 Proben Schweinegehacktes 102 Stämme (SG 1-102) und aus 45 Proben Gemischtes Hackfleisch (Rind und Schwein gemischt) 109 Stämme (RS 1-109) isoliert worden. Die Identifizierung erfolgte nach den Genus- bzw. spezies-typischen Charakteristika. In den Anhangstab. 2 bis 7 sind die Reaktionsmuster der Stämme, gelistet nach Bakteriengruppen, dargestellt.

4.1.2.1 Gram-positive Isolate aus Hackfleisch

Von den insgesamt 419 aus vier verschiedenen Hackfleischsorten isolierten Bakterienstämmen waren 159 Stämme Gram-positiv. 84 stellten sich als Katalase-negative Stämme heraus, welche in der Lage waren, auf dem modifizierten Lactobacillus-Agar nach DE MAN, ROGOSA und SHARPE (MRS-S-Agar) gut sichtbare Kolonien zu bilden. Dabei handelte es sich um eine heterogene Gruppe von Bakterien, zu denen Laktobazillen-, Pediokokken- und *Leuconostoc*-Isolate gehörten. Nicht erfaßt wurden Vertreter des Genus *Carnobacterium*, welche auf diesem Nährboden nicht oder nur schwach zu wachsen vermögen.

60 Stämme der Gram-positiven Flora erwiesen sich als *Brochothrix thermosphacta*. Die Katalase-negativen Stäbchen waren unbeweglich und wuchsen nicht bei 37°C. Auf dem Streptomycin-Inosit-Neutralrot-Agar (SIN-Agar) zeigten sie ein deutliches Koloniewachstum, was als Bestätigungsreaktion angesehen wurde.

4 Hackfleischisolate stellten sich als Gram-positive Kokken in Haufenform dar, welche im Katalase-Test positiv reagierten und D(+)-Glukose oxidativ abbauten. Da sie außerdem weder in der Lage waren, Nitrat zu Nitrit abzubauen, noch im Voges-Proskauer-Test positiv zu reagieren, wurden sie als Mikrokokken eingestuft.

Der Stamm RG 82 war eine Hefe.

10 weitere Stämme waren Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen, welche nicht weiter differenziert werden konnten.

4.1.2.2 Gram-negative Isolate aus Hackfleisch

Der Familie der *Aeromonadaceae* konnte allein der Stamm SF 65 zugeordnet werden. Das Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen zeigte die physiologischen und biochemischen Reaktionen, welche für die Spezies *Aeromonas hydrophila* typisch sind (Anhangstab. 2).

Zu der Gruppe der **Gram-negativen, strikt aeroben, Oxidase-positiven, beweglichen Stäbchen** zählten 174 Hackfleischisolate. Die 169 *Pseudomonas* spp. (Anhangstab. 3, A) wuchsen auf den Nährböden GSP und CFC und konnten aufgrund ihrer Fähigkeit des oxidativen Abbaus von Glukose, der Simmons-Citrat-Verwertung und Säurebildung aus L(+)-Arabinose sowie ihrer Unfähigkeit, H₂S zu bilden, bei 42°C zu wachsen, Phenyldeaminase zu bilden, Indol zu produzieren und bei der VP- und Methylrotreaktion positiv zu reagieren, diesem Genus zugeordnet werden. Als *Ps. fragi* erwiesen sich 101 Stämme, da sie neben der Säurebildung aus Maltose und Ribose außerdem D(-)-Xylose als einzige Kohlenstoffquelle verwerten konnten. Im Gegensatz dazu waren 22 Stämme nicht in der Lage, D(-)-Xylose umzusetzen und konnten als *Ps. lundensis* identifiziert werden. 44 Stämme wurden anhand ihrer Fähigkeit, Ribose unter Säurebildung zu spalten, Maltose jedoch nicht, der Spezies *Ps. fluorescens* zugeordnet. Schließlich wurden 2 Stämme isoliert, welche weder aus Maltose noch aus Ribose Säure bilden konnten. Sie wurden der Spezies *Ps. putida* zugeordnet.

Der einzige Vertreter der *Alcaligenaceae* war der Stamm SF 104 (Anhangstab. 3, B). Als Gram-negatives, kokkoides Stäbchen konnte es im OF-Testnährboden nach HUGH und LEIFSON (1953) D(+)-Glukose weder oxidativ noch fermentativ abbauen. H₂S-Bildung und Gelatinase-Aktivität waren negativ. Da der Stamm zudem nicht in der Lage war, Nitrat zu Nitrit abzubauen, wurde er als *Alcaligenes faecalis* eingeordnet.

4 weitere Stämme verhielten sich alle spezieskonform zu *Shewanella putrefaciens* (Anhangstab. 3, C). Sie bauten D(+)-Glukose weder oxidativ noch fermentativ ab. Sie waren neben der Bildung von H₂S und Gelatinase außerdem in der Lage, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. Nur bei der Verwertung von Simmons-Citrat zeigte der Stamm SG 22 eine untypische positive Reaktion.

In die Familie der **Moraxellaceae** gehörten 34 Stämme der Hackfleischisolate. 17 von ihnen stellten sich als Gram-negative, Oxidase-negative, unbewegliche Stämme dar, die im OF-Testnährboden D(+)-Glukose nicht oder oxidativ abbauten. Außerdem zeigten sie eine negative VP- und Methylrot-Reaktion. Von diesen 17 *Acinetobacter*-Stämmen (Anhangstab. 4, A) ließen sich 10 phänotypisch nicht weiter differenzieren. Als *A. Iwoffii* erwiesen sich 3 Stämme aufgrund ihres Unvermögens, bei 37°C zu wachsen und Simmons-Citrat zu verwerten. Die Stämme SF 67 und RS 58 wuchsen nicht bei 37°C, waren jedoch in der Lage, Simmons-Citrat zu verwerten. Es handelte sich dabei um *A. johnsonii*-Stämme. Der Stamm SG 48 wurde als *A. calcoaceticus* identifiziert, da er neben dem Wachstum bei 37°C und der Simmons-Citratverwertung außerdem Säure aus Glukose bilden konnte. Die Hämolyse auf dem Humanblutagar sowie die Gelatinase-Bildung des Stammes SG 60 wiesen ihn als *A. haemolyticus* aus.

Die weiteren 17 Stämme der Familie *Moraxellaceae* gehörten dem Genus *Psychrobacter* an (Anhangstab. 4, B). Als Gram-negative, teilweise kokkoide, Oxidase-positive Stäbchen konnten sie D(+)-Glukose nicht oder oxidativ unter Säurebildung abbauen. Sie waren unbeweglich und bildeten kein Pigment. Die VP- und Methylrotreaktion fiel in allen Fällen negativ aus.

Zu der Familie der **Enterobacteriaceae** konnten 23 Stämme der Hackfleischisolate gezählt werden (Anhangstab. 5). Die Gram-negativen, Oxidase-negativen Stämme bauten D(+)-Glukose sowohl oxidativ als auch fermentativ unter Säurebildung im OF-Testnährboden ab und konnten nach dem Identifizierungsschlüssel für die psychrotrophen *Enterobacteriaceae* (Tab. 19) folgenden Spezies zugeteilt werden: 10 Stämme wurden als *Serratia liquefaciens*, 5 Stämme als *Serratia plymuthica*, 5 weitere Stämme als *Pantoea agglomerans*, 2 Stämme als *Hafnia alvei* und 1 Stamm als *Enterobacter aerogenes* identifiziert.

Die 23 Stämme, welche als Vertreter der Familie **Flavobacteriaceae** (Anhangstab. 6) zugeordnet werden konnten, waren Gram-negative, Oxidase-positive, unbewegliche Stäbchen, welche D(+)-Glukose im OF-Testnährboden entweder gar nicht oder oxidativ unter Säurebildung abbauten. Außerdem zeigten 20 Stämme eine Pigmentbildung beim Wachstum auf dem Plate-Count-Agar von gelb über orange bis orange-braun und rötlich-braun.

Mit den verwendeten Identifizierungsschemata konnten 5 Gram-negative Hackfleischisolate nicht ausreichend identifiziert werden (Anhangstab. 7).

4.2 Verteilung der psychrotrophen Hackfleischisolate

4.2.1 Psychrotrophe Keimzahlen der vier Hackfleischsorten

Die Keimzahlen der vier Hackfleischsorten sind in der Anhangstab. 8 dargestellt. Die Mittelwerte der Logarithmen der psychrotrophen Keimzahlen von jeweils 5 Einzelproben einer Charge erstreckten sich bei Rindergehacktem in der Spannweite von 4,57 bis 5,89 \log_{10} (lg) KbE/g, beim Schabefleisch von 4,65 bis 6,47 lg KbE/g, bei Schweinegehacktem von 4,24 bis 6,18 lg KbE/g und bei Gemischtem Hackfleisch (Rind und Schwein) von 4,48 bis 6,44 lg KbE/g. Vergleicht man die psychrotrophen Keimzahlen der vier Hackfleischsorten direkt miteinander (Tab. 22), nachdem die Mittelwerte über die Chargen (x_C) einer Sorte gebildet worden sind, so sind kaum Unterschiede zwischen den Hackfleischsorten zu verzeichnen. Rindergehacktes war im Durchschnitt mit 5,23 lg KbE/g, Schabefleisch mit 5,37 lg KbE/g, Schweinegehacktes mit 5,22 lg KbE/g und Gemischtes Hackfleisch mit 5,33 lg KbE/g mit psychrotrophen Bakterien belastet.

4.2.2 Quantitativer Vergleich der psychrotrophen mit den mesophilen Gesamtkeimzahlen

Der Vergleich der psychrotrophen Gesamtkeimzahlen (pGKZ) mit den mesophilen Gesamtkeimzahlen (mGKZ), welche parallel zu den hier beschriebenen Untersuchungen ermittelt wurden, ist in Abb. 7 dargestellt. Die Unterschiede zwischen psychrotrophen und mesophilen Keimzahlen sowohl innerhalb einer Hackfleischsorte als auch im Vergleich der Sorten untereinander waren nur gering (Tab. 22). Bei allen vier Sorten waren die Mittelwerte über die Chargen (x_C) der pGKZ unwesentlich größer als die Mittelwerte der mGKZ.

Tab. 22: Vergleich der psychrotrophen mit den mesophilen Keimzahlen der vier Hackfleischsorten (Mittelwerte über die Chargen, [lg KbE/g])

	x_C	s	Min	Median	Max
Psychrotrophe Gesamtkeimzahl					
Rindergehacktes	5,23	0,44	4,57	5,20	5,89
Schabefleisch	5,37	0,57	4,65	5,26	6,47
Schweinegehacktes	5,22	0,72	4,24	5,39	6,18
Gemischtes Hackfleisch	5,33	0,69	4,48	5,14	6,44
Mesophile Gesamtkeimzahl					
Rindergehacktes	5,06	0,48	4,36	5,18	5,68
Schabefleisch	5,11	0,44	4,55	5,02	5,69
Schweinegehacktes	5,08	0,64	4,07	5,33	5,67
Gemischtes Hackfleisch	5,19	0,54	4,56	5,03	6,22

x_C : Mittelwert über die Chargen einer Sorte; Min: Minimum; Max: Maximum;
s: Standardabweichung

Für die graphische Darstellung quantitativer Relationen einer Produktgruppe bzw. des Vorkommens einer Bakterienspezies eignet sich das Prinzip des Boxplots. Die daraus abzulesenden Bewertungsmaßstäbe sind aus der zusammenfassenden Darstellung des Auswertungsprinzips abzulesen (Abb. 6).

Ein Boxplot kann wie folgt beschrieben werden (Abb. 6): Die Box stellt den Interquartilbereich mit 50% der Werte dar. Die von der Box ausgehenden Linien führen jeweils bis zum höchsten und niedrigsten Wert, der nicht weiter als die 1,5fache Interquartilsbreite vom 1. bzw. 3. Quartil entfernt ist, ohne Ausreißer und Extremwerte zu berücksichtigen. Ausreißer stellen dabei Fälle mit Werten dar, die zwischen 1,5 und 3 Boxenlängen vom unteren (1. Quartil) und oberen (3. Quartil) Rand der Box entfernt sind. Extremwerte sind Fälle

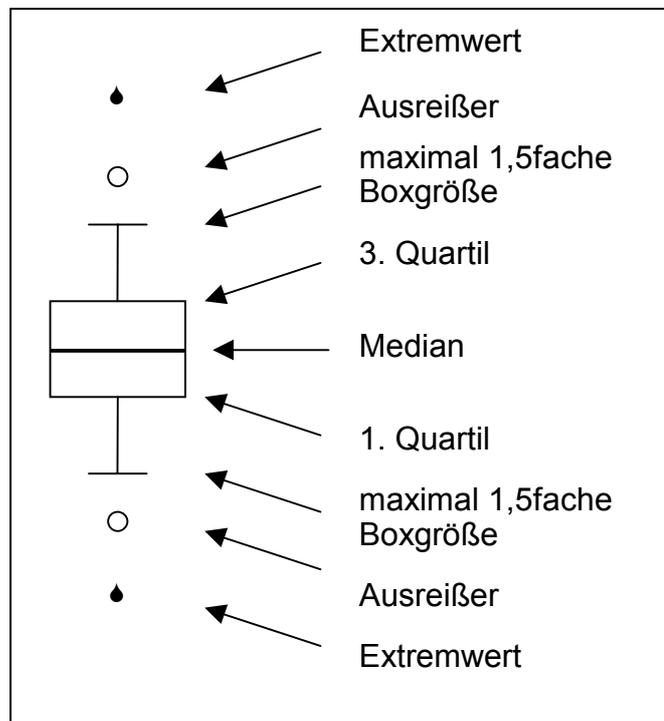


Abb. 6: Darstellung eines Boxplots (Beschreibung siehe Text)

mit Werten, die mehr als 3 Boxenlängen von dem unteren oder oberen Rand der Box entfernt sind. Die quer über die Box gelegte Linie gibt die Lage des Median wieder.

Aus der Abb. 7 sind die Lagemaße (Mediane, Quartile, Maxima und Minima) sowie Streuungsmaße (Spannweite, Quartilsabstand) für die pGKZ und mGKZ zu erkennen. Die Boxplot-Darstellung ermöglicht eine zusammenfassende Abbildung dieser Werte und bietet damit viele Informationen auf einen Blick. Sie macht deutlich, daß Schweinegehacktes die größte Spannweite mit dem größten Quartilsabstand aufwies mit nur geringen Unterschieden zwischen den psychrotrophen und mesophilen Keimzahlen. Die Median-Werte lagen höher als bei den drei anderen Hackfleischsorten.

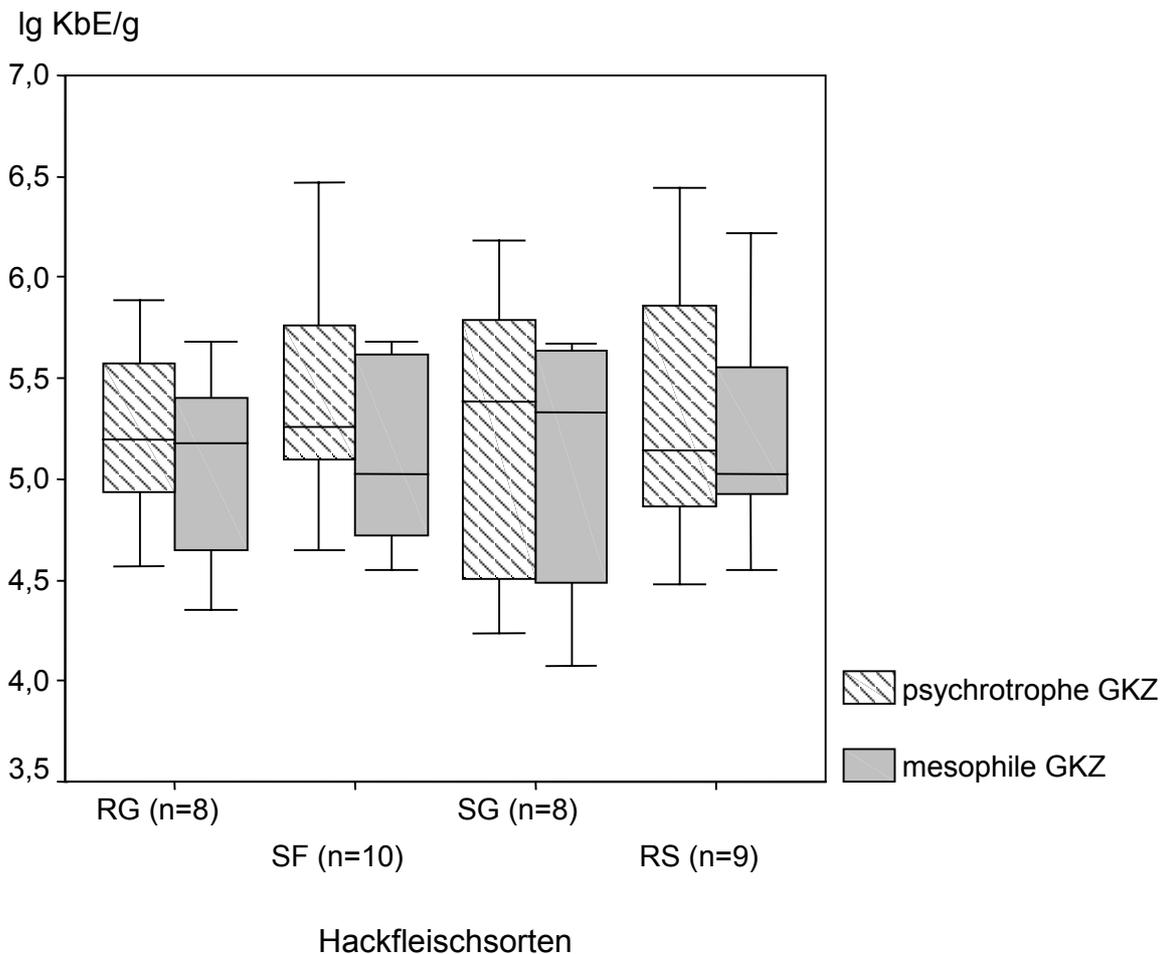


Abb. 7: Vergleich der psychrotrophen* mit den mesophilen** Keimzahlen der vier Hackfleischsorten (n=Chargenanzahl) [lg KbE/g]

* : Wachstum 5°C, ** : Wachstum 30°C; RG: Rindergehacktes, SF: Schabefleisch, SG: Schweinegehacktes, RS: Gemischtes Hackfleisch (Rind und Schwein); GKZ: Gesamtkeimzahl

Anhand der Bewertungskriterien zu den mikrobiologischen Untersuchungen von Hackfleisch nach Anlage 2a der FIHV mußte eine Charge von Gemischtem Hackfleisch als "nicht zufriedenstellend" eingestuft werden. In 4 Proben dieser Charge lagen die aeroben Keimzahlen (30°C) zwischen dem Toleranzbereich des Richtwertes 3m von $1,5 \times 10^6$ KbE/g und dem Grenzwert M von $5,0 \times 10^6$ KbE/g.

4.2.3 Quantitativer Vergleich zwischen den Gram-positiven und den Gram-negativen psychrotrophen Mikrofloraanteilen

Die quantitativen Untersuchungsergebnisse des Vergleiches der Gram-positiven und Gram-negativen Flora in den vier Hackfleischsorten sind in der Tab. 23 und der Abb. 8 dargestellt. Daraus geht hervor, daß die Gram-positive Flora in der Sorte Schabefleisch über die Gram-negative Flora dominierte. Der Mittelwert, der aus den einzelnen Chargenmittelwerten über alle Chargen (x_C) gebildet wurde, lag bei 5,19 lg KbE/g (Median 5,20 lg KbE/g). Für die Gram-negativen Bakterien betrug x_C dagegen 4,51 lg KBE/g (Median 4,42 lg KbE/g). Bei den Sorten Rindergehacktes und Gemischtes Hackfleisch war das Verhältnis leicht in Richtung der Gram-positiven Flora mit x_C von 4,96 bzw. 5,01 lg KbE/g (Mediane 4,93 bzw. 5,04 lg KbE/g) gegenüber der Gram-negativen Flora verschoben. In der Hackfleischsorte Schweinegehacktes waren die Unterschiede nur gering, wobei in 5 der 8 Chargen die Gram-negative Flora dominierte.

Aus der graphischen Darstellung (Abb. 8) wird ersichtlich, daß bei allen vier Hackfleischsorten die Spannweiten der Gram-positiven und Gram-negativen Flora nur gering differierten. Die Interquartilsbereiche, d.h. 50% aller Werte, der Gram-positiven und Gram-negativen Flora nahmen bei den Sorten, mit Ausnahme des Schabefleisches, in etwa die gleiche Größe ein. Nur beim Schabefleisch bewegten sich 50% der Werte der Gram-positiven Flora über einen wesentlich kleineren Bereich als die der Gram-negativen Flora.

Tab. 23: Vergleich der Verteilung der Gram-positiven und der Gram-negativen Flora in den vier Hackfleischsorten (Mittelwerte über die Chargen)

	x_C	s_C	Min	Median	Max
Gram-positive Bakterien					
Rindergehacktes	4,96	0,54	4,24	4,93	5,86
Schabefleisch	5,19	0,66	4,20	5,20	6,41
Schweinegehacktes	4,75	0,83	3,53	5,00	5,70
Gemischtes Hackfleisch	5,01	0,74	3,88	5,04	6,11
Gram-negative Bakterien					
Rindergehacktes	4,69	0,47	3,88	4,71	5,17
Schabefleisch	4,51	0,72	3,41	4,42	5,61
Schweinegehacktes	4,93	0,74	4,08	4,89	6,02
Gemischtes Hackfleisch	4,90	0,79	4,05	4,70	6,17

x_C : Mittelwert über die Chargen einer Sorte; Min: Minimum; Max: Maximum;
 s_C : Standardabweichung der Mittelwerte der Chargen

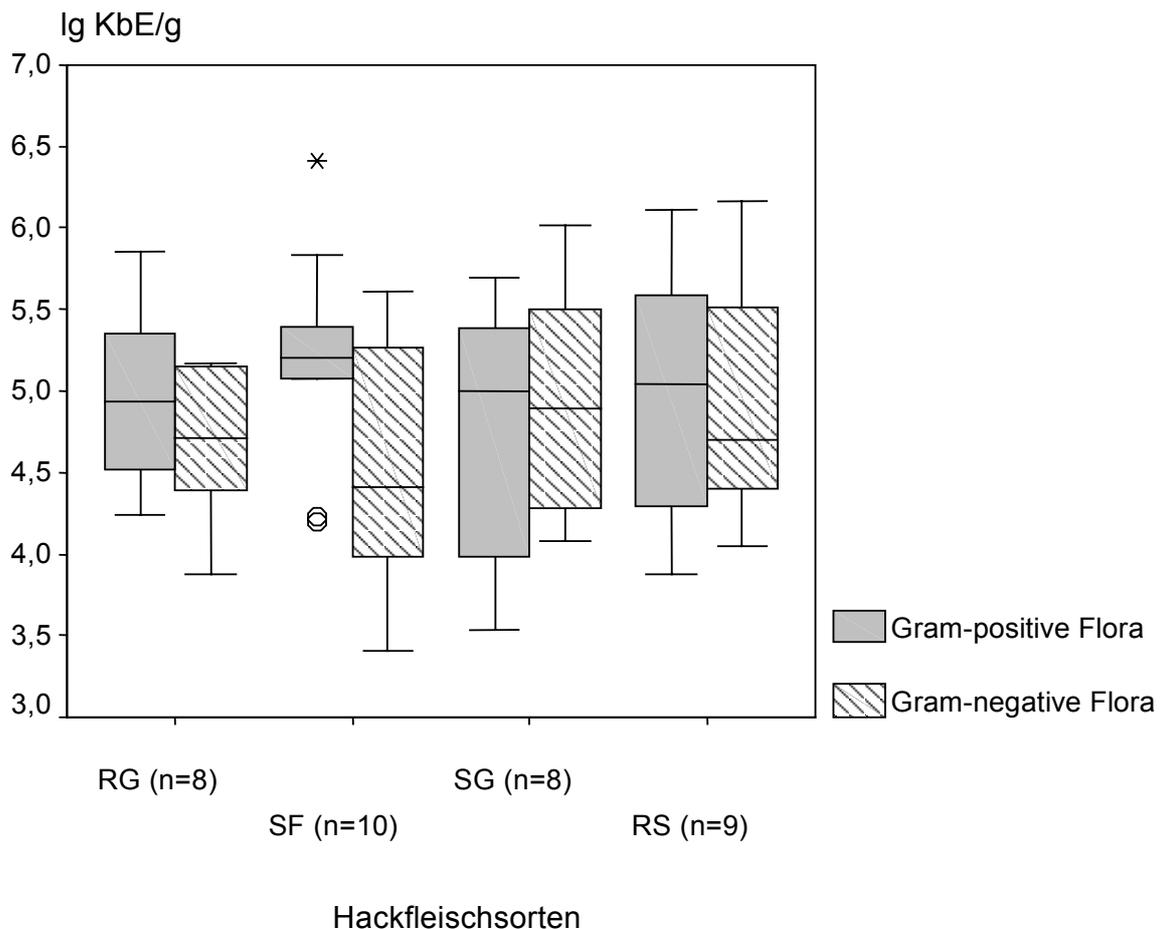


Abb. 8: Vergleich der Gram-positiven und der Gram-negativen Flora in den vier Hackfleischsorten (n=Chargenanzahl) [lg KbE/g]
 RG: Rindergehacktes, SF: Schabefleisch, SG: Schweinegehacktes, RS: Gemischtes Hackfleisch (Rind und Schwein)

4.2.4 Gesamtüberblick der qualitativen und quantitativen Verteilung der psychrotrophen Hauptkomponenten nach Hackfleischsorten

4.2.4.1 Rindergehacktes

Die quantitativen Anteile der Hauptkomponenten der psychrotrophen Hackfleischmikroflora an der pGKZ in % sowie die Häufigkeit ihres Auftretens insgesamt in den Chargen sind für 8 Chargen Rindergehacktes in den Tab. 24 und 25 dargestellt. Die Tab. 24 liefert eine Gesamtübersicht über die Zusammensetzung der Keimflora in Rindergehacktem. Es konnten 12 unterschiedliche Keimgruppen identifiziert werden. Diese sind in Tab. 25 in der Reihenfolge ihrer prozentualen Nachweishäufigkeit aufgeführt. Die Pseudomonaden erreichten die Nachweishäufigkeit von 100% und waren mit Anteilen an der pGKZ von 1,5 bis 79,4% beteiligt. Daraus ergibt sich ein arithmetisches Mittel von 25% Anteil an der pGKZ. Auf diese Weise wurden für alle Keimgruppen die durchschnittlichen Anteile an der pGKZ berechnet und in Tab. 25 aufgeführt. Auf die Pseudomonaden folgten Milchsäurebakterien und *Brochothrix thermosphacta* mit einer Nachweishäufigkeit von jeweils 87,5% und durchschnittlichen Anteilen an der pGKZ von 50,7% bzw. 21,0%. Vertreter der *Flavobacteriaceae* konnten in 6 Chargen nachgewiesen werden, d.h. mit einer Häufigkeit von 75% und einem Anteil an der pGKZ von 2,3%. Es folgten *Psychrobacter* spp. in 5 Chargen (62,5%), *Enterobacteriaceae* in 4 Chargen (50%) und *Acinetobacter* spp. in 3 Chargen (37,5%). Die durchschnittlichen Anteile an der pGKZ lagen bei 9,6%, 2,3% und 5,5%. Die übrigen Keimgruppen (Nachweis in einer Charge) spielten nur eine untergeordnete Rolle. In einer Charge (VII) traten Hefen mit einem Anteil von 2,0% an der Chargenflora auf. Der durchschnittliche Anteil der Gram-positiven Flora an der Gesamtkeimzahl betrug 63,4%. Die Gram-negativen Bakterien hatten einen durchschnittlichen Anteil von 36,4% an der Gesamtflora.

Tab. 24: Quantitative Anteile der Hauptkomponenten der psychrotrophen Hackfleischmikroflora an der psychrotrophen Gesamtkeimzahl in % sowie Häufigkeit des Auftretens insgesamt in den Chargen*

in Rindergehacktem

Keimgruppen	Quantitative Anteile in Chargen (Ch) in %								Häufigkeit in Ch n
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
Gram-negative Bakterien	46,3	5,6	34,4	21,1	37,1	20,0	88,6	38,0	$\bar{x} = 36,4$
<i>Pseudomonas</i> spp.	39,6	1,5	6,3	10,9	21,8	5,5	79,4	35,3	8
<i>Enterobacteriaceae</i>			1,0			5,8	0,5	1,7	4
<i>Psychrobacter</i> spp		1,4	23,1	4,6	13,1	5,8			5
<i>Flavobacteriaceae</i>		1,0	2,5	5,6		2,9	0,5	1,0	6
<i>Acinetobacter</i> spp.	6,7		1,5				8,2		3
<i>Shewanella putrefaciens</i>					2,2				1
GnOpS		0,8							1
GnOnS		0,9							1
Gram-positive Bakterien	53,7	94,4	65,6	78,9	62,9	80,0	9,4	62,0	$\bar{x} = 63,4$
Milchsäurebakterien	34,1	79,7	44,8	12,9	57,3	80,0		46,0	7
<i>B. thermosphacta</i>	14,4	14,7	20,8	66,0	5,6		9,4	16,0	7
GpKpS	5,2								1
Hefe							2,0		1
Gruppen/Charge	5	7	7	5	5	5	6	5	

* : nach Maßgabe der eingesetzten Methode (unterer Grenzwert $10^3/g$)

GnOpS: Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen

GnOnS: Gram-negative, Oxidase-negative Stäbchen

GpKpS: Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen

n: Anzahl der Chargen, in der die Gruppe gefunden wurde; \bar{x} : Mittelwert

Die Ergebnisse der quantitativen Verteilung der im Rindergehacktem am häufigsten gefundenen Keimgruppen sind in Abb. 9 dargestellt. Es wurden dabei die Mittelwerte aus den Logarithmen der 5 Einzelproben einer Charge gebildet und als lg KbE/g angegeben. Bei der Betrachtung der einzelnen Keimgruppen wird deutlich, daß in 6 von 8 Chargen eine Keimgruppe von Gram-positiven Bakterien die höchsten Keimzahlwerte aufwies. So waren die Milchsäurebakterien mit Keimzahlwerten von 4,31 bis 5,78 lg KbE/g vertreten und wurden nur in Charge VII nicht nachgewiesen. *Brochothrix thermosphacta* trat in Größenordnungen von 3,80 bis 5,06 lg KbE/g auf und war nur in Charge VI nicht nachweisbar. In Charge I nahmen

Pseudomonas spp. mit 4,71 lg KbE/g und in Charge VII mit 5,11 lg KbE/g die erste Stellung unter den Keimgruppen ein. In diesen beiden Chargen waren auch die *Acinetobacter* spp. mit relativ hohen Keimzahlen von 3,91 lg KbE/g in Charge I und 4,09 lg KbE/g in Charge VII vertreten. In Charge III, V und VI gehörten die *Psychrobacter* spp. mit 4,01, 4,69 bzw. 3,35 lg KbE/g zu den Keimgruppen, die nach Zusammenstellung in Reihenfolge der Keimzahlgrößen, auf den Plätzen 2 bis 3 lagen. In 6 der 8 Chargen sind *Flavobacteriaceae* mit 2,82 bis 3,88 lg KbE/g nachgewiesen worden. Neben den meist vertretenen Keimgruppen traten in Charge I außerdem die Keimgruppen Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen in einer Menge von 3,79 lg KbE/g, in Charge II Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen in einer Menge von 3,76 lg KbE/g und Gram-negative, Oxidase-negative Stäbchen von 3,82 lg KbE/g auf. *Shewanella (Shew.) putrefaciens* konnte mit 3,93 lg KbE/g in Charge V gefunden werden. Die Charge VII von Rindergehacktem war die einzige Charge, in der Hefen nachgewiesen werden konnten, 3,17 lg KbE/g.

Tab. 25: Übersicht über alle Keimgruppen in der Reihenfolge ihrer prozentualen Nachweishäufigkeit in Rindergehacktem (8 Chargen)

	Häufigkeit des Auftretens in Chargen		Quantitative Anteile an der psychrotrophen Gesamtkeimzahl in %		
	n	H (%)	Maximum	Minimum	Mittelwert _C
<i>Pseudomonas</i> spp.	8	100,0	79,4	1,5	25,0
Milchsäurebakterien	7	87,5	80,0	12,9	50,7
<i>B. thermosphacta</i>	7	87,5	66,0	5,6	21,0
<i>Flavobacteriaceae</i>	6	75,0	5,6	0,5	2,3
<i>Psychrobacter</i> spp.	5	62,5	23,1	1,4	9,6
<i>Enterobacteriaceae</i>	4	50,0	5,8	0,5	2,3
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	37,5	8,2	1,5	5,5
GpKpS	1	12,5	5,2	5,2	5,2
<i>Shew. putrefaciens</i>	1	12,5	2,2	2,2	2,2
Hefe	1	12,5	2,0	2,0	2,0
GnOnS	1	12,5	0,9	0,9	0,9
GnOpS	1	12,5	0,8	0,8	0,8

GnOpS: Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen

GnOnS: Gram-negative, Oxidase-negative Stäbchen

GpKpS: Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen

n: Anzahl positiver Chargen; H (%): prozentuale Nachweishäufigkeit; Mittelwert_C: Mittelwert des prozentualen Anteils an der psychrotrophen Gesamtkeimzahl über die Chargen

In 7 von 8 Chargen dominierte die Gram-positive über die Gram-negative Flora (Abb. 10) mit Keimzahlen von 4,46 bis 5,86 lg KbE/g. In der von Gram-negativen Bakterien dominierten Charge mit 5,17 lg KbE/g wies die Gram-positive Flora eine Keimzahl von 4,24 lg KbE/g auf.

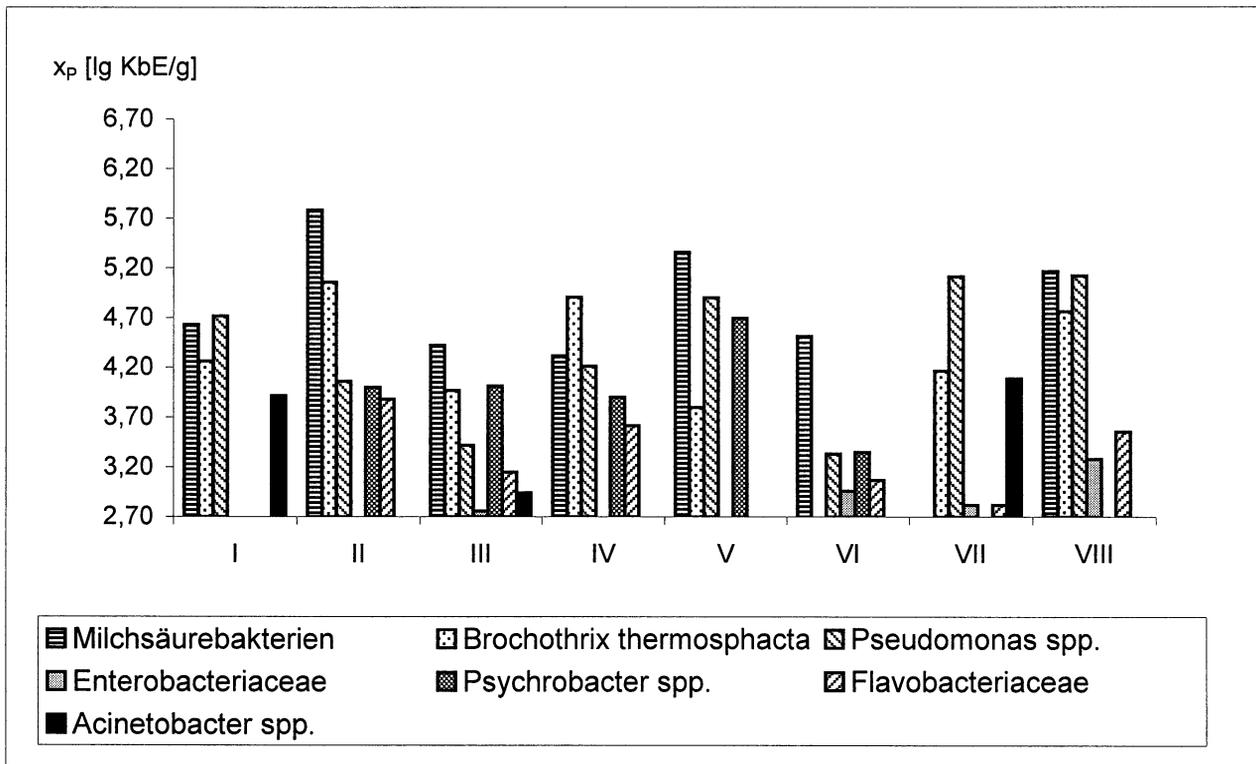


Abb. 9: Quantitative Verteilung der psychrotrophen Hauptkomponenten in Rindergehacktem (Chargen I-VIII); x_p : Mittelwert der Logarithmen der Einzelproben

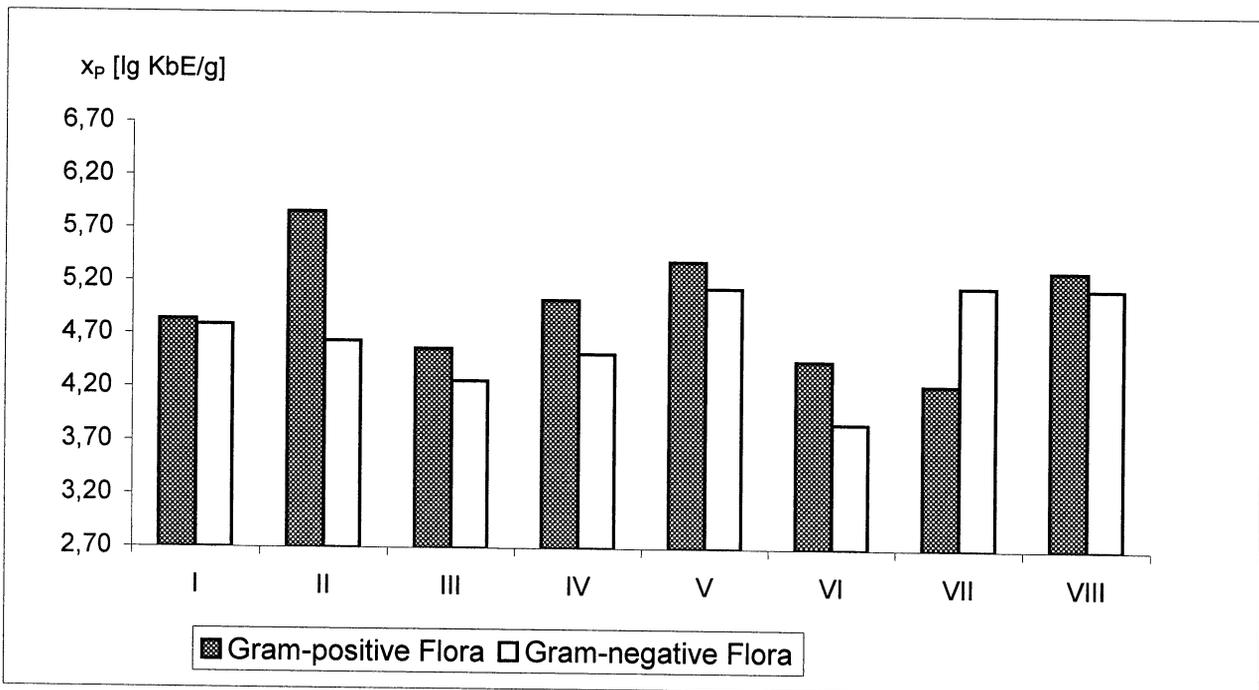


Abb. 10: Vergleich der Quantitäten der psychrotrophen Gram-positiven zur Gram-negativen Flora in Rindergehacktem (Chargen I-VIII); x_p : Mittelwert der Logarithmen der Einzelproben

4.2.4.2 Schabefleisch

Aus den Tab. 26 und 27 wird ersichtlich, daß in 10 Chargen Schabefleisch 12 verschiedene Keimgruppen nachgewiesen werden konnten, von denen die Pseudomonaden mit einer Nachweishäufigkeit von 100% (10 Chargen) am häufigsten auftraten, dicht gefolgt von den Milchsäurebakterien mit 90% und *Brochothrix (B.) thermosphacta* mit 80%. Die durchschnittlichen Anteile an der pGKZ betragen bei den Pseudomonaden 21,6%, bei den Milchsäurebakterien 64,0% und *B. thermosphacta* 12,2%. Bakterien der Familie *Flavobacteriaceae* kamen in 4 von 10 Chargen (40%) und einem durchschnittlichen Anteil an der pGKZ von 1,4% vor. *Enterobacteriaceae* waren in 3 Chargen (30%) und *Acinetobacter* spp. in 2 Chargen aufgetreten. Weitere Keimgruppen wiesen nur noch eine Häufigkeit von 10% auf, darunter auch *Aeromonas hydrophila* mit einem Anteil von 0,5% an Gesamtflora der Charge VII. *Alcaligenes* spp. waren mit einem Anteil von 2,9% in der Charge X nachgewiesen worden. Der durchschnittliche Anteil der Gram-positiven Flora an der pGKZ betrug 73,5%. Die Gram-negativen Bakterien hatten einen durchschnittlichen Anteil von 25,5% an der psychrotrophen Gesamtflora.

In Abb. 11 sind die quantitativen Werte der am häufigsten gefundenen Keimgruppen im Schabefleisch als Mittelwerte, gebildet aus den Logarithmen der 5 Einzelproben einer Charge, dargestellt. In 7 von 10 Chargen waren die Milchsäurebakterien die Keimgruppe, die bei Betrachtung der Gruppen in der Reihenfolge ihrer Quantität die erste Position einnahmen. Sie konnten in Größenordnungen von 3,90 bis 6,41 lg KbE/g nachgewiesen werden. In Charge X gehörten sie nicht zu den am häufigsten nachgewiesenen Keimgruppen. In den Chargen I, IX und X wiesen *Pseudomonas* spp. von allen Keimgruppen die höchsten Keimzahlen mit 4,28, 5,59, bzw. 4,41 lg KbE/g auf. In allen anderen Chargen waren *Pseudomonas* spp. auch vertreten, und zwar in Größenordnungen von 2,82 bis 5,20 lg KbE/g. *Brochothrix thermosphacta* wurde in 8 der 10 Chargen mit Keimzahlen von 2,96 bis 4,86 lg KbE/g nachgewiesen. In 3 Chargen, in denen *Enterobacteriaceae* zu den häufigsten Keimgruppen gehörten, erreichten diese Werte von 4,00 bis 5,00 lg KbE/g. Von den untersuchten Schabefleischchargen zeigte nur die Charge VII *Aeromonas hydrophila* mit einem Mittelwert der Logarithmen der 5 Einzelproben von 2,88 lg KbE/g. In dieser Charge konnte *Aeromonas hydrophila*

bei einer unteren Nachweisgrenze von 10^3 KbE/g in 3 Proben nachgewiesen werden. Vertreter der *Flavobacteriaceae* spielten in 4 von 10 Chargen mit Keimzahlen von 2,76 bis 3,41 lg KbE/g ebenso wie *Acinetobacter* spp., nachgewiesen in 2 Chargen mit 3,15 bzw. 3,31 lg KbE/g, nur eine untergeordnete Rolle. *Psychrobacter* spp. kam sogar nur in Charge I zu den häufig nachgewiesenen Keimgruppen mit 3,33 lg KbE/g dazu. Außerdem nur in einer Charge auftretend, waren die Keimgruppen Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen (3,47 lg KbE/g), Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen (3,00 lg KbE/g), Gram-negative, Oxidase-negative Stäbchen (3,76 lg KbE/g) und *Alcaligenes* spp. (3,04 lg KbE/g) zu nennen.

Tab. 26: Quantitative Anteile der Hauptkomponenten der psychrotrophen Hackfleischmikroflora an der psychrotrophen Gesamtkeimzahl in % sowie Häufigkeit des Auftretens insgesamt in den Chargen*

im Schabefleisch

Keimgruppen	Quantitative Anteile in Chargen (Ch) in %										Häufigk. in Ch n
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	
Gram-neg. Bakterien	61,2	3,7	12,5	5,2	11,9	16,3	5,0	9,3	71,3	58,9	\bar{x} 25,5
<i>Pseudomonas</i> spp.	44,5	3,7	12,2	5,2	6,8	10,3	0,5	9,3	68,3	54,7	10
<i>Enterobacteriaceae</i>					5,1	6,0			2,0		3
<i>Psychrobacter</i> spp	5,0										1
<i>Flavobacteriaceae</i>	1,5		0,3				1,7			1,3	4
<i>Acinetobacter</i> spp.	10,2						1,4				2
<i>Aeromonas hydrophila</i>							0,5				1
<i>Alcaligenes</i> spp.										2,9	1
GnOpS							0,9				1
GnOnS									1,0		1
Gram-pos. Bakterien	38,8	86,3	87,5	94,8	88,1	83,7	95,0	90,7	28,7	41,1	\bar{x} 73,5
Milchsäurebakterien	21,0	79,0	86,7	85,9	88,1	82,4	90,5	90,7	16,1		9
<i>B. thermosphacta</i>	10,8	17,3	0,8	8,9		1,3	4,5		12,6	41,1	8
GpKpS	7,0										1
Gruppen/Charge	7	3	4	3	3	4	7	2	5	4	

* : nach Maßgabe der eingesetzten Methode (unterer Grenzwert 10^3 /g)

GnOpS: Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen

GnOnS: Gram-negative, Oxidase-negative Stäbchen

GpKpS: Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen

Häufigk.: Häufigkeit

n: Anzahl der Chargen, in der die Gruppe gefunden wurde

In 7 von 10 Chargen dominierte die Gram-positive über die Gram-negative Flora (Abb. 12) mit Keimzahlen von 5,08 bis 6,41 lg KbE/g. In den 3 übrigen Chargen konnte die Gram-negative Flora mit Keimzahlen von 4,41, 4,44 und 5,61 lg KbE/g dominieren.

Tab. 27: Übersicht über alle Keimgruppen in der Reihenfolge ihrer prozentualen Nachweishäufigkeit im Schabefleisch (10 Chargen)

	Häufigkeit des Auftretens in Chargen		Quantitative Anteile an der psychrotrophen Gesamtkeimzahl in %		
	n	H (%)	Maximum	Minimum	Mittelwert _C
<i>Pseudomonas</i> spp.	10	100	68,3	0,5	21,6
Milchsäurebakterien	9	90	90,7	16,1	64,0
<i>B. thermosphacta</i>	8	80	41,1	0,8	12,2
<i>Flavobacteriaceae</i>	4	40	1,7	0,3	1,4
<i>Enterobacteriaceae</i>	3	30	6,0	2,0	4,4
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	20	10,2	1,4	5,8
GpKpS	1	10	7,0	7,0	7,0
<i>Psychrobacter</i> spp.	1	10	5,0	5,0	5,0
<i>Alcaligenes</i> spp.	1	10	2,9	2,9	2,9
GnOnS	1	10	1,0	1,0	1,0
GnOpS	1	10	0,9	0,9	0,9
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	10	0,5	0,5	0,5

GnOpS: Gram-negative, Oxidase-positive Stäbchen

GnOnS: Gram-negative, Oxidase-negative Stäbchen

GpKpS: Gram-positive, Katalase-positive Stäbchen

n: Anzahl positiver Chargen; H (%): prozentuale Nachweishäufigkeit; Mittelwert_C: Mittelwert des prozentualen Anteils an der pGKZ über die Chargen

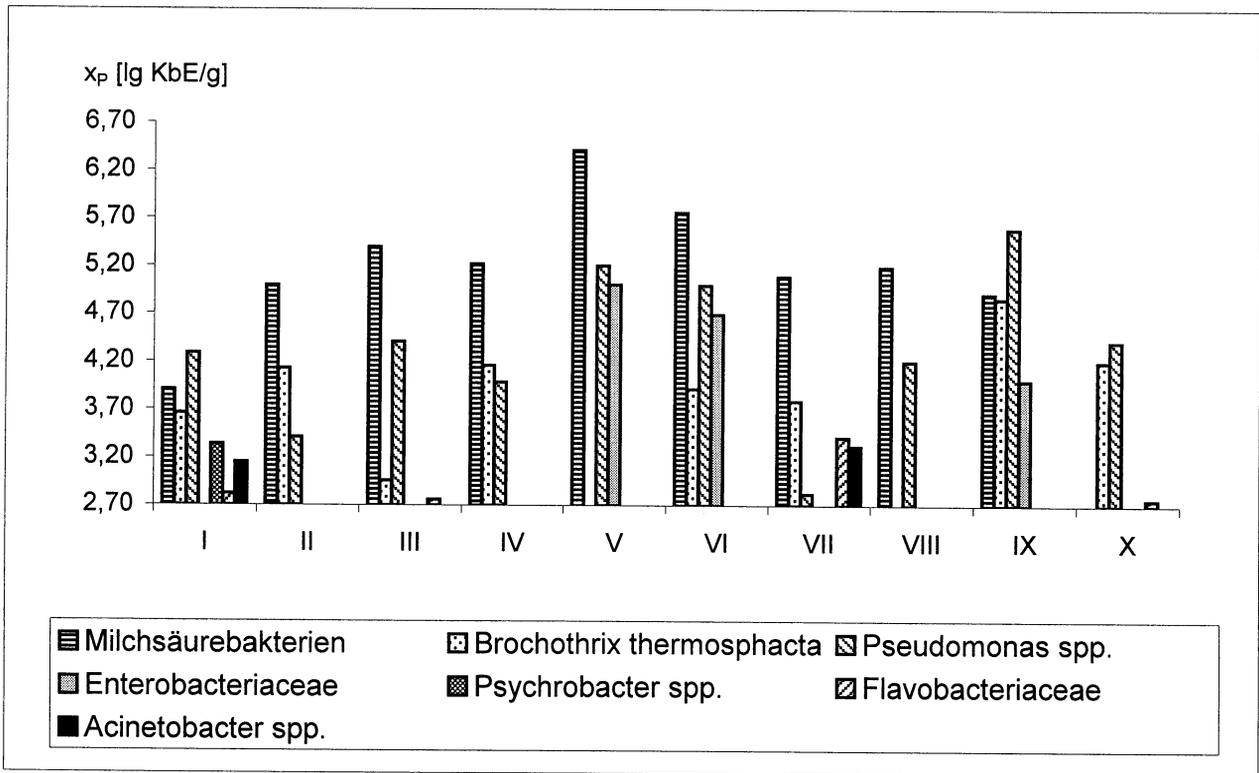


Abb. 11: Quantitative Verteilung der psychrotrophen Hauptkomponenten im Schabefleisch (Chargen I-X); x_p : Mittelwert der Logarithmen der Einzelproben

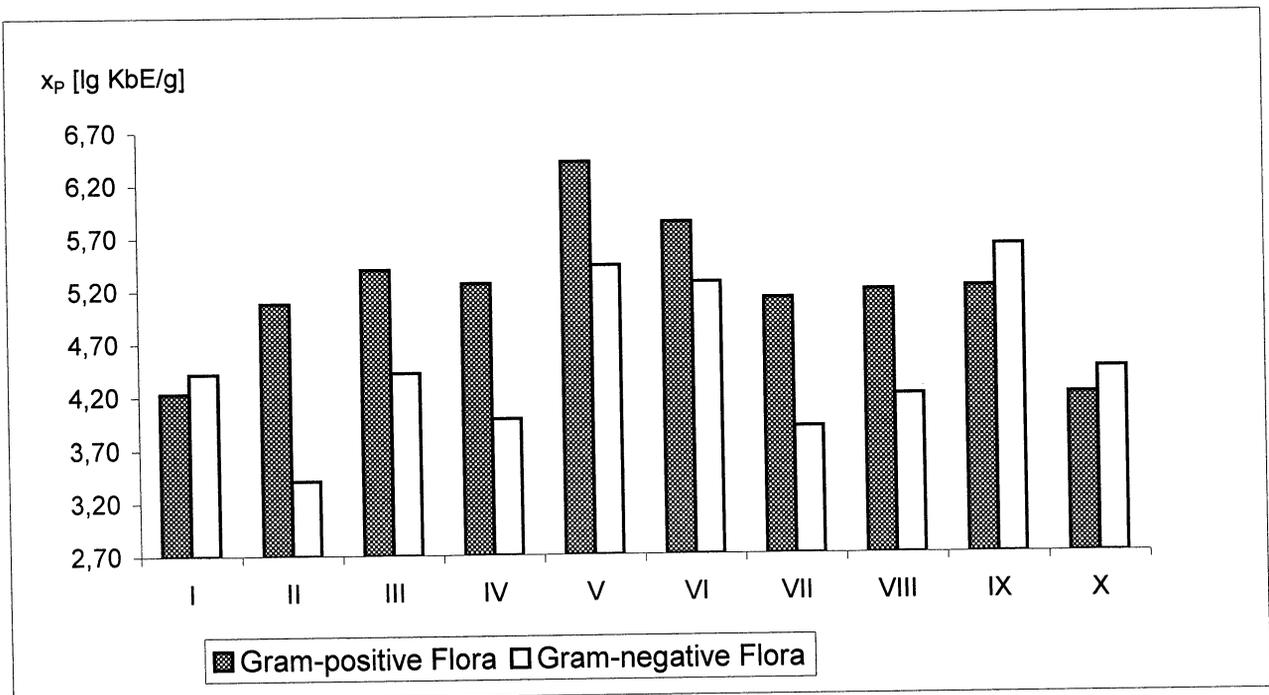


Abb. 12: Vergleich der Quantitäten der psychrotrophen Gram-positiven zur Gram-negativen Flora im Schabefleisch (Chargen I-X); x_p : Mittelwert der Logarithmen der Einzelproben