

1 EINLEITUNG

EU-weit ist die Erzeugung von Regenbogenforellen in Aquakulturen von 1984 bis 1992 um 54 % auf 205.000 t angewachsen. Diese Zahlen illustrieren die gestiegene ökonomische Bedeutung dieses Produktionszweiges. Eine wichtige Angebotsform stellen geräucherte Forellen dar, die überwiegend als vakuumverpackte filetierte Ware in den Verkehr gebracht werden.

Nach Maßgabe der Entscheidung 94/356/EG, in nationales Recht umgesetzt durch die Fischhygiene-Verordnung, sind in Fischereierzeugnisse herstellenden und behandelnden Betrieben betriebseigene Kontrollen in Form eines HACCP-Konzeptes gesetzlich vorgeschrieben. Solche Kontrollen umfassen aber nur einen Teilabschnitt der vom Erzeuger bis zum Verbraucher reichenden Produktstrecke. Eine optimale Produktsicherheit erfordert eine Abfolge ineinander greifender, longitudinal integrierter QS-Systeme, d.h. in eine effektive Stufenverantwortung müssen Handel und Verkauf einbezogen werden.

Mit Inkrafttreten der Verordnung über Lebensmittelhygiene (LMHV) vom 05.08.1997 wurde die Verpflichtung zur Erstellung von Eigenkontrollkonzepten auf die Verkaufsebene ausgedehnt. Für leicht verderbliche Lebensmittel, wie beispielsweise geräucherte Forellenfilets, bei denen zudem stets mit dem Vorkommen von Lebensmittelinfektions- und -intoxikationserregern zu rechnen ist, bildet die Einhaltung der Kühlkette entsprechend den vorgegebenen Temperaturen den entscheidenden Kontrollpunkt (CP), der anhand eines funktionierenden Eigenkontrollsystems zu überprüfen ist.

Die folgenden Untersuchungen sollen dazu beitragen, das durch unsachgemäße Kühlung auf Handelsebene entstehende lebensmittelhygienische Risiko abzuschätzen. Zu diesem Zweck wurde zunächst das Qualitätsniveau von vakuumverpackten geräucherten Forellenfilets auf Produktions-, Großhandels- und Einzelhandelsebene ermittelt sowie durch Langzeitmessungen die Lagertemperaturen in Verkaufskühlmöbeln erfaßt. Anschließend wurden Modellversuche durchgeführt mit dem Ziel, den Einfluß unterschiedlicher Lagerbedingungen auf die Produktqualität sowie das Wachstumsverhalten insbesondere der pathogenen Mikroflora zu beschreiben.

2 **SCHRIFTTUM**

2.1 **Prozeßstufen der Räucherfischherstellung**

Geräucherte Forellenfilets gehören zu der Gruppe der heißgeräucherten Fischerzeugnisse, die zur charakteristischen Farbgebung und Aromatisierung mit Rauch behandelt und bei einer Kerntemperatur von über 60 °C gegart werden (ANONYMOUS, 1999). Abb. 1 zeigt die Prozeßstufen der Heißräucherung anhand eines Fließschemas.

Als Rohmaterial dienen frische oder aufgetaute Forellen, die nach entsprechender Vorbehandlung (Entschuppen, Säubern) zur Festigung des Fischfleisches und zur Geschmacksgebung in eine 10 %ige Salzlake eingelegt werden. Danach werden die Forellen auf Räucherspieße („Spitten“) gezogen, auf Abstand gebracht („gezottelt“) und in Hordenwagen eingehängt. Anschließendes Verweilen vor dem Einbringen in den Räucherofen dient dem Abtropfen der Flüssigkeit (sog. Vortrocknung). Ungenügend vorbehandelte Fische sind weniger haltbar und fallen beim Räuchern leicht von den Spitten.

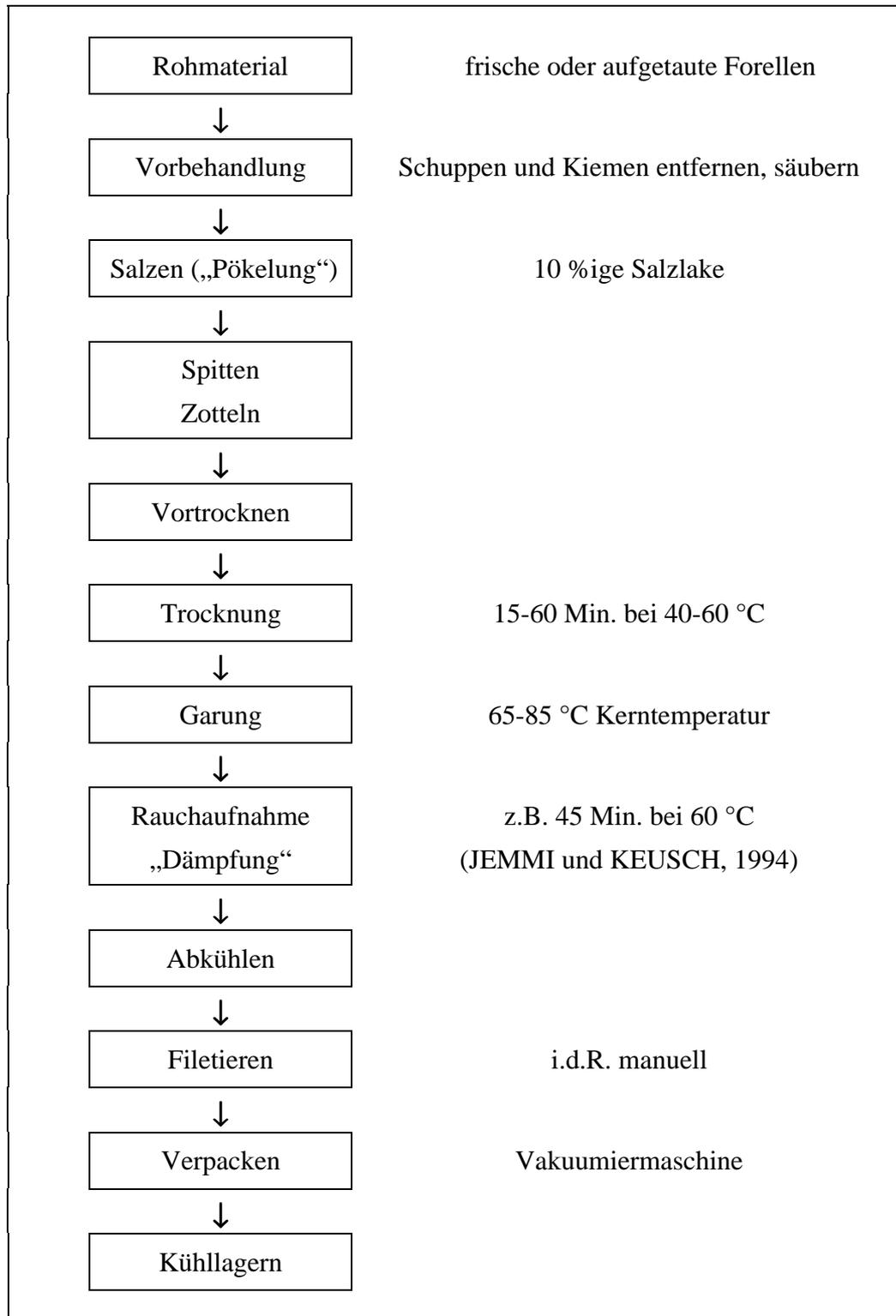
Der eigentliche Räuchervorgang erfolgt in traditionellen Altonaer Öfen über offenem Feuer oder in programmierbaren Klimarauchanlagen. Der Prozeß gliedert sich in drei ineinander übergehende Abschnitte (Trocknung, Garung, Rauchaufnahme). In der ersten Phase wird bei Temperaturen von 40-60 °C die Vortrocknung der äußeren Schichten fortgesetzt, wodurch sich die Oberflächenfestigkeit erhöht und das Risiko für ein Abfallen der Produkte während der Garung (sinkende Fleischfestigkeit) vermindert. Dieser erste Teilprozeß dauert 15-60 Minuten.

Das Garen des Fischfleisches erfolgt bei höheren Ofentemperaturen (ca. 70-150 °C). Dabei werden im Räuchergut Kerntemperaturen zwischen 60 °C und 85 °C erreicht. Nach JEMMI und KEUSCH (1992) steigt die Temperatur in der Garphase auf 110 °C, so daß eine Kerntemperatur von 65 °C über einen Zeitraum von 20 Minuten erzielt wird. In den herkömmlichen Räucheröfen wird in der folgenden „Dämpfphase“ das offene Feuer durch Hackspäne abgedeckt und die Luftzufuhr soweit reduziert, daß ein dichter feuchtheißer Schwelrauch entsteht. Dieser Prozeß dient der Aromabildung und Farbgebung des Räucherguts.

Die geräucherten Forellen werden, oft über Nacht, abgekühlt und anschließend meist manuell filetiert und enthäutet. Einige Betriebe benutzen auch Filetiermaschinen, die allerdings schon vor der „Pökellung“ zum Einsatz kommen. Die geräucherten Forellen-

filets werden vakuumverpackt und bis zur Auslieferung kühl gelagert (ANTONACOPOULOS, 1968a; TÜLSNER, 1994).

Abb. 1: Prozeßstufen der Herstellung von heißgeräucherten Forellenfilets (mod. nach TÜLSNER, 1994)



2.2 Mikrobiologie von Räucherfisch

2.2.1 Physiologische Mikroflora der Rohware

Die Keimflora der Süßwasserfische setzt sich in erster Linie aus psychrotrophen gram-negativen Mikroorganismen zusammen. Dabei stellen Pseudomonaden (*Ps. fluorescens*, *Ps. putida* u.a.) und Aeromonaden (*A. hydrophila*) die dominierende Florakomponente dar. Desweiteren lassen sich aus frisch gefangenen Fisch Bakterien der Gattungen *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus* und *Bacillus* isolieren. Außerdem gehören – wie bei den Seefischen – auch Hefen zur typischen Mikroorganismenbesiedlung (SCHIRRMACHER, 1975; HUSSAIN et al., 1976).

Auf Grund der Abwasserbelastung der Binnengewässer können Süßwasserfische, insbesondere in ihrem Magendarm-Kanal, neben den genannten Bakterien auch Enterobakteriazeen (z.B. *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*) sowie *Clostridium perfringens* beherbergen (ABO-ELNAGA, 1980; STOJKOVIC-ATANACKOVIC und JEREMIC, 1986).

Die Höhe der Keimbelastung hängt von verschiedenen Faktoren ab. Dazu gehören Art und Zustand der Gewässer, Jahreszeit, Fangmethode sowie Spezieszugehörigkeit und Lebensweise der untersuchten Fische. Mikrobiologische Analysen ergaben auf der Haut frisch gefangener Tiere $< 10^3$ bzw. $< 10^4$ Keime/cm². Die Muskulatur erscheint nahezu keimfrei; SCHIRRMACHER (1975) sowie HUSSAIN et al. (1976) ermittelten bei verschiedenen Süßwasserfischen maximale Keimzahlen von 5×10^3 KbE/g.

Im Rahmen der Untersuchung des Fischfleisches geschlachteter, gefrosteter Forellen stellte ZORN (1992) einen durchschnittlichen Keimgehalt von $2,0 \times 10^3$ KbE/g bei einer Streubreite von $1,0 \times 10^2$ bis $5,1 \times 10^3$ KbE/g fest. KRÜGER (1982) fand für rohe Forellenmuskulatur (n=27) einen mittleren Keimgehalt von $2,8 \times 10^2$ KbE/g.

2.2.2 Mikrobiologisches Profil von Fischerzeugnissen nach der Räucherung

Bei frisch geräucherten Fischerzeugnissen schwankt die aerobe Gesamtkeimzahl in Abhängigkeit von der Räucherintensität, der Keimbelastung der Rohware und der Fischart in weiten Grenzen. Während sich laut KARNOP (1980a) in der Muskulatur des Räucheraals < 20 KbE/g fanden, enthielten Heilbuttstücke – bei einer Streuung der Einzelwerte von 10^2 bis 10^6 – durchschnittlich $1,7 \times 10^4$ KbE/g. RAKOW (1977) wies in 78

direkt beim Hersteller gezogenen heißgeräucherten Fischprodukten einen mittleren Keimgehalt von weniger als 10^5 KbE/g nach. Allerdings zeigten die Werte auch hier eine breite Streuung von unter 10^2 KbE/g bis 2×10^5 KbE/g.

Das mikrobiologische Profil von frisch geräucherten Fischerzeugnissen wird in erster Linie von der Räuchertemperatur und ihrer Einwirkungsdauer beeinflusst. Erwärmung auf mehr als 82 °C in der Fischmuskulatur überleben nur hitzeresistente Bakteriensporen. Bei Unterschreitung dieser Grenze kommen sukzessiv grampositive Keime (z.B. Kokken, Laktobazillen) und nachfolgend die relativ thermolabilen gramnegativen Stäbchen (z.B. *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*) hinzu (SALAMA und KHALAFALLA, 1993; SAUPE, 1996). Demgemäß fand KARNOP (1980a) bei rauchfrischem Heilbutt je nach Ausgangsmaterial und Verarbeitungsbedingungen große Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterienflora. So wurden in einem Fall überwiegend gramnegative Mikroorganismen der Gattung *Pseudomonas* und *Acinetobacter* isoliert, während in einer anderen Probe Laktobazillen, Staphylokokken und Mikrokokken dominierten.

Der Keimgehalt von frisch geräucherten Forellen liegt im Bereich der Werte für Frischware (10^2 bis 10^3 KbE/g). Eine Untersuchung von KRÜGER (1982) ergab für 18 Forellen direkt nach dem Räucherprozeß (max. Kerntemperatur von $+ 63\text{ °C}$) eine durchschnittliche aerobe Gesamtkeimzahl von $3,6 \times 10^2$ KbE/g. Enterobakteriazeen, Staphylokokken und Clostridien konnten nicht nachgewiesen werden.

KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) stellten bei sieben direkt von Herstellern gezogenen geräucherten Forellen mit einer Ausnahme Keimgehalte zwischen $< 10^2$ KbE/g und 9×10^2 KbE/g fest. Auch hier ließen sich in keinem Fall Enterobakteriazeen isolieren.

Niedrige Ausgangskeimgehalte von durchschnittlich $4,6 \times 10^2$ KbE/g für geräucherte Forellenfilets ($n=5$) sowie $< 2,0 \times 10^2$ KbE/g für ganze Räucherforellen ($n=5$) einen Tag nach Herstellung ermittelte auch SCHULZE (1985), wohingegen ZORN (1992) bei der Untersuchung von geräucherten, vakuumverpackten Forellenfilets ($n=20$) für den gleichen Zeitpunkt Keimgehalte bestimmte, die mit einer Ausnahme unterhalb der methodisch bedingten Nachweisgrenze von $1,0 \times 10^2$ KbE/g lagen.

2.2.3 Pathogene und toxinogene Mikroorganismen

2.2.3.1 *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)

Vorkommen und Bedeutung als Lebensmittelinfektionserreger

L. monocytogenes ist ein in der Natur ubiquitär vorkommender Keim, der häufig in Lebensmitteln gefunden wird und zu Infektionen des Menschen führen kann. Dabei besteht für die „YOPI-Gruppe“ (Young, Old, Pregnant, Immunosuppressive) eine besondere Gefährdung. In unterschiedlichen Verlaufsformen führt die Listeriose zu Aborten, Sepsis, Meningitiden und Frühgeburten (SINELL, 1992).

Als Vektoren lebensmittelbedingter Listeriosemassenerkrankungen sind insbesondere Krautsalat (SCHLECH et al., 1983), pasteurisierte Milch (FLEMING et al., 1985), Weichkäse (JAMES et al., 1985; BILLE und GLAUSER, 1988) und Pâté (Mc LAUHLIN et al., 1991) beschrieben worden. Bei *L. monocytogenes*-Ausbrüchen mit hohen Morbiditätsraten lag überwiegend der Serotyp 4b vor, während sich bei den sporadischen Lebensmittelvergiftungen auch die Serotypen 1/2b und 1/2a fanden (GUYER und JEMMI, 1990; JEMMI, 1990b; JEMMI, 1993).

Fischerzeugnisse wurden zwar noch nicht als Ursache für epidemische Ausbrüche identifiziert, doch bei einzelnen sporadischen Listeriosefällen konnte ein kausaler Zusammenhang zu diesen Lebensmitteln vermutet oder gar bewiesen werden. Nach LENNON et al. (1984) waren mehrere perinatale Listeriosen in Neuseeland wahrscheinlich auf den Verzehr roher Meeresfrüchte zurückzuführen. Italienische Mikrobiologen identifizierten in einem Fall von sporadischer Listeriose nicht ausreichend erhitzten Fisch als Infektionsquelle (FACINELLI et al., 1989).

Bei einem Listeriose-Ausbruch (n=6) in Schweden wurden erstmals kontaminierte, kaltgeräucherte und gebeizte („graved“) Regenbogenforellen als Auslöser verantwortlich gemacht (ERICSSON et al., 1997). Finnische Autoren (MIETTINEN et al., 1999) berichteten kürzlich über den ersten Ausbruch einer fiebrigen Gastroenteritis bei vier bis dahin völlig gesunden Erwachsenen (39-52 Jahre) sowie einem dreijährigen Kind, welche eine kurz zuvor gekaufte, vakuumverpackte, kaltgeräucherte Regenbogenforelle verzehrt hatten. Nach einer nur 27h dauernden Inkubationszeit traten Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und Gelenkschmerzen auf. In einer Forelle der gleichen,

vor 17 Tagen hergestellten Charge wurde *L. monocytogenes* vom Serotyp 1/2a in hohen Keimzahlen ($1,9 \times 10^5$ KbE/g) nachgewiesen. Die aus Fisch und Patientienstühlen isolierten Stämme zeigten vollständige Übereinstimmung im PFGE-Muster. Bei der Kontrolle des Einzelhandelsbetriebs wurde eine Lagertemperatur von 10 °C anstatt der deklarierten 0-3 °C registriert. Aufgrund der raschen Vermehrung von *L. monocytogenes* bei höheren Aufbewahrungstemperaturen fordern die Autoren eine Festlegung des Mindesthaltbarkeitsdatums auf deutlich unter 3 Wochen.

Über den Nachweis von *L. monocytogenes* in Fisch – und zwar Regenbogenforellen aus einer Teichzucht – berichteten erstmals GRAY und KILLINGER (1966). Weitere Veröffentlichungen der letzten Jahre belegen, daß Fisch und Fischerzeugnisse als potentielles Habitat für *L. monocytogenes* anzusehen sind, wobei Räucherfisch besonders häufig belastet erscheint. So wies SCHMIDT (1991) bei Stufenkontrollen in 62,5 % der untersuchten Proben (n=80) aus Fischräuchereien Listerien nach. Davon enthielten 11 Proben (=13,75 %) *L. monocytogenes*. Neben Rohmaterial (Rohfisch) und geräucherter Ware zeigte sich nahezu das gesamte Umfeld innerhalb der Verarbeitungsbetriebe mit Listerien kontaminiert. Demgemäß wurde der Keim aus Rohfisch und Fischverschnitt, Gully- und Kondenswasser, von Spicktischen, Spießen der Rohware sowie von Packtischen angezüchtet. Die Stämme verteilten sich auf die Serovare 1/2a (22,6 %), 1/2b (41,9 %), 4b (32,3 %) sowie ein nichttypisierbares Isolat (3,2 %).

Es kann folglich das Resultat der Erhebungen von A.-M. SCHMIDT (1995) nicht verwundern, wonach aus 70 verzehrfertigen Fischprodukten 11 mal (=15,7 %) *L. monocytogenes* angezüchtet wurde. Im Probenkontingent befanden sich 20 Räucherfischprodukte, die 5 mal *L. monocytogenes* enthielten. Im einzelnen handelte es sich um Bücklingsfilet, Räucherlachs, Lachs in Öl, Lachsschnitzel sowie geräucherten Heilbutt.

Eine landesweite Erhebung in Deutschland erbrachte für Fischerzeugnisse mit 6,0 % positiven Befunden gegenüber 3,1 % eine nahezu doppelt so hohe *L. monocytogenes*-Kontamination wie für Fische und Fischteile. Innerhalb der Produkte erwies sich insbesondere die Kategorie der Räucherfische als bedeutsames Habitat für *L. monocytogenes*-Keime. Jeweils 1,1 % der Räucherfischproben (n=380) fielen in die Keimzahlbereiche $>10^4$ und 10^2 - 10^4 *L. monocytogenes*/g Lebensmittel. Eine Untergliederung der Warengruppe ergab, daß geräucherte Forelle und geräucherter Lachs im starken Maße mit *L. monocytogenes* belastet waren (Tab. 1). Darüberhinaus ließen die Ergebnisse einen positiven Effekt des Sauerstoffentzuges auf die Vermehrung von *L. monocytogenes* in

Räucherfisch vermuten, da bei vakuumverpacktem geräucherten Lachs und geräucherter Forelle vermehrt Keimzahlen von 10^2 - 10^4 und $> 10^4$ *L. monocytogenes*/g Lebensmittel auftraten (TEUFEL und BENDZULLA, 1994).

Bei quantitativen mikrobiologischen Analysen im Rahmen der Untersuchung verschiedener Lebensmittel (n=1315) gehörten auch geräucherte und vakuumverpackte Forellenfilets zu den Produkten, die mehr als 100 *L. monocytogenes*/g Substrat enthalten konnten (LEISTNER und SCHMIDT, 1992).

JÖCKEL (1997) wies in 56 % von 46 Proben Räucherlachs *L. monocytogenes* nach, jedoch ausschließlich mit Keimzahlen von $< 10^3$ KBE/g.

Bei weiteren Untersuchungen heißgeräucherter Fische auf *L. monocytogenes* erbrachte die Erhebung von HARTEMINK und GEORSSON (1991) 12 % positive Befunde, während DILLON et al. (1992) aus 11,3 % der untersuchten Räucherfischerzeugnisse *L. monocytogenes* isolierten.

In Schweden wurden aus 150 Proben vakuumverpackter, geräucherter und marinierter Fischerzeugnisse in 16 Fällen (=11 %) *L. monocytogenes* isoliert, wobei 21 % der marinierten und 12 % bzw. 2 % der kalt- oder heißgeräucherten Fischprodukte *L. monocytogenes* enthielten. Dabei fanden sich in 62 % der positiven Proben Keimzahlen von mehr als 100 *L. monocytogenes*/g. Mit $1,3 \times 10^5$ *L. monocytogenes*/g wurde die höchste Kontamination in einer heißgeräucherten Regenbogenforelle nachgewiesen. Die isolierten Stämme gehörten überwiegend der Serogruppe 1/2 an (LONCAREVIC et al., 1996).

Auch aus der Schweiz liegen Erhebungen zur Kontamination von Räucherfischen mit *L. monocytogenes* vor: Bei der Untersuchung von 236 Proben rohem und geräuchertem Lachs wurde 17 mal (=7,2 %) *L. monocytogenes* gefunden, davon gehörten 12 Isolate zum Serotyp 1/2b (71 %), 3 zum Serotyp 1/2a (18 %) und 2 zum Serotyp 4b (12 %) (GUYER und JEMMI, 1990). Im Rahmen einer Marktanalyse züchtete JEMMI (1990a) aus 12,5 % der geräucherten bzw. marinierten Fische (n=377) *L. monocytogenes* an. Weiterhin wurde in 909 Proben importierter, geräucherter und fermentierter Fische insgesamt 111 mal (12,2 %) *L. monocytogenes* ermittelt, wobei die jeweiligen Kontaminationsraten 8,9 % für heißgeräucherte, 13,6 % für kaltgeräucherte und 25,8 % für fermentierte Fische betragen. Die Nachweisquote für den Serotyp 1/2b lautete 59 %; es folgten die Typen 1/2a mit 20 % und 4b mit 14 %. Aufmerksamkeit verdienen bei den heißgeräucherten Fischen die vergleichsweise hohen Kontaminationsraten von Forellen und

Heringen (11 % bzw. 12 %) sowie das Fehlen des Serotyps 4b, der beim kaltgeräucherten Lachs 32,4 % der Isolate ausmachte (JEMMI, 1990b).

Spätere Untersuchungen von JEMMI (1993), nach denen 8,4 % der heißgeräucherten und 11,3 % der kaltgeräucherten Fischerzeugnisse *L. monocytogenes* enthielten, bestätigten die früheren Ergebnisse.

Tab. 1: Ergebnisse der Untersuchungen auf *L. monocytogenes* in ausgewählten Fischprodukten des deutschen Marktes (mod. nach TEUFEL und BENDZULLA, 1994)

Produkt (n)	L. monocytogenes - positiv (in %)		
	< 100 KbE/g	10 ² - 10 ⁴ KbE/g	> 10 ⁴ KbE/g
Fischerzeugnisse, insgesamt (685)	2,2	0,6	0,6
Fisch, geräuchert (380)	3,7	1,1	1,1
andere Fischprodukte (305)	0,3	–	–
Forelle, heißgeräuchert (56)	5,4	3,6	5,4
Lachs, kaltgeräuchert (35)	11,4	2,9	2,9
Makrele, heißgeräuchert (86)	2,3	1,2	–
Räucherfisch, vakuumverpackt (235)	4,7	2,1	1,7
Räucherfisch, unverpackt (86)	3,5	–	–

Verhalten von *L. monocytogenes* während der Herstellung und Lagerung von Räucherfisch

Bisher betrafen die meisten Arbeiten über das Verhalten von *L. monocytogenes* in Räucherfisch den geräucherten Lachs. Hierbei erlaubten Untersuchungen an experimentell kontaminiertem Lachs die Schlußfolgerung, daß *L. monocytogenes* die Prozeßstufen Salzen (6%ige Lake) und Kalträuchern (bei 26-30 °C) unbeschadet übersteht. Nach einer 30tägigen Lagerung fand sich sowohl bei 4 °C als auch bei 10 °C ein Anstieg um

4,5 \log_{10} auf Werte von $> 10^7$ *L. monocytogenes*/g. Allerdings bestand nach 10 und 20 Tagen noch ein signifikanter Unterschied zwischen den Lagertemperaturen. Ausgehend von einer Kontamination mit $6,5 \times 10^2$ KbE/g wurde bei 4 °C innerhalb von 20 Tagen ein Wert von $7,5 \times 10^5$ KbE/g erreicht; hingegen stiegen die Keimzahlen bei 10 °C schon nach 10 Tagen auf 9×10^6 KbE/g (GUYER und JEMMI, 1991).

Die geschilderten Resultate decken sich tendenziell mit den Ergebnissen von HUDSON und MOTT (1993), die sie bei Versuchen an experimentell kontaminiertem, vakuumverpacktem Räucherlachs gewannen. Von einer Inokulationsdichte 10^4 *L. monocytogenes*/g ausgehend, fand sich bei Kühltemperaturen sowohl von 5 °C als auch 10 °C ein signifikantes Wachstum auf Werte $\geq 10^7$ KbE/g innerhalb von 21 bzw. 4 Tagen. Andere Studien ergaben während einer 6tägigen Lagerung von vakuumverpacktem Räucherlachs bei 10 °C zwar einen Anstieg der *L. monocytogenes*-Zahlen von 10^5 auf 10^8 KbE/g, ließen jedoch bei 5 °C keine Vermehrung erkennen (BEN EMBAREK, 1991; BEN EMBAREK und HUSS, 1992). Auch GUYER und JEMMI (1990) beobachteten in Untersuchungen an Räucherlachs während einer nur 10tägigen Lagerung bei 4 °C keine Vermehrung.

Um eine Gefährdung des Verbrauchers weitestgehend auszuschließen, forderten GUYER und JEMMI (1991) auf Grund ihrer Erfahrungen als entscheidende Maßnahme die Vermeidung von Kontaminationen sowohl vor als auch nach dem Räucherprozeß. Für ebenso wichtig erachteten sie die strikte Einhaltung der Kühlkette während der gesamten Herstellung und Lagerung bis zur Abgabe des Produktes an den Verbraucher.

Weit weniger Berichte liegen über das Verhalten von *L. monocytogenes* in heißgeräucherten Fischen vor. Heißgeräucherte, mit *L. monocytogenes* beimpfte Forellen untersuchten JEMMI und KEUSCH (1992) während der Herstellung und Lagerung. *L. monocytogenes* konnte nach dem Salzen und Räuchern (Kerntemperatur von 65 °C während 20 Min.) nicht mehr isoliert werden, zumal die Hitze- und Raucheinwirkung zu einer Abnahme von *L. monocytogenes* um 6 \log_{10} führte. Kontaminationen von Rohfisch mit *L. monocytogenes* lassen sich somit nach Ansicht der Autoren durch eine ordnungsgemäß durchgeführte Heißräucherung entsprechend den GMP-Richtlinien (Codex Alimentarius, 1979) sicher beherrschen.

Ähnliche Ergebnisse erzielte BEN EMBAREK (1994) bei der Heißräucherung von künstlich kontaminierten Forellen (10^2 *L. monocytogenes*/g). Während die Keime eine

Kerntemperatur von 60 °C 15 Min. überlebten, führte eine Temperaturerhöhung auf 65 °C zur sicheren Inaktivierung.

Als Ursache für das häufige Vorkommen von *L. monocytogenes* in heißgeräucherten Fischen wurde eine unzureichende Erhitzung des Produktes vermutet, wobei die minimale Temperatur-Zeit-Kombination zur Inaktivierung des Keimes 70-72 °C für mindestens 2 Min. betragen sollte (MACKEY und BRATCHELL, 1989; JEMMI, 1990b; HARTEMINK und GEORGSSON, 1991; DILLON et al., 1992). Ausreichende Räuchertemperaturen vorausgesetzt, kommt als weiterer Grund für die hohe Prävalenz eine Rekontamination der geräucherten Fische beim Filetieren und Abpacken in Betracht. So konnten JEMMI und KEUSCH (1994) *L. monocytogenes* sowohl von Händen und Schürzen des Personals (47 % und 55 %) als auch von Gerätschaften (26 %) und Fußböden bzw. Abflüssen (100 %) isolieren.

Ergänzende Versuche von JEMMI und KEUSCH (1992) an nach dem Räuchern künstlich kontaminierten Forellen zeigten, daß sich *L. monocytogenes* während der Lagerung bei 4 °C nicht vermehrte, während nach 20 Tagen bei 8-10 °C ein Anstieg von 6,1 log₁₀ ermittelt wurde.

Die Vermeidung von Rekontaminationen verdient insofern erhöhte Aufmerksamkeit, als im Unterschied zu den kaltgeräucherten Fischen die Konkurrenzflora durch die höheren Räuchertemperaturen weitgehend eliminiert wird und somit die Zahl von *L. monocytogenes* in heißgeräucherten Fischerzeugnissen deutlich schneller ansteigt (JØRGENSEN und HUSS, 1998). Da sich *L. monocytogenes* auch unter Kühlbedingungen vermehrt, kann eine Gefährdung des Verbrauchers bei einer Lagerdauer von über 20 Tagen, insbesondere in Kombination mit unzureichender Kühlung, nicht ausgeschlossen werden (JEMMI, 1990b; JEMMI und KEUSCH, 1992; FUCHS und NICOLAIDES, 1994).

2.2.3.2 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Es existieren nur vereinzelt Berichte über die Isolierung von *S.aureus* aus Räucherfisch; dennoch läßt sich eine Kontamination mit *S.aureus* vor allem durch den Menschen während der Verarbeitung nicht ausschließen, da etwa die Hälfte aller gesunden Personen diesen Erreger im Nasen-Rachen-Raum beherbergt und somit eine direkte (Nasensekret, Hustenaerosole, Partikel von infizierten Wunden) oder indirekte (Berührung mit der

kontaminierten, ungeschützten Hand) Verunreinigung der Produkte möglich erscheint (SINELL, 1992).

ZORN (1992) fand in 200 geräucherten, vakuumverpackten Forellenfilets zwölfmal (= 6 %) *S. aureus*, wobei bedenkliche Keimzahlen von $1,2 \times 10^4$ /g bis $3,3 \times 10^6$ /g erst ab dem 20. Versuchstag bei 8 °C Lagertemperatur bzw. dem 5. Versuchstag bei 20 °C auftraten.

KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) wiesen bei der Untersuchung von Räucherfischerzeugnissen (n=123) aus dem Einzelhandel in 3 Proben (=2,4 %) *S. aureus* in Mengen von 1×10^3 , 3×10^5 und 5×10^5 /g nach. Die beiden letztgenannten Werte wurden in geräucherten Forellenfilets ermittelt.

Offenbar trat *S. aureus* als Ursache von Lebensmittelvergiftungen durch Räucherfischerzeugnisse bisher selten auf; zudem ist der Keim erfahrungsgemäß in erster Linie bei kaltgeräucherten, aus vorgesalzenem Fisch hergestellten Produkten zu erwarten (SAUPE, 1996).

2.2.3.3 Salmonellen

Salmonelleninfektionen des Menschen nach Fischgenuß erfolgten hauptsächlich durch Räucherfisch. In der überwiegenden Zahl dieser Fälle wurde *Salmonella typhimurium* nachgewiesen (HARMS und KRUSE, 1976; SAUPE, 1996).

Eine primäre Kontamination der lebenden Fische kann durch Abwässer oder durch Wasservögel erfolgen, wobei im Fall der mesophilen Salmonellen ein längeres, ungekühltes Stehenlassen der Ware vor dem Räuchern das Wachstum begünstigt. Als weitere Risikofaktoren sind unzureichende Temperaturen während der Räucherung sowie Sekundärkontaminationen durch menschliche Dauerausscheider zu nennen (HARMS und KRUSE, 1976; SAUPE, 1996).

So konnten HARMS und KRUSE (1976) als Ursache für eine nach dem Genuß von vakuumverpackten Räucheraalen aufgetretene Salmonellose die Kontaminaton der Fische in der Herstellungsstätte durch einen Dauerausscheider identifizieren.

2.2.3.4 *Clostridium perfringens* (*Cl. perfringens*)

Von den bei Fisch und Fischerzeugnissen nachgewiesenen anaeroben Sporenbildnern sind in erster Linie *Cl. perfringens*-Keime als Ursache für gastroenteritische Erkrankungen zu nennen. Zu entsprechenden Lebensmittelvergiftungen kam es nach Fischgenuß bisher jedoch nur selten (SAUPE, 1989), da Intoxikationen hohe Keimzahlen ($> 10^6$ KbE/g), die häufig mit sensorischen Abweichungen einhergehen, erfordern (BRYAN, 1980). Weiterhin besitzen nicht alle Stämme die Fähigkeit zur Enterotoxinbildung.

Über die Isolierung anaerober Sporenbildner aus Räucherfisch berichteten KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979). Bei der Untersuchung von 123 Räucherfischerzeugnissen ermittelten sie in 5 Proben sulfitreduzierende Clostridien und zwar in einer Größenordnung von 10^2 bis $7,9 \times 10^4$ KbE/g.

KRÜGER (1982) beschäftigte sich mit dem Vorkommen von Clostridien in der Umgebung von Forellenzucht- und Räucherbetrieben. Es wurden in 6 von 8 Bodenschlammproben und in einer von 6 Teichwasserproben anaerobe Sporenbildner nachgewiesen. Aus dem Darminhalt nicht ausgenüchterter Forellen ließen sich in 5 von 9 Fällen Clostridien isolieren. Dagegen verlief der Nachweis im Restdarminhalt und in der Muskulatur von über 5 Tagen ausgenücherten Forellen negativ. Auf Grund dieser Resultate mißt KRÜGER (1982) der Hälterung und Ausnüchterung der Forellen vor dem Schlachten große Bedeutung bei, insbesondere vor dem Hintergrund der *Cl. botulinum* Typ E-Problematik (vgl. 2.2.3.5).

2.2.3.5 *Clostridium botulinum* (*Cl. botulinum*)

Vorkommen und Verbreitung

Cl. botulinum ist ein ubiquitärer Keim, der sich sowohl im Erdboden als auch in Gewässern findet. Die Mehrzahl der nach Fischverzehr einschließlich Räucherfisch aufgetretenen Botulismusausbrüche geht auf das Botulinus-Typ E Toxin zurück (BACH und MÜLLER-PRASUHN, 1971; BRYAN, 1980). Dieser Serotyp gehört offenbar zur natürlichen Mikroflora von Süß- und Seewasserfischen. Nach Untersuchungen von SKOVGAARD (1979) sind bis zu 100 % der Fischpopulation in Teichwirtschaften mit dem Erreger behaftet. Dabei gilt die Aufnahme von *Cl. botulinum* per vias naturales

epidemiologisch als gesichert, weil der Nachweis des Erregers im Darminhalt und in Ausschlachtungsresten regelmäßig gelingt (BACH und MÜLLER-PRASUHN, 1971; WENZEL et al., 1971b; DEHOF et al., 1989).

Hohe Kontaminationsraten mit *Cl. botulinum* Typ E fanden sich in Küstengewässern (67 %), in fischwirtschaftlich intensiv genutzten Binnengewässern (63 %) und besonders im Bodenschlamm (100 %) (JOHANNSEN, 1963; BACH et al., 1971; HUSS und PEDERSEN, 1979; HUSS, 1980b). Die intensive Besiedlung führte zu mehreren Typ-E-Botulismusausbrüchen in Forellenfarmen Dänemarks und Großbritanniens mit z. T. hohen Verlusten. Die Erkrankung der Fische wurde durch direkte Giftaufnahme, z.B. Fressen toxinhaltiger Fischkadaver, ausgelöst (HUSS und ESKILDSEN, 1974; CANN und TAYLOR, 1984).

Nach Untersuchungsergebnissen von WENZEL et al. (1971b) bildet Schlamm die wichtigste Kontaminationsquelle für *Cl. botulinum* Typ E bei Teichforellen, wobei die Infektion wahrscheinlich über Kiemen, Haut und Darminhalt erfolgt. Die Aufnahme der Clostridien scheint über das Futter oder Schwebstoffe im Wasser möglich zu sein, ohne daß die Forellen mit dem Bodenschlamm in direkte Berührung kommen (BACH et al., 1971). Die weitere Verbreitung von *Cl. botulinum* Typ E in Teichwirtschaften ist besonders durch Wasservögel sowie Tierkadaver und über das Futter gegeben (WENZEL et al., 1971b).

Bedeutung als Intoxikationserreger

Das Botulismus-Gift besitzt neurotoxische Wirkung, indem es praesynaptisch die Ausschüttung des Azetylcholin blockiert und somit die Erregungsübertragung hemmt. Nach einer meist 12 bis 36 h dauernden Inkubationszeit stehen neurologische Symptome im Vordergrund (Akkommodationsstörung, Doppelsehen, Sprach- und Schluckbeschwerden, Schlaffheit der Gesichtsmuskulatur). Ohne Behandlung tritt der Tod schließlich durch Atemlähmung oder Herzstillstand ein (SINELL, 1992; STENGEL, 1997).

Trotz des ubiquitären Vorkommens von *Cl. botulinum*, das sich aber weitgehend auf die nördliche Hemisphäre beschränkt, sind Intoxikationen bei Menschen nach Räucherfischverzehr selten zu beobachten (STENGEL, 1997).

In den USA stellten Räucherfische aus den Großen Seen lange Zeit ein relevantes Problem dar. Die ersten Botulismus-Intoxikationen traten 1960 nach dem Verzehr von vakuumverpackten, geräucherten „ciscoes“, einer Renkenart, auf (ANONYMOUS, 1960). 1963 wurden 22 Erkrankungen mit 9 Todesfällen beschrieben, die auf ungegarte, gering erhitzte oder geräucherte Weißfischprodukte aus den Großen Seen zurückgeführt werden konnten (ANONYMOUS, 1964; KAUTTER, 1964; BAUMGART, 1970). Epidemiologische Erhebungen ergaben für Fangfisch aus den Großen Seen eine Kontaminationsquote mit *Cl. botulinum* von 1 % (Lake Superior) bis zu 90 % (Green Bay of Lake Michigan) (BOTT et al., 1966). Daraufhin wurden strenge Vorschriften bezüglich der Produktion und Distribution von Räucherfisch erlassen, in denen unter anderem die Räuchertemperatur ($\geq 82,2$ °C über mind. 30 Min.), Kennzeichnung (Kühlhinweis, Angabe von Herstellungs- und Verfallsdatum), Lagertemperatur ($\leq 4,5$ °C) und Haltbarkeitsdauer (max. 7 Tage) geregelt wurden (CITY OF MILWAUKEE, 1964).

Im August 1970 erkrankten in Norddeutschland fünf Menschen nach dem Genuß von geräucherten, vakuumverpackten Forellenfilets an Botulismus, drei Personen starben (BAUMGART, 1970; BACH und MÜLLER-PRASUHN, 1971). Schwedische Gesundheitsbehörden berichteten von zwei Fällen, die auf den Verzehr von vakuumverpackten, zwei Tage ungekühlt gelagerten Fisch zurückgingen (ROBERT KOCH INSTITUT, 1997).

Der Genuß von warmgeräucherter, vakuumverpackter Renken stellte die Ursache für eine *Cl. botulinum* Typ E-Intoxikation in Norddeutschland im Januar 1997 dar. Es erkrankten zwei Personen mit den typischen klinischen Symptomen, wobei die Inkubationszeit für den einen Patienten nur 7 h betrug. In den Fischresten gelang sowohl der Nachweis des Toxins durch den Tierversuch als auch die Isolierung von *Cl. botulinum*-Keimen des Typs E (STENGEL, 1997). In Nordrhein-Westfalen erkrankten erst kürzlich drei Personen nach dem Verzehr von vakuumverpackten, geräucherten Forellen an Botulismus (ANONYMOUS, 2000).

Kontamination von Räucherfisch und Verhalten von *Clostridium botulinum* während der Herstellung und Lagerung

Fäkale Kontaminationen bei Schlachtung und Weiterverarbeitung von Teichforellen bergen stets das Risiko einer Keimbesiedlung von Räucherfischen mit *Cl. botulinum* Typ E in sich. FANTASIA und DURAN (1969) konnten *Cl. botulinum* Typ E bei handelsüblich ausgenommenen Fischen nachweisen. Selbst bei sorgfältiger Evisceration im

Labor ließ sich eine Keimverschleppung durch Verunreinigung mit Darminhalt nicht völlig vermeiden. Das Kontaminationsrisiko hängt dennoch weitgehend von der Betriebs- und Verarbeitungshygiene ab (WENZEL et al., 1971b; DEHOF et al., 1989).

Während der Herstellung von geräucherten, vakuumverpackten Forellenfilets kann eine sichere Hemmung der Toxinbildung durch *Cl. botulinum* Typ E, sofern der Keim den Räuchervorgang überlebte, keinesfalls durch den isolierten Einfluß eines einzelnen intrinsic factors (a_w -Wert, pH-Wert, NaCl-Konzentration) gewährleistet werden, vielmehr muß ein sog. „Hürden“-Konzept zur Anwendung kommen (siehe Tab. 2), d.h. mehrere Faktoren sollten sich in ihrer Wirkung addieren.

Versuche mit künstlich kontaminierten, gesalzenen Forellen zeigten, daß die Sporen einen Räucherprozeß mit einer Kerntemperatur von maximal 60 °C ohne weiteres überleben. Sicheres Inaktivieren erfordert eine Kerntemperatur von 80 °C über 10 Minuten, woraus eine Verminderung der Sporenzahl um den Faktor 10^{12} resultiert (DEHOF et al., 1989). Trotz der relativ niedrigen Hitzeresistenz bereitet das Einhalten des 12-D-Konzepts Schwierigkeiten, weil bei den meisten Erzeugnissen oberhalb von 65-70 °C die Akzeptanz (z.B. oberflächliches Austrocknen, zu starke Bräunung, Verformungen) leidet, weshalb nicht auszuschließen ist, daß die Bedingungen nicht eingehalten werden und demnach einzelne Sporen den Räucherprozeß überleben (KOSAK und TOLEDO, 1980; EKLUND et al., 1982; HAUSSCHILD, 1989; SAUPE, 1989).

Wegen des niedrigen Wachstumsminimum von 3,3 °C wird selbst durch eine hausübliche Lagerung im Kühlschrank bei 5-8 °C das Auskeimen der Sporen und eine anschließende Toxinbildung nicht verhindert, sondern nur verzögert. So war in künstlich kontaminierten, geräucherten Forellenfilets nach 28 Tagen Kühllagerung Toxin nachzuweisen. Bei längerer Aufbewahrung besteht eine besondere Gefahr in der Unterdrückung der charakteristischen Verderbsflora in der Vakuumverpackung, zumal *Cl. botulinum* Typ E selbst als nicht proteolytischer Keim nur geringe bzw. keine sensorischen Veränderungen im betroffenen Lebensmittel bewirkt (SPERBER, 1982; DEHOF et al., 1989). Somit ist eine Toxinbildung noch vor Eintritt des sensorisch wahrnehmbaren Verderbs durchaus möglich (BACH et al, 1971; GARCIA et al., 1987).

Aufgrund der Tatsache, daß auch thermolabile Sporen von *Cl. botulinum* das weniger intensive Heißräuchern überstehen können, ist vakuumverpackter Räucherfisch unzweifelhaft als Risiko-Lebensmittel einzustufen. Finnischen Erhebungen zufolge enthielten

3-8 % der vakuumverpackten Fischerzeugnisse in geringer Menge Sporen von *Cl. botulinum* Typ E (ROBERT KOCH INSTITUT, 1997). Ähnliche Resultate erbrachten Untersuchungen in Nordamerika, denn 4,6 % der geräucherten Fischerzeugnisse erwiesen sich als mit *Cl. botulinum* Typ E kontaminiert (HAYES et al., 1970).

Tab. 2: Wachstumsbedingungen von *Cl. botulinum* Typ E und produktspezifische Werte (mod. nach DEHOF, 1989)

	Wachstumsbedingungen von <i>Clostridium botulinum</i> Typ E		Im Kern des Räucher- gutes gemessene Werte
	Maximum	Minimum	
Temperatur [°C]	40 - 45	3,3	Räucherung: mind. 60 Lagerung: max. 4
pH-Wert	8,5 - 8,6	5,1 - 5,0	6,4 - 6,7
a_w-Wert		0,97	0,983 - 0,986
NaCl-Konz.	5 %		2,4 %

Einen sicheren Schutz vor Botulismus bietet unter Berücksichtigung der erregerspezifischen Eigenschaften nur eine ausreichende Hitze einwirkung während des Räucherprozesses. Dabei soll eine Kerntemperatur von 80 °C erreicht und für mindestens 10 Minuten gehalten werden (WENZEL et al., 1971b; SPERBER, 1982). Zwingend erforderlich ist des weiteren eine geschlossene Kühlkette, die nach der Räucherung im Betrieb beginnt und über den Transport bis zur Lagerung im Handel und beim Verbraucher reicht. Bei konsequenter Kühllhaltung unter 5 °C, besser noch bei 3 °C, gehen innerhalb der üblichen Haltbarkeitsfristen keine gesundheitlichen Gefahren von vakuumverpacktem Räucherfisch aus (WENZEL et al., 1971b; DEHOF et al., 1989; SAUPE, 1989). Unter Berücksichtigung der hohen Konzentration von *Cl. botulinum* im Teichschlamm erscheint auch eine Verlängerung der Hälterungszeit für lebende Fische ratsam (STENGEL, 1997).

2.2.4 Kontaminationsmöglichkeiten während der Verarbeitung

Verarbeitungsschritte wie Salzen, Räuchern, Filetieren und Verpacken beeinflussen Menge und Zusammensetzung der Mikroflora, wobei sich insbesondere mangelnde Personal- und Betriebshygiene nachteilig auswirken. Der gesamte Herstellungsprozeß kann von einer primären und einer sekundären Kontaminationsphase überlagert werden. Während die primäre Phase alle Risiken einer hygienischen Belastung vor dem Räucherprozeß umfaßt, beginnt die sekundäre Phase nach dem Räuchern und schließt sämtliche Verarbeitungs-, Lager-, Transport- und Verkaufsvorgänge bis zur Abgabe an den Verbraucher ein (RAKOW, 1977).

2.2.4.1 Primäre Kontaminationsphase

Die mikrobielle Kontamination von frisch geschlachtetem Fisch breitet sich zunächst entlang des lockeren Bindegewebes aus (KARNOP, 1982).

Für gefrorene Rohware bietet der Auftauvorgang eine erste Kontaminationsmöglichkeit (PRIEBE, 1996). Desweiteren kann die Keimbelastung und Nutzungsdauer von Reinigungs- und Pökeltöpfen eine wichtige Rolle spielen. Im nächsten Schritt wird die Vermehrung mesophiler Mikroorganismen durch eine mehrstündige Trocknung bei Raumtemperatur vor dem Räuchern begünstigt (RAKOW, 1977; SAUPE, 1996). Beim Heilbutt als Stückenfischprodukt führt zudem das sog. Spießen im eßbaren Gewebe oft zu einer Keimverschleppung in die Tiefe (KARNOP, 1980a, 1980c).

Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, wird eine strikte Unterteilung der einzelnen Verarbeitungsschritte in eine unreine und eine reine Seite gefordert, wobei die reine Seite mit der Pökellung beginnt. Außerdem wird für alle Phasen bis zur Räucherung eine Umgebungstemperatur von maximal 8-12 °C empfohlen. Hierdurch reduziert sich die Keimvermehrung auf ein Minimum (WENZEL et al., 1971b; ANONYMOUS (1993).

2.2.4.2 Einfluß der Räucherung

Bei der Heißräucherung geht eine bakteriostatische bzw. mikrobiozide Wirkung vor allem durch die Einwirkung der erhöhten Oberflächentemperatur, den Austrocknungseff-

fekt und den Übergang antimikrobiell wirksamer Rauchbestandteile auf das Räuchergut aus. Letztere wirken jedoch häufig nur an der Oberfläche, dringen nicht in tiefere Schichten ein und verlieren mit fortdauernder Lagerung an Effektivität (RAKOW, 1977; SOFOS und BUSTA, 1980)

Qualität und Haltbarkeit der Räucherfische werden in erster Linie von der Räucherintensität bestimmt, die in Abhängigkeit von der Fischart, dem Wassergehalt der Muskulatur, der Art des Räucherverfahrens und besonders der persönlichen Erfahrung des Herstellungspersonals stark variiert (RAKOW, 1977; KARNOP, 1980c).

Bei der Würdigung aller Faktoren darf die konservierende Wirkung der Heißräucherung insgesamt nicht überbewertet werden, zumal die zur Zeit überwiegend angewandten Räuchertechnologien (kurzzeitige Kerntemperaturen von ca. 60 °C) keine sichere Abtötung der Mikroorganismen gewährleisten (RAKOW, 1977; KLEICKMANN und SCHELLHAAS, 1979; SOFOS und BUSTA, 1980; KRÜGER, 1982; SCHULZE und ZIMMERMANN, 1983; ZORN, 1992; SAUPE, 1996).

2.2.4.3 Sekundäre Kontaminationsphase

Nach dem Räuchern kann durch weitere Bearbeitungsschritte wie Filetieren, Verpacken, Lagern, Transport und Distribution eine nicht unerhebliche sekundäre Kontamination der geräucherten Fische stattfinden (RAKOW, 1977; KRÜGER, 1982; SAUPE, 1996).

Während der Weiterverarbeitung wirken als wichtige Faktoren Temperatur und Lagerfristen auf die Entwicklung der Keimflora ein. So beträgt in manchen Betrieben die Zwischenlagerzeit nach dem Räuchern 10-15 Stunden; in dieser Zeit kann insbesondere bei mangelnder Kühlung eine Vermehrung der nicht durch den Räucherprozeß abgetöteten Keime stattfinden. Daher ist eine schnelle, kontrollierte Temperaturabsenkung auf 3 °C anzustreben (WENZEL et al., 1971b; KRÜGER, 1982).

Bei der Weiterverarbeitung der geräucherten Fische schaffen die Manipulation beim Filetieren und das Ablösen der Haut Voraussetzungen für eine zusätzliche Keimbesiedlung und -vermehrung. In diesem Zusammenhang spielen die Umgebungstemperatur beim Filetieren, die Personalhygiene und der Luftkeimgehalt der Betriebsräume eine

entscheidende Rolle (WENZEL et al., 1971b; KLEICKMANN und SCHELLHAAS, 1979; FRIES et al., 1982; SCHULZE, 1985).

Nach ZORN (1992) sind jedoch selbst bei optimaler Betriebshygiene sekundäre Kontaminationen während der Filetierung und Verpackung nicht auszuschließen. Als Ursache kommen Kreuzkontaminationen zwischen Fischen und Gerätschaften sowie Einweghandschuhen, Styroporunterlagen und Verpackungsmaterialien in Frage. Schließlich wirken sich auch lange Verweilzeiten bis zur Verpackung der Filets sowie eine verzögerte Kühlung der verpackten Endprodukte nachteilig auf den Hygienestatus aus.

Nach der Herstellung läßt sich die Vermehrung der Kontaminationsflora lediglich durch eine geschlossene Kühlkette, die über Transport und Verkauf bis hin zum Verbraucher reicht, unter Kontrolle halten (WENZEL et al., 1971b; ZORN, 1992). Auf Grund der bei Fisch dominierenden psychrotrophen Verderbsflora fordert der Bundesverband des deutschen Fischgroßhandels (1997) eine strikte Kühlagerung bei ≤ 2 °C während Distribution und Präsentation im Handel.

2.2.5 Mikrobieller Verderb

Fisch und Fischerzeugnisse gehören aufgrund ihrer substantiellen Zusammensetzung zu den ernährungsphysiologisch hochwertigen Lebensmitteln, sie stellen aber gerade auch aus diesem Grund für Mikroorganismen einen hervorragend geeigneten Nährboden dar und sind deshalb unbedingt als leicht verderblich einzustufen. Im Vergleich zur Muskulatur der Säugetiere weist Fischfleisch einen hohen Wasser- und Proteingehalt in Verbindung mit einem geringen Anteil an locker strukturierten Bindegewebe auf; der pH-Wert des Fischfleisches liegt in der Nähe des Neutralpunktes (pH 6,0-7,0). Als weiteres Charakteristikum ist der hohe Gehalt an ungesättigten Fettsäuren und freien niedermolekularen Stickstoffverbindungen wie freie Aminosäuren, Peptide, Kreatin, Nukleotide und das überwiegend in Seefischen vorkommende Trimethylaminoxid (TMAO) zu nennen (KIETZMANN et al., 1969).

Für den bakteriellen Verderb von Frischfisch kommen überwiegend gramnegative psychrotrophe Mikroorganismen in Betracht (Tab. 3).

Unter Einwirkung mikrobieller Enzymsysteme erfolgt der Abbau der niedermolekularen Stickstoffverbindungen zu flüchtigen Substanzen, wie z.B. Schwefelwasserstoff, Mercaptane, Indol, Aldehyde, Ammoniak, Hypoxanthine und Trimethylamin. Diese Stoffe sind für die beim Fischverderb zu beobachtenden, charakteristischen Geruchs- und Geschmacksabweichungen verantwortlich (Tab. 4) (HOBBS, 1991; GRAM und HUSS, 1996).

Tab. 3: Spezifische Verderbsflora von frischem und verpacktem Fisch bei Kühlung (mod. nach GRAM und HUSS, 1996)

Atmosphäre	Spezifische Verderbsflora von gekühltem Frischfisch	
	Seefisch	Süßwasserfisch
aerob	<i>Shewanella putrefaciens</i> ^a <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.
Vakuum	<i>Shewanella putrefaciens</i> ^b <i>Photobacterium phosphoreum</i> ^b	Grampositive Bakterien ^d Milchsäurebakterien
CO ₂ (MAP)	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ^c	Milchsäurebakterien

^a LEVIN (1968), HERBERT et al. (1971), JØRGENSEN und HUSS (1989).

^b DALGAARD et al. (1993), JØRGENSEN et al. (1988).

^c DALGAARD et al. (1993), DALGAARD (1995).

^d HUSSAIN et al. (1976).

**Tab. 4: Durch mikrobiellen Abbau entstehende flüchtige Geruchs-/ Geschmacks-
komponenten (mod. nach GRAM und HUSS, 1996)**

Substrat (Produkt) Verderbserreger	TMAO (TMA)	Cystein (H ₂ S)	Methionin (Mer- captane)	andere Aminosäuren (Ketone,Ester, Aldehyde,NH ₃)	Nukleo- tide (Hypo- xanthin)	Kohle- hydrate (Säuren)
<i>S. putrefaciens</i>	+	+	+	?	+	+
<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-	+	+	+	?
<i>P. phosphoreum</i>	+	-	-	?	+	?
<i>Enterobacteriaceae</i>	+	(+)	?	+	+	+
Milchsäurebakterien	-	(+)	?	+	?	+
Hefen	-	-	-	+	?	+

Der sensorisch manifeste Verderb resultiert bereits aus solchen, dem eigentlichen Eiweißabbau vorgeschalteten, nicht-proteolytischen Umsetzungsreaktionen, an denen sich alle Keime der bakteriellen Verderbsassoziation beteiligen. Aus diesem Grund besitzt die Bestimmung der Konzentration proteolytisch aktiver Mikroorganismen nur untergeordneten diagnostischen Wert für die Beurteilung von Verderbsprozessen bzw. für den Frischezustand von Rohfischware (KARNOP, 1982).

Die Entstehung von organoleptischen Veränderungen hängt zudem von der Stoffwechselaktivität der beteiligten Keime ab. Diese wird ihrerseits unter anderem vom Sauerstoffpartialdruck beeinflusst, weshalb bei vakuumverpackten Fischen andere flüchtige Endprodukte des bakteriellen Stoffwechsels entstehen können als bei unverpackten (KARNOP, 1978, 1982; ZORN, 1992).

Im Gegensatz zum Frischfisch sind die Kenntnisse über den Verderb von Räucherfisch sehr begrenzt. Auf jeden Fall gehören Räucherfische zu den mittelgradig bis leicht verderblichen Lebensmitteln (Tab. 5), da sie je nach Erzeugnisart einen pH-Wert zwischen 5,4 und 6,9 sowie a_w -Werte zwischen 0,920 und 0,985 aufweisen. KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) fanden bei Räucherforellen pH-Werte zwischen 5,4 und 6,1 und a_w -Werte zwischen 0,92 und 0,93; dagegen lagen die pH-Werte in geräucherten Forellenfilets zwischen 6,0 und 6,7 (ZORN, 1992) bzw. zwischen 6,1 und 6,3 (SCHULZE, 1985). SCHULZE (1985) führte die Verderbsanfälligkeit von Räucherforellen/-filets auf ihren hohen Anteil an Eiweiß, ihren geringen Gehalt an Bindegewebe und ihre hohe Wasserkonzentration in Verbindung mit einem niedrigen Kochsalzgehalt zurück (Tab. 6).

Beim Verderb von Räucherfisch wird die Feuchtfäulnis von der Trockenfäulnis unterschieden. Bei der durch psychrotrophe gramnegative Bakterien (*Pseudomonas*, *Aeromonas* u.a.) verursachten Feuchtfäulnis kommt es zu erheblichen Veränderungen in der Muskulatur der Räucherfische; sie wird feucht, schmierig und riecht stechend-fischig. Die Trockenfäulnis befällt durchgeräucherte Fischprodukte, wenn sie unsachgemäß bei zu hohen Temperaturen über längere Zeit gelagert werden. Die Oberfläche der Fische erscheint stumpf, die Muskulatur bröckelig und teilweise entsteht ein muffig-fauliger Geruch. Ursache dieser Veränderungen bilden beim Räucherprozeß nicht abgetötete mesophile Keime, wie Mikrokokken und aerobe Sporenbildner. Aber auch Hefen als sekundäre Kontaminanten kommen in Betracht (RAKOW, 1989; SAUPE, 1996).

Eine weitere Art des Verderbs von unverpackten Räucherfischerzeugnissen stellt Schimmelbildung dar. Sie wird durch feuchte und zugleich warme Lagerung, Abpacken unzureichend abgekühlter Ware und geringen Luftzutritt begünstigt (ANTONACOPOULOS, 1968; LUDORFF und MEYER, 1973; KARNOP, 1980c; LÜBBE, 1982).

Tab. 5: pH- und a_w -Wert als Leitkriterien für die Haltbarkeit von Lebensmitteln (nach ROEDEL, 1975)

Haltbarkeit	pH-Wert		a_w -Wert	erforderliche Lagertemperatur
leicht verderblich	> 5,2	<i>und</i>	> 0,95	max. 5 °C
verderblich	5,0-5,2	<i>oder</i>	0,91-0,95	max. 10 °C
lagerfähig	< 5,2 < 5,0	<i>und</i> <i>oder</i>	< 0,95 < 0,91	Kühlung nicht erforderlich

Tab. 6: Substantielle Zusammensetzung von Räucherforellen (SCHULZE, 1985)

	Ganze Räucherforellen	Räucherforellenfilets
Rohprotein	22,5 %	23,2 %
Bindegewebseiweiß	0,5 %	0,6 %
BEFFE absolut	22,0 %	22,6 %
BEFFE relativ	97,8 %	97,4 %
Fett	2,3 %	2,3 %
Wasser	73,1 %	72,5 %
Kochsalz	1,8 %	1,8 %

Hinsichtlich der spezifischen Verderbsflora von Räucherfisch liegen bisher recht widersprüchliche Veröffentlichungen vor: Während HUSS und LARSEN (1980) annehmen,

daß hier diesselben Mikroorganismen wie beim Frischfisch (v.a. *Pseudomonas* spp.) verantwortlich sind, entwickelt sich laut HOBBS und HODGKISS (1982) in heißgeräucherten Produkten aufgrund der höheren Hitzeresistenz vornehmlich eine grampositive Flora. Nach BAUMGART (1993) führen insbesondere Enterobakteriazeen, Pseudomonaden, Laktobazillen, *Carnobacterium* sowie Hefen und Schimmelpilze zum Verderb.

Neuere Untersuchungsergebnisse (LEISNER, 1992; TRUELSTRUP HANSEN, 1995; TRUELSTRUP HANSEN et al., 1995; GRAM und HUSS, 1996) machen für den Verderb von Räucherfisch überwiegend Milchsäurebakterien (meist *Lc. curvatus*, seltener *Lc. saké/bavaricus*, *Lc. plantarum*, *Carnobacterium* und *Leuconostoc* spp.), einige psychrotrophe Enterobakteriazeen und/oder *Photobacterium phosphoreum* verantwortlich. Trotz der Dominanz der Milchsäurebakterien (10^7 - 10^8 KbE/g) treten häufig keine sensorischen Abweichungen auf, weshalb in diesen Fällen die Bestimmung der Gesamtkeimzahl für die Beurteilung der Verderbsprozesse keine Aussagekraft besitzt. Während die Mehrzahl der Milchsäurebakterien keine sensorischen Veränderungen verursachen, können einige Spezies mit dem Auftreten bestimmter geruchlicher Mängel (säuerlich, kohlig, schwefelig) in Zusammenhang gebracht werden. Deutliche olfaktorische Abweichungen werden dagegen bei der Vermehrung von Enterobakteriazeen der Gattung *Enterobacter* bzw. der Spezies *Hafnia alvei* und *Serratia liquefaciens* beobachtet.

Das Vakuumverpacken nach dem Heißräucherprozeß hemmt einen großen Teil der aeroben Mikroflora auf der Fiscoberfläche, so daß bestimmte Verderberscheinungen, wie Schimmelbildung, Tranigkeit und Ranzigkeit, in den Hintergrund treten. Andererseits werden anaerobe, fakultativ anaerobe und mikroaerophile Verderbserreger gefördert (DEHOF et al., 1989). Einige strikt aerobe Keime (z.B. *Pseudomonas* spp.) können sich allerdings auch unter anaeroben Bedingungen vermehren, indem sie freien Sauerstoff durch Denitrifikation verfügbar machen oder TMAO als Wasserstoff-Akzeptor nutzen (SKOVGAARD, 1979; HUSS und LARSEN, 1980).

Der Verderb vakuumverpackter Erzeugnisse erfolgt insbesondere durch Laktobazillen und Hefen, die säuerliche bzw. muffige Geruchs- und Geschmacksabweichungen bedingen (SCHULZE, 1985). Sensorische Befunde wie fäkalartig, säuerlich-muffig und muffig-faulig, die sich i.d.R. auch mit einer Abnahme der Festigkeit und zunehmenden Drip verbinden, lassen sich auf *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Hafnia alvei* und *Proteus vulgaris* zurückführen. Dagegen verursacht *Serratia liquefaciens* selbst bei Keimgehalten von $> 10^8$ KbE/g keine organoleptischen Veränderungen (ZORN, 1992).

2.2.6 Hygienische Beschaffenheit von heißgeräucherten Fischerzeugnissen im Handel

Über die mikrobiologische und sensorische Beschaffenheit von im Handel befindlichen Räucherfischerzeugnissen wurden in den letzten Jahren einige Arbeiten veröffentlicht, die übereinstimmend z. T. erhebliche mikrobielle Belastungen sowie sensorische Mängel belegen.

KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) überprüften 116 heißgeräucherte Fischerzeugnisse aus dem Einzelhandel mikrobiologisch und sensorisch, wobei 36,2 % der Proben erhebliche und 22,4 % leichte organoleptische Mängel aufwiesen. Speziell die untersuchten Forellenfilets waren zu einem hohen Prozentsatz (72,7 %) mit erheblichen sensorischen Abweichungen behaftet.

Die Ermittlung der aeroben Gesamtkeimzahl ergab eine breite Streuung der Werte mit einer Spannweite von $< 10^2$ bis über 10^8 KbE/g. Hohe Keimgehalte von über 10^6 KbE/g traten vor allem bei geräucherten Forellenfilets (10 von 11 Proben), Makrelen (21 von 41 Proben) und schwarzem Heilbutt (6 von 10 Proben) auf.

Die Werte für Enterobakteriazeen waren ähnlich verteilt: hohe Gehalte von über 10^6 KbE/g wurden in 6 geräucherten Forellenfilets (= 54,5 %) beobachtet. Als weitere Flo-rakomponente kamen bei 15 Proben Enterokokken in einer Höhe von 4×10^2 bis 2×10^6 KbE/g hinzu. Hiervon waren 5mal Forellenfilets (= 45,5 %) betroffen. Die restliche Mikroflora setzte sich aus unterschiedlichen Anteilen von Pseudomonaden, aeroben Sporenbildnern, Laktobazillen, Mikrokokken und Hefen zusammen.

KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) konnten eine enge Korrelation zwischen der Höhe der Keimgehalte und den sensorischen Befunden nachweisen. Organoleptisch einwandfreie Proben besaßen in 79 % der Fälle aerobe Gesamtkeimzahlen von unter 10^6 KbE/g und in 86,4 % der Fälle Enterobakteriazeen-Gehalte von unter 10^5 KbE/g. Andererseits verband sich das Auftreten von sensorischen Abweichungen bei 90,5 % der Proben mit Gesamtkeimzahlen im Bereich von 10^6 bis über 10^8 KbE/g. Die Enterobakteriazeen-Gehalte erreichten bei 69 % der organoleptisch zu beanstandenden Proben Werte von 10^5 bis über 10^8 KbE/g.

Auf Grund gehäufter Beanstandungen von vakuumverpackten Räuchermakrelen führten SCHULZE und ZIMMERMANN (1983) Erhebungen an verschiedenen vakuumverpackten Räucherfischerzeugnissen aus dem Handel durch. Die Studie umfaßte eine Prüfung sensorischer, mikrobiologischer sowie chemischer Parameter (Histamin- und Ca-

daveringehalte). Sensorische Mängel bestanden bei 35,4 % aller Proben (n=130) und bei 75 % der untersuchten Forellenfilets (n=12). Hohe aerobe Gesamtkeimzahlen von über 10^6 KbE/g fanden sich bei 46 von 130 Räucherfischen (=35,4 %), worunter auch 11 von 12 Forellenfilets fielen. Der Gehalt an Enterobakteriazeen, Pseudomonaden und Aeromonaden lag bei 75 % der Forellenfilets unter 10^4 KbE/g. Laktobazillen wurden nicht bestimmt.

Wie schon KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) erkannten auch SCHULZE und ZIMMERMANN (1983) einen Zusammenhang zwischen dem sensorischen Befund und dem bakteriologischen Status; denn 85 % der Proben ohne sensorische Veränderungen wiesen aerobe Gesamtkeimzahlen von $< 1 \times 10^6$ KbE/g auf, während bei 72 % der Proben mit organoleptischen Mängeln Keimzahlen von über 10^6 KbE/g auftraten. Eine solche Korrelation war im Fall der Enterobakteriazeen, Pseudomonaden und Aeromonaden (E/Ps/A) nicht zu beobachten. Zwar wurden bei 98 % der Proben ohne sensorische Veränderungen E/Ps/A-Gehalte von unter 10^4 KbE/g ermittelt, gleichzeitig wiesen auch 62 % der Proben mit entsprechenden Abweichungen eine E/Ps/A-Kontamination unter 10^4 KbE/g auf. Desweiteren erstreckte sich die Untersuchung auf die Besiedlung mit Hefen (positive Nachweise bei 22 Proben (n=78) mit einem maximalen Gehalt von 6×10^6 KbE/g) sowie Enterokokken (positive Nachweise in 6 Proben (n=64) mit einem maximalen Gehalt von 6×10^5 KbE/g). In 39,5 % der Proben mit sensorischen Mängeln wurden überhöhte Amingehalte von > 50 mg/kg Histamin und /oder Cadaverin ermittelt. Solche Befunde traten vor allem bei geräucherten Makrelen auf, während in geräucherten Forellenfilets nur geringe Konzentrationen vorlagen.

Die hohe Beanstandungsquote von 29 % führten SCHULZE und ZIMMERMANN (1983) auf ungenügende hygienische Beschaffenheit der Rohware, zu großzügig bemessene Haltbarkeitsfristen und Vernachlässigung der Warenpflege im Handel (z.B. fehlende Kühlung) zurück.

KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) machten vor allem Transport- und Lagerungseinflüsse für die erhebliche Keimbelastung der aus dem Handel stammenden Räucherfische verantwortlich. Bezüglich der bei den verschiedenen Produktgruppen variierenden Keimgehalte wurden technologische und artspezifische Einflüsse vermutet.

JÖCKEL et al. (1986) untersuchten die sensorische und mikrobiologische Qualität von 208 vakuumverpackten Räucherfischprodukten aus dem Handel, einerseits direkt nach Probeneingang, andererseits am Ende der Mindesthaltbarkeitsfrist.

Von den 40 Räuchermakrelen und 31 geräucherten Makrelenfilets enthielten 75 % der Proben über 10^6 KbE/g, 35 % sogar über 10^7 KbE/g. Den Hauptfloraanteil bildeten die Laktobazillen, vereinzelt traten auch aerobe Sporenbildner und Hefen auf. Enterobakteriazeen kamen bei 60 % der Proben vor, häufig (40 %) mit Keimkonzentrationen von über 10^5 KbE/g. Sensorische Abweichungen ließen sich nur selten nachweisen.

Für Aal (n=16) und Erzeugnisse aus Hering (n=57) wurden mit durchschnittlich 10^5 - 10^6 KbE/g relativ niedrige Gesamtkeimzahlen ermittelt. Enterobakteriazeen waren jeweils nur in ca. 25 % der Erzeugnisse vertreten.

Dagegen lag die durchschnittliche Gesamtkeimzahl für Forellen/-filets (n=56) in einer Größenordnung von über 10^7 KbE/g. Weiterhin enthielten 50 % der Forellen und über 60 % der Forellenfilets Enterobakteriazeen in hoher Dichte. Dementsprechend häufiger bestanden sensorische Mängel.

HARMS und KRUSE (1976) ermittelten den bakteriologischen Status von vakuumverpackten Räucheraalen (n=14) aus dem Handel. Die aerobe Gesamtkeimzahl lag zwischen $< 10^2$ KbE/g und 10^3 KbE/g. Enterokokken und Enterobakteriazeen kamen nur in je zwei Proben in einer Höhe von 10^3 bis 10^4 KbE/g vor.

Durchschnittliche Gesamtkeimzahlen von 4×10^6 KbE/g fand RAKOW (1977) in heißgeräucherten Fischprodukten (n=56) aus Verkaufsstellen, wobei Maximalwerte bis zu 2×10^7 KbE/g auftraten. Hohe Keimbelastungen wiesen vor allem schwarzer Heilbutt, Makrele und Bücklingsfilet auf. Der Enterokokkengehalt lag zumeist unter 10^3 KbE/g. Eine Beziehung zwischen dem aeroben Gesamtkeimgehalt und den sensorischen Befunden konnte in Ermangelung organoleptischer Abweichungen nicht überprüft werden.

Eine kanadische Erhebung (DODDS et al., 1992) beschäftigte sich mit der mikrobiologischen Beschaffenheit von heiß- und kaltgeräucherten Fischerzeugnissen aus dem Einzelhandel. Direkt nach der Einlieferung analysierte Proben (n=100) zeigten eine breite Streuung der aeroben Gesamtkeimgehalte. Im Gegensatz zu anderen Studien wurden bei einem großen Teil (77 %) der Proben nur relativ geringe Keimzahlen (unter 10^5 KbE/g), bei 39 % der Proben sogar unter 10^3 KbE/g, ermittelt. Coliforme Keime waren bei 4 Proben (=4 %) in einer Größenordnung von über 10^3 KbE/g vertreten, aus 70 % der Proben ließ sich diese Keimgattung jedoch nicht anzüchten. Nach einer 30tägigen Lagerung bei 4°C enthielten 56 % der untersuchten Proben (n=66) Gesamtkeimzahlen von über 10^7 KbE/g. Coliforme kamen in 15 Proben (=22,7 %) in einer Höhe von über 10^3 KbE/g vor.

Nach einer finnischen Marktstudie wiesen 55 % der heißgeräucherten vakuumverpackten Forellen (n=42) Keimgehalte von unter 10^3 KbE/g auf. Die Laktobazillenzahlen lagen bei 79 % der Proben unter 10^3 KbE/g. Enterobakteriazeen traten nicht auf, und *L. monocytogenes* wurde nur ein Mal (=2 %) isoliert (LYHS et al., 1998).

Im Rahmen der mikrobiologischen Untersuchung von heißgeräucherten Fischprodukten (n=112) aus dem Handel stellten KOLLOWA und SCHULENBURG (1997) eine je nach Produktgruppe unterschiedlich hohe Keimbelastung fest. Während sich bei schwarzem Heilbutt (n=30) eine mittlere Gesamtkeimzahl von $2,8 \times 10^6$ KbE/g fand, enthielten Makrelen (n=32) nur durchschnittlich $2,5 \times 10^3$ KbE/g. Aus geräucherten Forellenfilets (n=11) wurden durchschnittlich $2,2 \times 10^5$ KbE/g isoliert, wobei die einzelnen Ergebnisse mit Werten zwischen $2,6 \times 10^3$ und $8,0 \times 10^7$ KbE/g stark streuten.

Bei Mittelwerten zwischen $5,8 \times 10^2$ (Makrelen) und $3,0 \times 10^3$ KbE/g (Makrelenfilets) verhielten sich die Enterobakteriazeen-Gehalte relativ einheitlich, lediglich 20 % der Proben überschritten eine Grenze von $2,8 \times 10^5$ KbE/g. Der Anteil der Laktobazillen und Hefen am Gesamtkeimgehalt fiel recht gering aus; lediglich beim Heilbutt waren Laktobazillen in einer mittleren Größenordnung von $9,5 \times 10^4$ KbE/g vertreten. Bei Sprotten kamen Hefen mit durchschnittlich $5,6 \times 10^4$ KbE/g vor.

In geräucherten Forellenfilets lagen die ermittelten Keimgehalte für Laktobazillen, Hefen und Schimmelpilze jeweils unter der Nachweisgrenze und Enterobakteriazeen konnten nicht isoliert werden. Eine Untersuchung auf Pseudomonaden unterblieb.

2.2.7 Lagerverhalten von heißgeräucherten Fischerzeugnissen

Über die Lagerfähigkeit heißgeräucherter Fischprodukte bei verschiedenen Kühltemperaturen gibt es bisher nur wenige Informationen in der zugänglichen Literatur. SCHULZE und ZIMMERMANN (1983) untersuchten verschiedene Räucherfischprodukte aus dem Handel sowohl nach Probeneingang als auch nach Lagerung bei 4-6 °C am Ende der deklarierten Haltbarkeitsfrist.

In vakuumverpackten Makrelenerzeugnissen (n =12) stiegen bis Lagerungsende (max. 30 Tage) in 4 Fällen die Gesamtkeimzahl und in zwei Fällen der Gehalt an Enterobakteriazeen/Pseudomonaden/Aeromonaden (E/P/A) um zwei bis vier Zehnerpotenzen an. Die restlichen 6 Proben waren nicht zu beanstanden. Sämtliche unverpackten Makrelenerzeugnisse (n=9) zeigten nach 12 bzw. 20tägiger Lagerung bei 6 °C ausgeprägte Verderberscheinungen, die mit schimmelig-muffigen Geruchsabweichungen sowie ei-

ner Zunahme von Hefen und E/P/A einhergingen. Bei vakuumverpackten Forellenfilets (n=4) nahm in allen Probenpaaren bereits nach 7-10tägiger Kühlung Lagerung der Keimgehalt deutlich zu.

KRÜGER (1982) überprüfte die Lagerfähigkeit von geräucherten, vakuumverpackten Forellenfilets (n=89) bei 5 °C.

Am Herstellungstag betrug die durchschnittliche Keimbelastung des Fertigprodukts $1,7 \times 10^4$ KbE/g. Bis zum 7. Lagerungstag fand keine Erhöhung der mittleren aeroben Gesamtkeimzahl statt ($1,1 \times 10^4$ KbE/g). Danach jedoch erfolgte bis zum 14. Lagerungstag eine signifikante Vermehrung der Bakterienpopulation, so daß der mittlere Keimgehalt am 14. Tag bei $2,8 \times 10^6$ KbE/g lag. Während der weiteren Aufbewahrung bis hin zum 56. Tag stellten sich durchschnittliche Gesamtkeimgehalte von $4,1 \times 10^7$ bis $1,0 \times 10^8$ KbE/g ein. Über den gesamten Zeitraum wiesen die Einzelwerte eines Versuchstages eine breite Streuung von 3-4 Zehnerpotenzen auf.

Überraschenderweise bildeten sich trotz der hohen Keimbelastung nur selten sensorische Abweichungen aus. Bei einigen Proben mit einem Keimgehalt von 10^8 KbE/g manifestierten sich die Veränderungen als leicht fischige Geruchskomponente und deutliche Flüssigkeitsansammlung in der Packung. Im Laufe der Lagerung nahmen Enterobakteriazeen und Staphylokokken zu. Beide Gruppen konnten in insgesamt 57,3 % bzw. 24,7 % der Proben nachgewiesen werden.

SCHULZE (1985) führte Untersuchungen zur mikrobiologischen Beschaffenheit und Haltbarkeit von Räucherforellen aus einer Aquakultur durch, indem er vakuumverpackte ganze Forellen (n=45) und Forellenfilets (n=45) über 21 Tage bei 4 °C und 10 °C lagerte. Die Ausgangskeimgehalte betrugten einen Tag nach Herstellungsabschluß durchschnittlich $4,6 \times 10^2$ KbE/g für Forellenfilets bzw. $< 2,0 \times 10^2$ KbE/g für ganze Räucherforellen. Nach vier Tagen stieg die aerobe Gesamtkeimzahl unabhängig von der Herstellungsform auf ca. 10^4 KbE/g an. Hohe Belastungen von ca. 10^6 KbE/g, die regelmäßig mit sensorischen Veränderungen einhergingen, ergaben sich für Forellenfilets nach 10tägiger Lagerung bei 10 °C bzw. nach 21tägiger Lagerung bei 4 °C. In ganzen Räucherforellen wurden bei 10 °C erste geruchlich-geschmackliche Abweichungen nach 14 Tagen beobachtet (max. Keimgehalt $3,6 \times 10^5$ KbE/g).

Im Laufe der Lagerung bildeten Laktobazillen den Hauptfloraanteil, gefolgt von Hefen und Enterokokken. Die Enterobakteriazeen-Gehalte unterschritten mit einer Ausnahme die methodisch bedingte Nachweisgrenze von 2×10^2 KbE/g. Demzufolge traten auch

keine auf Proteolyse beruhenden Fäulniserscheinungen auf, es überwogen vielmehr Säuerung und muffiger Gesamteindruck.

Auch eine Erhebung von ZORN (1992) befaßte sich mit den Qualitätsverlusten heißgeräucherter, vakuumverpackter Forellenfilets (n=200) während einer 25tägigen Lagerung bei 4 °C, 8 °C und 20 °C.

Unabhängig von der gewählten Lagertemperatur (4 °C bzw. 8 °C) lagen einen Tag nach der Herstellung die Keimgehalte fast ausnahmslos unterhalb der methodisch bedingten Nachweisgrenze von 1×10^2 KbE/g. Bei 4 °C kam es nach dem 7. Lagertag zu einem steilen Keimanstieg, infolge dessen sich nach 13 Tagen Werte von 10^6 KbE/g einstellten. Eine Verdoppelung der Temperatur auf 8 °C bewirkte eine Halbierung der Generationszeit der Mikroorganismen, so daß schon ab dem 4. Lagertag exponentielles Wachstum auftrat und bereits am 7. Tag durchschnittliche Keimzahlen von 10^6 KbE/g bestanden. In ungekühlt (20 °C) gelagerten Produkten wurde schon nach 24 h eine durchschnittliche Keimzahl von 10^6 KbE/g nachgewiesen.

Analog zu den Untersuchungen von KRÜGER (1982) waren an alle Versuchstagen große Schwankungen (2-3 Zehnerpotenzen) in den Keimzahlen zu verzeichnen, die ZORN (1992) auf Unterschiede in der Höhe der initialen Mikroorganismenbelastung, der sekundären Kontamination, der Anpassungsphase verschiedener Bakterienspezies und auf den verzögerten Wachstumsbeginn der durch den Räucherprozeß subletal geschädigten Keime zurückführte. Die im Laufe der Lagerung vorhandene Mikroflora erwies sich in allen Temperaturbereichen als sehr heterogen. Sie umfaßte unterschiedliche Mikroorganismen wie *Brochothrix thermosphacta*, Carnobakterien, Enterobakterien (v.a. *Serratia*), *Moraxella*, Laktobazillen, Mikrokokken, Staphylokokken, Pseudomonaden und Hefen.

Im Rahmen der sensorischen Untersuchung bestand kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Keimgehalte bzw. dem Nachweis spezifischer Mikroorganismen und einem wahrnehmbaren Verderb. Nur 37 % der Proben mit Gesamtkeimgehalten von $\geq 10^6$ KbE/g wiesen geschmackliche und/oder geruchliche Veränderungen auf.

Untersuchungen von KARNOP (1980, 1980b, 1980c) befaßten sich mit den lagerungsbedingten Veränderungen von heißgeräuchertem, unverpacktem Heilbutt, Bückling und Aal in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur. Die Auswirkung dieses Parameters auf die nach rein sensorischen Kriterien beurteilte Haltbarkeit war beträchtlich. Für Heilbutt und Bückling verdoppelte sich die Verderbsgeschwindigkeit bei Erhöhung der Lagertemperatur von 6 °C auf 12 °C. Beim Aal fiel der Einfluß deutlich geringer aus.

Für Aal und Bückling ließen sich nur in stark eingeschränktem Maße Haltbarkeitsfristen aus den mikrobiologischen Befunden ableiten, da diese Produkte nur selten bakteriellen Verderb entwickelten. So wurden lediglich bei 9,3 % der Bücklinge während der 15 tägigen Lagerung bei 6 °C Keimgehalte von $> 10^2$ KbE/g erreicht, bei 12 °C stieg der Anteil mit 15 % nur geringfügig an. In 90,7 % der Aalproben unterschritten die Keimgehalte bis zum Ende der Genußtauglichkeit die Nachweisgrenze von 20 KbE/g. Im Gegensatz dazu verdarb Heilbutt als stark wasserhaltiger Stückenfisch in erster Linie durch bakterielle Zersetzung vom Spießloch her. Bei 6 °C wurden nach 5-6tägiger Lagerung Keimzahlen von 10^7 KbE/g erreicht, bei 12 °C bereits nach 1-2 Tagen.

2.3 Grenzwerte und Mindesthaltbarkeitsempfehlungen

Obwohl seit längerer Zeit vielfach darauf hingewiesen wird, daß heißgeräucherte Fischerzeugnisse ein hygienisches Risiko darstellen, gibt es bislang für dieses Lebensmittel keine verbindlichen Rechtsnormen. Richtwerte der ICMSF (1986) liegen zur Zeit lediglich für Frischfisch, gefrorenen sowie kaltgeräucherten Fisch vor. Ergänzend sind von verschiedenen Autoren Grenzwerte vorgeschlagen worden.

Im Rahmen der Untersuchung von diversen heißgeräucherten Fischprodukten dokumentierten KLEICKMANN und SCHELLHAAS (1979) eine enge Korrelation zwischen der Ausprägung sensorischer Abweichungen und der Höhe der Gesamtkeimzahl (bei 90,5 % der Proben $\geq 10^6$ KbE/g) bzw. den Gehalten an Enterobakteriazeen (bei 69 % $\geq 10^5$ KbE/g). Auf der Basis dieser Befunde schlugen sie für die GKZ Grenzwerte von 10^6 KbE/g und für Enterobakteriazeen von 10^5 KbE/g vor, bei deren Anwendung nach Ansicht der Autoren jedoch zusätzlich produktspezifische (intrinsic factors) und nicht-mikrobiell bedingte Einflußfaktoren (z.B. Herrichtungsart) zu berücksichtigen sind.

Für verpackte Makrelenerzeugnisse empfahlen SCHULZE und ZIMMERMANN (1983) ebenfalls aufgrund des signifikanten Zusammenhangs zwischen sensorischen Mängeln und Gesamtkeimgehalt (72 % der Proben $\geq 10^6$ KbE/g) einen Grenzwert von 10^6 KbE/g für die GKZ und von 10^4 KbE/g für Enterobakterien, Pseudomonaden und Aeromonaden.

Die unterstellte Korrelation zwischen Sensorik und mikrobiologischem Status konnten weder RAKOW (1977) bei im Handel erhältlichen Räucherfischen noch ZORN (1992)

sowie KRÜGER (1982) bei der Untersuchung geräucherter, vakuumverpackter Forellenfilets bestätigen. Nicht einmal bei Gesamtkeimzahlen von über 10^8 KbE/g stellten sich sensorische Abweichungen ein. Trotzdem wurden in Übereinstimmung mit den anderen Autoren Gesamtkeimgehalte von $\geq 10^6$ KbE/g als hygienisch bedenklich eingestuft.

Im Gegensatz zu den bisherigen Publikationen stand für KOLLOWA und SCHULENBURG (1997) die Festlegung eines Höchstwertes für Enterobakteriaceen mit 10^5 KbE/g im Vordergrund, da sich nach ihrer Ansicht die Ableitung von Standards für die GKZ aufgrund produktspezifischer Schwankungen nur bedingt empfiehlt. Als oberen Grenzbereich für geräucherten Heilbutt schlug KARNOP (1980c) einen Gesamtkeimgehalt zwischen 5×10^5 und 1×10^6 KbE/g vor.

Die meisten Autoren wiesen jedoch darauf hin, daß die genannten kritischen Keimzahlwerte in der Regel nicht als alleiniges Beurteilungskriterium fungieren dürfen, sondern vielmehr der Ergänzung und Objektivierung des sensorischen Befundes dienen.

Um die mikrobiologischen Normen einhalten zu können, wurden wegen der leichten Verderblichkeit von Fischerzeugnissen auch eine Begrenzung der zu deklarierenden Haltbarkeitsfrist und strengere Vorschriften hinsichtlich der Lagertemperatur dringend empfohlen (Tab. 7).

Der Verband der fischverarbeitenden Industrie schlägt für heißgeräucherte Fischerzeugnisse eine Haltbarkeitsdauer von 16 Tagen bei konsequenter Kühlung vor. Bereits 1977 empfahl ein Entwurf des Code of Practice for Smoked Fish der FAO/WHO eine ständige Kühlung bei $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (DEHOF et al., 1989).

Wegen zahlreicher technologischer und fischartspezifischer Unterschiede sollten die ermittelten Haltbarkeitsfristen jedoch nicht pauschal und ungeprüft auf andere Räucherfischprodukte bzw. andere Hersteller übertragen werden. In die Festlegung von Mindesthaltbarkeitsdaten und Lagertemperaturen müssen auch die Herkunft (Aquakultur, Teichwirtschaft), betriebseigene Gegebenheiten (z.B. Dauer der Verarbeitungsprozesse) sowie die Herrichtungsform (ganz, filetiert oder Stückenfisch) Eingang finden. Als Schlußfolgerung verneinen verschiedene Autoren den Wunsch nach einer universalen Mindesthaltbarkeitsfrist für die Gruppe der heißgeräucherten Fischerzeugnisse (SCHULZE, 1985; JÖCKEL et al., 1986; ZORN, 1992).

Tab. 7: Empfehlungen zu Mindesthaltbarkeit und Lagertemperatur für verschiedene heißgeräucherte, vakuumverpackte Fischerzeugnisse

Produkt	Lager- temperatur [°C]	Mindest- haltbarkeit [Tage]	Autoren
Forellenfilets	4	10	WISSMATH (1983)
Forellenfilets	5	7-10	FRIES et al. (1982)
Forellenfilets	4-6	10-12	SCHULZE (1985)
Ganze Forellen	4-6	16-18	SCHULZE (1985)
Forellenfilets	4	10	ZORN (1992)
Makrelenerzeugnisse	5	20-25	SCHULZE und ZIMMERMANN (1983)
Makrelenfilets	≤ 7	21	JÖCKEL et al. (1986)

2.4 Untersuchungsmethoden zur Beurteilung von Räucherfisch

Zur Qualitätsbeurteilung von Fisch und Fischerzeugnissen werden sensorische, mikrobiologische, chemische und physikalische Verfahren angewandt. Als wichtigstes Kriterium für den Frischegrad gilt dabei der sensorische Befund, der Aussehen, Konsistenz, Geruch und Geschmack umfaßt (ANTONACOPOULOS, 1968b).

Die organoleptische Beschaffenheit von Räucherfisch hängt im starken Maße von der Räucherintensität ab. So werden geringe sensorische Veränderungen häufig durch das typische Raucharoma überdeckt (KARNOP, 1980c; DEHOF et al., 1989; ZORN, 1992).

Nach Untersuchungen von ZORN (1992) stellt die Qualitätsbestimmung von geräucherten, vakuumverpackten Forellenfilets eine differenzierte Aufgabe dar, wobei sich die besten Ergebnisse durch die Ermittlung der aeroben Gesamtkeimzahl und die sensorische Prüfung erzielen lassen. Die mikrobiologische Untersuchung sollte über die Gesamtkeimzahl hinaus aufgrund der unterschiedlichen Stoffwechselaktivitäten der Mikroorganismen den Nachweis von Enterobakteriaceen und Enterokokken als mögliche

Fäkal- bzw. Verderbnisindikatoren umfassen und selbstverständlich auch die pathogenen Keime einschließen.

Nach der Meinung verschiedener Autoren sollte der sensorische Befund das Leitkriterium für die Beurteilung von Räucherfisch bilden, weil bestimmte Veränderungen, zu denen beispielsweise Tranigkeit, Ranzigkeit, phenoliger Geschmack und Eintrocknung gehören, unabhängig vom aktuellen bakteriologischen Status auftreten. Die mikrobiologischen Daten sollten nur als objektives Hilfskriterium zur Untermauerung der organoleptischen Befunde dienen (KLEICKMANN und SCHELLHAAS, 1979; SCHULZE und ZIMMERMANN, 1983; NIEPER und STOCKEMER, 1986). In diesem Sinne fordern auch KOLLOWA und SCHULENBURG (1997), zur Beurteilung der hygienischen Beschaffenheit von Fischprodukten in erster Linie das Ergebnis der sensorischen Prüfung in Verbindung mit dem Enterobakteriazeen-Gehalt heranzuziehen.

Als Hilfskriterien zur Qualitätsbeurteilung von Fisch und Fischerzeugnissen werden physikalische Methoden (Messung des pH-Wertes) sowie vor allem chemische Verfahren eingesetzt. Neben dem Nachweis der flüchtigen Amine (z.B. Ammoniak, Monomethyl-, Dimethyl- und Trimethylamin) steht dabei insbesondere die Bestimmung des flüchtigen basischen Stickstoffs (TVB-N) im Vordergrund (REHBEIN und OEHLenschläger, 1982; LANG, 1983; STOCKEMER und KRUSE, 1985; NIEPER und STOCKEMER, 1986; OEHLenschläger, 1989; MALLE und POUMEYROL, 1989).

Bei der Interpretation der Analysenergebnisse ist zu berücksichtigen, daß der TVB-N-Gehalt je nach Fischart, Produkttyp, Lagerform, Verderbsflora und Untersuchungsmethodik variiert sowie letztlich auch von biologischen Parametern wie Reifegrad, Geschlecht, Alter und Ernährungszustand abhängt (REHBEIN und OEHLenschläger, 1990).

Während sich der TVB-N-Gehalt in Verbindung mit und zur Bestätigung sensorischer Befunde als adäquater Parameter zur Ermittlung des Frischezustandes bei rohen Seefischen erweist, wird seine Eignung zur Bewertung von Fischprodukten wesentlich zurückhaltender beurteilt. So fanden sich in geräucherten Seefischen deutlich höhere Werte als bei der Rohware (RAKOW, 1989). Als Ursache wurden entweder eine durch das Räuchern bewirkte Gewichtsreduzierung oder eine geringere Verflüchtigung des basischen Stickstoffs aufgrund der festeren Oberfläche des Räuchermaterials vermutet.

Außerdem bestand während der Lagerung ein Zusammenhang zwischen der Verderbnisform und dem Anstieg der TVB-N-Gehalte. Während sich bei Trockenfäulnis die Werte nur wenig erhöhten (ca. 15-25 %), fand bei Feuchtfäulnis ein Anstieg um ca. 60 %-Punkte im Verhältnis zur Ausgangsprobe statt. Nach Auffassung des Autors sollte daher für die Beurteilung von geräuchertem Seefisch die sensorische Beschaffenheit ausschlaggebend sein.

Bei der Untersuchung an geräucherten Forellenfilets stellen sowohl die Messung des pH-Wertes als auch die Bestimmung der TVB-N-Gehalte aufgrund der Streubreite der Resultate keine eigenständigen Qualitätskriterien dar, sondern können nur zur Unterstützung der mikrobiologischen und sensorischen Ergebnisse dienen (ZORN, 1992).

Hinsichtlich der flüchtigen Amine wies DEUFEL (1963) darauf hin, daß sich die bei Seefischen mit gutem Erfolg angewandte TMA-Bestimmung nicht auf Süßwasserfische übertragen läßt, weil diese kein TMAO enthalten. REHBEIN und OEHLenschläGER (1990) hoben die Bedeutung von Ammoniak hervor, welches bei der Lagerung von Süßwasserfischen den Hauptanteil (nahezu 100 %) der TVB-N-Fraktion bildet.

Dem Nachweis biogener Amine als weiteren chemischen Parameter kommt bei Räucherfisch nur eine begrenzte Aussagekraft zu, weil überhöhte Gehalte weniger in den geräucherten Fertigerzeugnissen entstehen, sondern eher der Rohware zuzuschreiben sind (SCHULZE und ZIMMERMANN, 1982; SCHULZE und ZIMMERMANN, 1983). Daß der Histamingehalt in der Muskulatur von Makrelen nicht isoliert betrachtet, sondern nur unter Berücksichtigung der Sensorik als Maßstab für den Verderb herangezogen werden sollte, wird auch von PRIEBE (1984) gefordert.

Untersuchungen an frischen und geräucherten Makrelen sprechen für eine deutlich verzögerte Histaminbildung in geräucherter Ware. Bei ungünstigen Kühlbedingungen (10-12 °C) stellt sich jedoch selbst bei nur geringgradiger Besiedlung der Oberfläche mit histaminbildenden Mikroorganismen (*Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*) eine massive Keimvermehrung und Histaminbildung ein (JÖCKEL et al., 1986).

Als weitere chemische Parameter zur Feststellung des Frischezustandes wurden der enzymatische Nachweis von Hypoxanthin (JAHNS et al., 1976) sowie die enzymatische Bestimmung des Ethanolgehaltes vorgeschlagen. Vor allem bei Fischprodukten mit geringem TMAO-Gehalt, wie Süßwasserfischen, bietet der Ethanolgehalt einen brauchbaren Verderbsindikator (REHBEIN, 1993).

2.5 Kühlagerung

2.5.1 Gesetzliche Grundlagen und Empfehlungen

Die Anforderungen an die Kühlung von Lebensmitteln sind in verschiedenen gesetzlichen Bestimmungen festgelegt. Konkrete Temperaturangaben finden sich vor allem in den speziellen Produktverordnungen. Alle sonstigen leichtverderblichen Lebensmittel, für die keine eigenen Vorschriften bestehen, sollten nach einer Empfehlung des BGVV (1998) bei höchstens +7 °C gelagert werden.

Obwohl Räucherfischerzeugnisse zu den leichtverderblichen Lebensmitteln zählen, fehlen für diese Produktgruppe bislang verbindliche Temperaturvorgaben. Für Fische und bestimmte Fischerzeugnisse sind Höchsttemperaturen für Lagerung und Transport in Anlage 1 Kapitel 6 Nr. 4 der Fischhygiene-Verordnung festgelegt. Während frische Fischerzeugnisse bei einer Temperatur von max. +2 °C oder in schmelzendem Eis aufzubewahren sind, gilt für tiefgefrorene Erzeugnisse die übliche Höchsttemperatur von -18 °C. Dagegen bestehen für verarbeitete Fischerzeugnisse, wie z.B. Räucherfisch, Anchosen, Marinaden, Brat- und Kochfischwaren, keine konkreten Bestimmungen, sondern die Lagertemperatur kann vom Hersteller frei gewählt werden.

Auch die neue bundeseinheitliche Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV) enthält im Gegensatz zu den alten Länderregelungen keine konkreten Temperaturvorschriften, sondern lediglich die allgemeine Forderung nach „geeigneten“ Temperaturen. In den früheren Hygiene-Verordnungen der einzelnen Bundesländer waren z. B. in Hessen und Niedersachsen für die Lagerung von Fischerzeugnissen Produkttemperaturen von max. +7 °C festgelegt.

In anderen EU-Mitgliedsstaaten unterliegt die Kühlagerung von Räucherfischerzeugnissen wesentlich strengeren Anforderungen. So berichtete STENGEL (1997), daß für Lagerung und Transport von vakuumverpacktem Räucherfisch in Finnland eine Temperatur von max. +3 °C vorgeschrieben ist, um gegebenenfalls die Vermehrung von *Cl. botulinum* in kontaminierten Produkten zu verhindern. Seitens der schwedischen Lebensmittel-Behörde besteht ein Hinweis, wonach vakuumverpackter Räucherfisch nicht länger als drei Wochen bei max. +4 °C gelagert werden sollte, da sich sonst pathogene Mikroorganismen wie *Cl. botulinum* und *L. monocytogenes* vermehren können (STATENS LIVSMEDELSVERKS FÖRFATTNINGSSAMLING, 1996; SIGYN,

1996). Auch das ROBERT KOCH INSTITUT (1997) stuft vakuumverpackten Räucherfisch als Risiko-Lebensmittel ein. Für die Aufbewahrung wird eine Temperatur von unter +5 °C vorgeschlagen, ebenfalls mit der Begründung, die Gefahr einer Vermehrung und Toxinbildung von *Cl. botulinum* Typ E zu unterbinden. Der Code of Practice for Smoked Fish der FAO/WHO empfahl bereits im Entwurf von 1977 eine Lagertemperatur von +3 °C für heißgeräucherten Fisch (DEHOF et al., 1989).

Im Schrifttum werden vereinzelt Lagertemperaturen für geräucherte Fischprodukte vorgeschlagen. So weisen verschiedene Autoren darauf hin, daß bei längerer Aufbewahrung von Räucherfisch, insbesondere in zu warm eingestellten Kühlmöbeln, mit einer Vermehrung von *L. monocytogenes* zu rechnen ist. Um das Infektionsrisiko für den Verbraucher zu minimieren, wird für Herstellung, Distribution und Lagerung im Handel eine Kühltemperatur von ≤ 4 °C gefordert (JEMMI und KEUSCH, 1992; JEMMI, 1993; LONCAREVIC et al., 1996).

2.5.2 Mikrobiologische Vorgänge beim Kühlen

Die Einhaltung bestimmter Kühltemperaturen stellt bei vielen Lebensmitteln die wesentliche – wenn nicht einzige – Möglichkeit dar, die Vermehrung von Mikroorganismen unter Kontrolle zu halten. Allerdings läßt sich das Wachstum vieler Verderbserreger und pathogener Keime nur verlangsamen, nicht aber verhindern (SINELL, 1992).

Die Vermehrung verläuft bei allen Mikroorganismen in sechs Phasen, deren Abfolge in ihren Grundzügen stets gleich bleibt. In der lag-Phase (Latenz-, Initialphase) erfolgt eine Anpassung der Keime an ihr neues Medium (anderes Substrat, andere Temperatur) und eine Aktivierung des Stoffwechsels, so daß in diesem Abschnitt nur eine geringe und verzögerte Keimvermehrung stattfindet. Die Dauer der Latenzphase, die sich in einen Anpassungs- und Beschleunigungsabschnitt unterteilt, wird von verschiedenen Faktoren beeinflußt. Keine oder nur sehr kurze lag-Phasen ergeben sich, wenn Bakterien, die sich in der exponentiellen Phase des Wachstums befinden, in ein gleichartiges Nährmedium überimpft und mit derselben Temperatur bebrütet werden.

Danach folgt die logarithmische (exponentielle, log-) Wachstumsphase, die durch eine konstante und zugleich maximale Teilungsrates charakterisiert ist. Die Geschwindigkeit des Zellanzuwachses richtet sich nach der Generationszeit der betreffenden Keimart in

Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur. Unter Generationszeit versteht man die Zeitspanne, in der eine Verdoppelung der Bakterienzahl eintritt. Unter optimalen Bedingungen liegt die Generationszeit vieler mesophiler Keimarten bei ca. 20 Minuten.

Aufgrund der steigenden Zelldichte, des abnehmenden Nährstoffangebotes und der Anhäufung von Stoffwechselprodukten kommt es zu einer allmählichen Verzögerung des Wachstums mit fließendem Übergang zur stationären Phase, in der sich Teilungs- und Absterberate die Waage halten. In der Absterbephase überwiegen dann die Absterbeprozesse, so daß die Zellzahl abnimmt, bis das Medium steril ist (HURKA, 1986; BEM und HECHELMANN, 1994).

Für das Wachstum von Mikroorganismen bildet die Temperatur zweifellos den wichtigsten extrinsic factor. Die meisten Bakterien vermehren sich nur in einem relativ engen Temperaturbereich innerhalb des Gesamtintervalls von -10 °C bis annähernd +90 °C. In diesen Grenzen bewirken niedrige Temperaturen eine Verlängerung der lag-Phase, eine Zunahme der Generationszeit (Tab. 8) und eine Verringerung der maximalen Zellausbeute (ICMSF, 1980; HURKA, 1986).

Nach ihrem Vermehrungsverhalten bei verschiedenen Temperaturen werden die Mikroorganismen in „Psychrophile“, „Psychrotrophe“, „Mesophile“ und „Thermophile“ eingeteilt (Tab. 9). Psychrotrophe bilden eine Übergangsform innerhalb der Gruppe der Mesophilen. Sie besitzen zwar eine mittlere optimale Wachstumstemperatur, können sich aber auch noch bei Kühltemperaturen vermehren (EDDY, 1960; ICMSF, 1980).

Tab. 8: Abhängigkeit der Generationszeiten von der Temperatur bei ansonsten optimalen Vermehrungsbedingungen (mod. nach ICMSF, 1980)

Keimart	Temperatur [°C]	Generationszeit [h]
<i>L. monocytogenes</i>	37	0,3
	4	11,4
<i>Salmonella</i>	30	0,5
	10	11,7
<i>Enterobacter ssp.</i>	20	1,0 - 1,2
	8	3,8 - 5,8
	4	11
	1	22,5
<i>Pseudomonas ssp.</i>	6	4,8
	3	7
	1	11,5

Tab. 9: Einteilung der Mikroorganismen nach deren Vermehrungsfähigkeit bei verschiedenen Temperaturen [°C] (ICMSF, 1980)

Gruppe	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophile	-5 bis 5	12-15	15-20
Psychrotrophe	-5 bis 5	25-30	30-45
Mesophile	5 bis 15	30-45	35-47
Thermophile	40-45	55-75	60-90

2.5.3 Bedeutung der Kühlung

Unzureichende Kühlung begünstigt nicht nur den mikrobiellen Verderb, sondern erhöht auch die Gefahr des Auftretens von Lebensmittelvergiftungen. Den entscheidenden Risikofaktor stellt dabei die minimale Wachstumstemperatur der pathogenen Mikroorganismen und Verderbserreger dar (Tab. 10).

Tab. 10: Minimaltemperaturen für die Vermehrung von pathogenen Mikroorganismen und Verderbserregern (ICMSF, 1980; SINELL, 1992)

Gattung bzw. Art	T _{min} [°C]
<i>Clostridium perfringens</i>	12
<i>Clostridium botulinum</i> Typ A, B	10
<i>E. coli</i>	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	7, 10*
<i>Salmonella</i>	5,2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5
<i>Bacillus cereus</i> **	4
<i>Clostridium botulinum</i> Typ E***	3,3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2
<i>Listeria monocytogenes</i>	-0,4
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1,3
<i>Bacillus subtilis</i>	12
<i>Enterococcus</i> ssp.	3 bis 0
<i>Lactobacillus</i> ssp.	1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-3
<i>Bacillus psychrophilus</i>	-5 bis -7
bestimmte Hefen	-12

* Enterotoxinbildung

** einige psychrotrophe Stämme

*** und einige nicht proteolytische Typ B- und Typ F-Stämme

Laut Statistik macht der Behandlungsfehler „ungenügende Kühlung“ mit 46 % den größten Anteil an den Ursachen lebensmittelbedingter Erkrankungen aus (BRYAN, 1978). Nur bei wenigen der pathogenen Bakterien liegt die minimale Infektionsdosis sehr niedrig (z.B. *Campylobacter jejuni*, *Salmonella typhi* und *E. coli* O157:H7), und in diesen Fällen vermindert eine Kühlung das Risiko nicht. Bei den meisten Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen muß jedoch eine signifikante Vermehrung der Erreger im Produkt vorausgehen, die sich durch niedrige Lagertemperaturen unterbinden oder zumindest verzögern läßt (SCHMIDT-LORENZ, 1990).

Die allgemein für die Kühllagerung von Lebensmitteln vorgeschlagenen Temperatur von 4° bis 5 °C verhindert bei folgenden mesophilen Bakterien Vermehrung bzw. Toxinbildung: *Cl. perfringens*, *Cl. botulinum* (proteolytische Serotypen A, B), *V. parahaemolyticus*, *Salmonella*, *S. aureus*. Allerdings können einige der genannten Mikroorganismen schon bei geringen Temperaturüberschreitungen (> 5 °C) - wie sie häufig bei Lagerung und Transport anzutreffen sind - ein Gesundheitsrisiko begründen (PALUMBO, 1986; SCHMIDT-LORENZ, 1990).

Selbst bei den normalerweise mesophilen Arten wie *B. cereus* und enterotoxigenen *E. coli* finden sich einige psychrotrophe Stämme, die noch bei Temperaturen von 1°C bis 4 °C Vermehrung zeigen. Für die Beurteilung der Lebensmittelsicherheit durch Kühlung ist aber noch bedeutsamer, daß unter den pathogenen Keimen auch vier psychrotrophe Arten vertreten sind, die sich unter geeigneten Bedingungen bei 4° bis 5 °C vermehren. Es handelt sich um *Cl. botulinum* (nicht proteolytische Serotypen B, E, F), *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *A. hydrophila* (SCHMIDT-LORENZ, 1990).

Allerdings verläuft das Wachstum der psychrotrophen Species bei Kühltemperaturen nur sehr langsam. Bei 5 °C dauert die Vermehrung von 1 auf 10⁴ Zellen/g Lebensmittel immerhin 1,5 bis über 3 Wochen (Tab. 11). Ebenso ist mit Toxinbildung durch *Cl. botulinum* erst nach über 2 Wochen zu rechnen (Tab. 12). Kühllagerung bei 4° bis 5 °C bietet demnach keine ausreichende Sicherheit für alle länger als 7-10 Tage haltbaren Produkte, bei denen mit dem Vorkommen von *L. monocytogenes* oder von Sporen bzw. vegetativen Zellen von *Cl. botulinum* Typ E zu rechnen ist. Für solche Erzeugnisse ist eine strikte Kühllagerung bei 0° bis 2 °C zu fordern (SCHMIDT-LORENZ, 1990). Nach einer Empfehlung der FDA (1993) sollten derartige kühlpflichtige Lebensmittel grundsätzlich nicht länger als 10 Tage bei max. 5 °C gelagert werden. SINELL (1992) schlägt hinsichtlich der Aufbewahrung dieser Risikoprodukte vor, daß die Lagerfristen nicht

länger bemessen werden sollten als die Generationszeiten der für das betreffende Produkt in Betracht kommenden psychrotrophen Pathogenen.

Tab. 11: Zeit (in Tagen) für die Vermehrung psychrotropher Bakterien von 1 auf 10^4 KbE pro ml/g bei 2 °C bis 10 °C (mod. nach SCHMIDT-LORENZ, 1990)

Spezies	Temperaturen [°C]							Autoren
	2	3,3	4	5	6	8	10	
<i>Cl. botulinum</i> Typ E		60	52	25		14	10	SOLOMON et al. (1977) BAKER und GENIGEORGIS (1989)
<i>L. monocytogenes</i>	36		26	19	10	7,4	5,1	GILL und REICHEL (1989) AHAMAD und MARTH (1989) ROSENOW und MARTH (1987)
<i>A. hydrophila</i>	23			13			4,3	GILL und REICHEL (1989)
<i>Y. enterocolitica</i>	20			9			5,0	GILL und REICHEL (1989)

Tab. 12: Zeit für die nachweisbare Toxinbildung durch *Cl. botulinum* Typ E in Frischfisch bei verschiedenen Temperaturen (nach BAKER und GENIGEORGIS (1990))

Temperatur [°C]	Zeit für Toxinbildung [Tg.]
3,3	40,2
4,0	26,8
5,0	17,8
6,0	13,0
7,0	10,1
8,0	8,2
9,0	6,8
10,0	5,8

2.5.4 Temperaturen in Kühlmöbeln (Verkaufskühlmöbel, Haushaltskühlschränke)

Trotz der weiten Verbreitung von Kühlgeräten liegen bisher nur wenige Angaben über die tatsächlichen Temperaturen in Verkaufskühlmöbeln vor. BØGH-SØRENSEN (1971) führte aus, daß seinen Messungen zufolge die in Dänemark für vorverpackte Frischwaren vorgeschriebene Lagertemperatur von höchstens +5 °C nur in einigen Kühlmöbeln eingehalten wurde.

Ungenügende Kühlung bestand vor allem in den oberen Schichten von Kühlregalen und in Truhen mit längeren Abtauzeiten. Die Temperaturunterschiede in Verkaufsregalen betragen zwischen -0,5 °C und +4 °C im Unterteil und +10° bis +11 °C in den höheren Regalabteilungen. In anderen Regalen wurden am Boden Temperaturen zwischen -4 °C und 0 °C und in höheren Schichten von +6° bis +8 °C gefunden. Bei einem vierstündigen Abtauvorgang kam es zu einem Temperaturanstieg um durchschnittlich 5 °C. Ein weiterer temperaturerhöhender und somit qualitätsmindernder Einfluß wird den Beleuchtungsröhren zugeschrieben, die direkt in den Kühlmöbeln – speziell in den oberen Regalabteilungen oft nur wenige Zentimeter vom Produkt entfernt – angebracht sind.

Nachfolgeuntersuchungen (BØGH-SØRENSEN, 1980) zeigten, daß 54 % der Waren im oberen Bereich der Kühlregale Temperaturen von über +5 °C aufwiesen; bei 10 % der Proben wurden sogar Produkttemperaturen von über +9 °C ermittelt. Während der mindestens einmal pro Tag einsetzenden Abtauvorgänge stieg die Temperatur im Lebensmittel um 2-5 °C an und erreichte erst nach 3-4 Stunden wieder das Ausgangsniveau.

MURMANN und HÄGER (1987) stellten aufgrund von Temperaturmessungen an fertigverpackten Hackfleischportionen fest, daß viele Kühlmöbel die an sie gestellten Temperaturanforderungen nur unzureichend erfüllen. Die Innentemperatur der Kühltheken im Bereich des Luftaustrittes (Austrittsstelle der Luft aus dem Maschinenteil in den offenen Teil der Kühltruhe) bewegte sich überwiegend zwischen < 0 °C und +4 °C. Im Lufteintrittsbereich lagen nur 37,2 % der Werte unter +4 °C. Die vorgeschriebenen Kerntemperaturen von < 4 °C wurden nur von 12,5 % der Proben eingehalten.

Die Temperaturüberschreitungen wurden überwiegend auf zu warm eingestellte Kühlmöbel oder Abtauphasen während der Verkaufszeiten zurückgeführt. Daneben spielten hohe Produkttemperaturen beim Einsortieren in die Kühlmöbel und Auffüllen über die Lademarkierung eine wichtige Rolle. Letztlich wirkte sich auch die Platzierung innerhalb

der Kühltheke auf die Produkttemperatur aus. Mit zunehmender Entfernung zum Luftaustritt nahm der Anteil der Proben mit Kerntemperaturen $< 4\text{ °C}$ deutlich ab. Eine weitere negative Beeinflussung der Produkttemperatur entsteht durch übermäßige Beleuchtung in den Kühlmöbeln (LANG, 1977; BOHN und GROSSKLAUS, 1979).

Im Rahmen der von der EG-Kommission aufgrund Art. 14 Abs. 3 der Richtlinie über die Amtliche Lebensmittelüberwachung (89/397/EWG) für das Jahr 1996 empfohlenen Überwachungsprogramme wurden durch die Amtliche Lebensmittelüberwachung der Bundesländer Temperaturkontrollen bei gekühlten Lebensmitteln zum Zeitpunkt des Verkaufs an den Endbraucher durchgeführt. Dabei wurden auch bei Räucherfischprodukten z.T. deutliche Überschreitungen der vorgeschriebenen Höchsttemperatur von $+7\text{ °C}$ festgestellt; die Maximalwerte lagen bei $+13\text{ °C}$, $+14,4\text{ °C}$ und $+15\text{ °C}$ (MITTEILUNG DER REGIERUNG DER BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND, 1997).

Die technischen Leistungsdaten der Kühleinrichtungen sind durch die DIN-Normen festgelegt. Nach DIN 10501 Teil 2 müssen offene Verkaufskühlmöbel für gekühlte Lebensmittel den Anforderungen der Temperaturklasse M oder H entsprechen, d.h. die Produkttemperaturen müssen nach DIN 8954 Teil 10 zwischen -1 °C und $+7\text{ °C}$ (Klasse M) bzw. zwischen $+1\text{ °C}$ und $+10\text{ °C}$ (Klasse H) liegen.

Angaben zur Aufstellung der Kühlmöbel in den Verkaufsräumen und zum fachgerechten Betrieb enthält DIN 8954 Teil 9. Demnach sollen weder die Kühlmöbel noch die eingelagerten Waren durch Wärmequellen – z.B. Sonneneinwirkung, Leuchtstrahler, Warmluftgebläse – beeinflusst werden. Für eine zuverlässige Kühlung sind der Gebrauch der Nachtabdeckung und die Einhaltung der Stapelmarken unerlässlich. Außerdem ist darauf zu achten, daß die Waren beim Einbringen in das Kühlmöbel nicht wärmer sind als die für jeweilige Warenart spezifische Lagertemperatur vorsieht.

Neuere Untersuchungen über die Effektivität der einzelnen Glieder der Kühlkette identifizierten als eine Schwachstelle den Transport von gekühlten Lebensmitteln vom Geschäft in den Haushalt. Die Transportzeiten für gekühltes Fleisch schwankten zwischen Extremwerten von 2 bis 510 Minuten, wobei die Mehrzahl der Werte zwischen 30 und 60 Minuten lag. Die Frist vom Erreichen des Bestimmungshaushaltes bis zur Lagerung im Kühlschrank betrug nochmals bis zu 90 Minuten. Während des Transports im Kofferraum konnten in den gekühlt gekauften Produkten Temperaturen von maximal 40 °C

gemessen werden. Bis dann im heimischen Kühlschrank die Temperaturen wieder unter die 7 °C-Marke fielen, vergingen durchschnittlich fünf Stunden.

Modellrechnungen weisen auf die Möglichkeit eines deutlichen Anstiegs der Bakterienpopulation in dieser Transportphase hin. Eine Vermehrung von bis zu 4,2 Generationszyklen ist möglich, wenn die Temperaturen bereits vor dem Kauf ungenügend ($> 7\text{ °C}$) waren und sich die Mikroorganismen nicht erst auf den Temperaturwechsel einstellen müssen (JAMES, 1997).

Weitere Untersuchungen beschäftigen sich mit den Temperaturverhältnissen in Haushaltskühlschränken.

Van GARDE und WOODBORN (1987) maßen in 21 % der US-Haushalte Kühlschranktemperaturen über $+10\text{ °C}$. Nach Erhebungen von TORREY und MARTH (1977) variierten die gemessenen Temperaturen zwischen $+1,7\text{ °C}$ und $+20,2\text{ °C}$ bei einem mittleren Temperaturbereich von $+3,9\text{ °C}$ bis $+11,9\text{ °C}$.

SCHMIDT-LORENZ (1990) schätzt die durchschnittlichen Temperaturen in Haushaltskühlschränken auf $+8\text{ °C}$; zugleich nimmt der Autor sogar häufiges Vorkommen von $+10\text{ °C}$ an.

SCHULZE-VOHREN und FRIES (1997) führten Temperaturmessungen in Kühleinrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung und im Privathaushalt durch, wobei die Lagertemperatur durch einmalige Messung an einer Stelle der Kühleinrichtung mit Hilfe eines Lufttemperaturfühlers ermittelt wurde. Dabei lag der Mittelwert der Lagertemperatur in Kühlschränken der Gemeinschaftsverpflegung bei $+4,33\text{ °C}$, während er in Kühlschränken der Privathaushalte $+7,24\text{ °C}$ betrug. Der empfohlene Bereich unterhalb von $+7\text{ °C}$ wurde im Privathaushalt in 47 % der Fälle nicht erreicht, 50 % der Werte bewegten sich zwischen $+4\text{ °C}$ und $+7\text{ °C}$ und nur 3 % unterschritten $+4\text{ °C}$.

JAMES (1997) berichtete über Temperaturmessungen in Haushaltskühlschränken in Großbritannien. Die Durchschnittstemperatur aller überprüften Kühlmöbel betrug $+6,04\text{ °C}$, am häufigsten lag die Temperatur zwischen $+6\text{ °C}$ und $+6,9\text{ °C}$. Der höchste gemessene Wert lautete $+11,4\text{ °C}$. Bei mehrmaligem Türöffnen innerhalb von 10 Minuten kam es zu Temperaturschwankungen von bis zu 15 °C .