

3. Eigene Untersuchungen

Ziel der eigenen Untersuchungen war die Klärung der Frage, ob eine Voranreicherung im Verhältnis von 1:100 (Probenmaterial : gepuffertem Peptonwasser) im standardisierten Nachweisverfahren von Salmonellen für alle Gewürze zwingend notwendig ist, oder ob niedrigere Verdünnungen für einzelne oder eventuell alle Gewürze ausreichen würden. Für die methodologische Untersuchung wurde das Nachweisverfahren L 00.00-20 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG mit modifizierten Voranreicherungsverdünnungsverhältnissen durchgeführt. Die mikrobiologische Überprüfung der Gewürze und die Erstellung der Salmonellawachstumskurven erfolgte mittels Drop-Plating-Verfahren.

3.1 Material und Methoden

Für die Versuche wurden 36 verschiedene Gewürze verwendet. Sie stammten aus dem Berliner Einzelhandel, einer türkischen Supermarktkette und einem Kräutergroßhandel. Das Gewürzspektrum wurde so gewählt, dass es sowohl für die industrielle Fleischverarbeitung als auch für den privaten Haushalt relevante Gewürze abdeckte (Tab. 1).

Tab. 1: Verwendete Gewürze

Anis	Koriander	Pfefferminze
Basilikum	Kümmel	Piment
Beifuß	Kurkuma	Rosmarin
Bohnenkraut	Lorbeer	Salbei
Cayennepfeffer	Macis	Selleriesaat
Curry	Majoran	Senfsaat, ganz
Dill	Muskatnuss	Senfsaat, gemahlen
Fenchel	Nelken	Sternanis
Galgant	Oregano	Sumak
Ingwer	Paprika	Thymian
Kardamom	Petersilie	Zimt
Knoblauch	Pfeffer	Zwiebel

Für die Beimpfung der Proben wurden 5 verschiedene Salmonellastämme aus der Sammlung des Institutes für Lebensmittelhygiene, die im Rahmen von Routineuntersuchungen isoliert worden waren, zur Verfügung gestellt (Tab. 2). Die Isolate wurden im Nationalen Veterinärmedizinischen Referenzlabor für Salmonellen im BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) in Berlin serotypisiert.

Tab. 2: Verwendete Salmonellaisolate

- a) S. Typhimurium
- b) S. Typhimurium
- c) S. Typhimurium v. Copenhagen
- d) S. Enteritidis
- e) S. Enteritidis

Folgende Nährmedien wurden für die Versuche eingesetzt:

Tab. 3: Eingesetzte Nährmedien

Plate-Count-Agar (Caseinpepton-Glucose-Hefeextrakt-Agar)	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	5,0
Agar-Agar _____	14,0
Hefeextrakt _____	2,5
D(+)-Glucose _____	1,0
pH-Wert: 7,0 ± 0,2 bei 25°C	
Rose-Bengal-Agar (Bengalrot-Chloramphenicol-Agar-Basis)	g pro Liter Aqua dest.
Mykologisches Pepton _____	5,0
D(+)-Glucose _____	10,0
Dikaliumhydrogenphosphat _____	1,0
Magnesiumsulfat _____	0,5
Bengalrot _____	0,05
Agar-Agar _____	15,5
Chloramphenicol-Selektiv-Supplement _____	0,05
pH-Wert: 7,2 ± 0,2 bei 25°C	

BAIRD-PARKER-Agar (Staphylokokken-Selektivagar nach BAIRD PARKER [Basis])

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	10,0
Fleischextrakt _____	5,0
Hefeextrakt _____	1,0
Natriumpyruvat _____	10,0
Glycin _____	12,0
Lithiumchlorid _____	5,0
Agar-Agar _____	15,0
zusätzlich: Eigelb-Tellurit-Emulsion 50 ml	
pH-Wert: $6,8 \pm 0,2$ bei 25°C	

BPLS-Agar (Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar)

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Fleisch _____	5,0
Pepton aus Casein _____	5,0
Fleischextrakt _____	5,0
Natriumchlorid _____	3,0
di-Natriumhydrogenphosphat _____	2,0
Laktose _____	10,0
Saccharose _____	10,0
Phenolrot _____	0,08
Brillantgrün _____	0,0125
Agar-Agar _____	12,0
pH-Wert: $6,9 \pm 0,2$ bei 25°C	

CATC-Agar (Citrat-Azid-Tween[®]-Carbonat-Agar [Basis])

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	15,0
Hefeextrakt _____	5,0
Kaliumdihydrogenphosphat _____	5,0
Natriumcitrat _____	15,0
Tween [®] 80 _____	1,0
Agar-Agar _____	15,0
zusätzlich: Natriumcarbonat	2,0
2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid	0,1
Natriumazid	0,4
pH-Wert: $7,0 \pm 0,2$ bei 25°C	

GSP-Agar (Pseudomonaden-Aeromonaden-Selektivagar nach KIELWEIN [Basis])

	g pro Liter Aqua dest.
Natrium-L(+)-glutamat _____	10,0
Stärke, löslich _____	20,0
Kaliumdihydrogenphosphat _____	2,0
Magnesiumsulfat _____	0,5
Phenolrot _____	0,36
Agar-Agar _____	12,0
Zusätzlich: Penicillin-G-Natrium 100.000 i. E.	
pH-Wert: $7,2 \pm 0,2$	

Hirn-Herz-Bouillon

	g pro Liter Aqua dest.
Nährsubstrat (Hirn-, Herzextrakt und Peptone) _____	27,5
D(+)-Glucose _____	2,0
Natriumchlorid _____	5,0
di-Natriumhydrogenphosphat _____	2,5
pH-Wert : 7,4 ± 0,2 bei 25°C	

Nähragar

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Fleisch _____	5,0
Fleischextrakt _____	3,0
Agar-Agar _____	12,0
pH-Wert: 7,0 ± 0,2 bei 25°C	

PALCAM-Listeria-Selektivsupplement nach VAN NETTEN et al.

Polymyxin-B-sulfat _____	5,0 mg
Ceftazidim _____	10,0 mg
Acriflavin _____	2,5 mg

PALCAM-Listeria-Selektivagar (Basis) nach VAN NETTEN et al.

	g pro Liter Aqua dest.
Peptone _____	23,0
Stärke _____	1,0
Natriumchlorid _____	5,0
Agar-Agar _____	13,0
D(-)-Mannit _____	10,0
Ammoniumeisen(III)-citrat _____	0,5
Äsculin _____	0,8
Glucose _____	0,5
Lithiumchlorid _____	15,0
Phenolrot _____	0,08
pH-Wert: 7,0 ± 0,2 bei 25°C	

RAMBACH®-Agar

	g pro Liter Aqua dest.
Peptone _____	8,0
Natriumchlorid _____	5,0
Natriumdesoxycholat _____	1,0
Chromogen-Mischung _____	1,5
Propylenglycol _____	10,5
Agar-Agar _____	15,0
pH-Wert: 7,3 ± 0,2 bei 25°C	

Salmonella-Anreicherungsbouillon nach RAPPAPORT u. VASSILIADIS

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Sojamehl _____	4,5
Magnesiumchlorid-Hexahydrat _____	29,0
Natriumchlorid _____	8,0
di-Kaliumhydrogenphosphat _____	0,4
Kaliumdihydrogenphosphat _____	0,6
Malachitgrün _____	0,036
pH-Wert: $5,2 \pm 0,2$ bei 25°C	

Selenit-Cystin-Anreicherungsbouillon

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	5,0
L(-)-Cystin _____	0,01
Lactose _____	4,0
Phosphatpuffer _____	10,0
Natriumhydrogenselenit _____	4,0
pH-Wert: $7,0 \pm 0,2$ bei 25°C	

TSC-Agar (Tryptose-Sulfit-Cycloserin-Agar [Basis])

	g pro Liter Aqua dest.
Tryptose _____	15,0
Pepton aus Sojamehl _____	5,0
Hefeextrakt _____	5,0
Natriumdisulfit _____	1,0
Ammoniumeisen(III)-citrat _____	1,0
Agar-Agar _____	15,0
zusätzlich: Cycloserin _____	0,4
Kanamycindisulfat _____	0,012
pH-Wert: $7,4 \pm 0,2$ bei 25°C	

VRB-Agar (Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Agar)

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Fleisch _____	7,0
Hefeextrakt _____	3,0
Natriumchlorid _____	5,0
Lactose _____	10,0
Neutralrot _____	0,03
Gallesalzmischung _____	1,5
Kristallviolett _____	0,002
Agar-Agar _____	13,0
pH-Wert: $7,4 \pm 0,2$ bei 25°C	

VRBD-Agar (Kristallviolett-Neutralrot-Galle-Glucose-Agar nach MOSSEL)

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Fleisch _____	7,0
Hefeextrakt _____	3,0
Natriumchlorid _____	5,0
D(+)-Glucose _____	10,0
Gallesalzmischung _____	1,5
Neutralrot _____	0,03
Kristallviolett _____	0,002
Agar-Agar _____	13,0
pH-Wert: $7,3 \pm 0,2$ bei 25°C	

MRS-Agar (Lactobacillus-Agar nach DE MAN, ROGOSA u. SHARPE)

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	10,0
Fleischextrakt _____	8,0
Hefeextrakt _____	4,0
D(+)-Glucose _____	20,0
di-Kaliumhydrogenphosphat _____	2,0
Tween [®] 80 _____	1,0
di-Ammoniumhydrogencitrat _____	2,0
Natriumacetat _____	5,0
Magnesiumsulfat _____	0,2
Mangansulfat _____	0,04
Agar-Agar _____	14,0
pH-Wert: $5,7 \pm 0,2$ bei 25°C	

Sorbinsäure-Agar-Basis (La-S-Nährboden nach REUTER)

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	10,0
Fleischextrakt _____	10,0
Hefeextrakt _____	5,0
D(+)-Glucose _____	20,0
Natriumacetat _____	5,0
Natriumcitrat _____	3,0
Tween [®] 80 _____	1,0
Magnesiumsulfat-Heptahydrat _____	0,2
Mangansulfat-Monohydrat _____	0,05
Agar-Agar _____	16,0
zusätzlich: Sorbinsäure _____	0,4
pH-Wert: $5,0 \pm 0,2$ bei 25°C	

Bacillus-Cereus-Agar-Basis (Mannit-Eigelb-Polymyxin-Agar)

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton _____	1,0
Mannit _____	10,0
Natriumchlorid _____	2,0
Magnesiumsulfat _____	0,1
Dinatriumhydrogenphosphat _____	2,5
Kaliumhydrogenphosphat _____	0,25
Natriumpyruvat _____	10,0
Bromthymolblau _____	0,12
Agar-Agar _____	14,0

zusätzlich: Eigelb-Emulsion 100 ml
Polymyxin-B-sulfat 50.000 i. E.

pH-Wert: $7,2 \pm 0,2$

Glutamat-Nährlösungs-Basis

	g pro Liter Aqua dest.
Lactose _____	20,0
Natriumformiat _____	0,5
L-Cystin _____	0,04
L(-)-Asparaginsäure _____	0,048
L(+)-Arginin _____	0,04
Thiamin _____	0,002
Nikotinsäure _____	0,002
Panhotensäure _____	0,002
Magnesiumsulfat _____	0,2
Eisen(III)-ammoniumcitrat _____	0,02
Calciumchlorid _____	0,02
Dikaliumhydrogenphosphat _____	1,8
Bromkresolpurpur _____	0,02
Zusätzlich: Natriumglutamat _____	6,4
Ammoniumchlorid _____	2,5

PH-Wert: $6,7 \pm 0,1$ bei 25°C

ECD-Agar

	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	20,0
Lactose _____	5,0
Natriumchlorid _____	5,0
Gallesalzmischung _____	1,5
di-Kaliumhydrogenphosphat _____	4,0
Kaliumhydrogenphosphat _____	1,5
Agar-Agar _____	15,0
Tryptophan _____	1,0
4-Methylumbelliferyl- β -D-glucuronid _____	0,07

ph-Wert: $7,0 \pm ,2$ bei 25°C

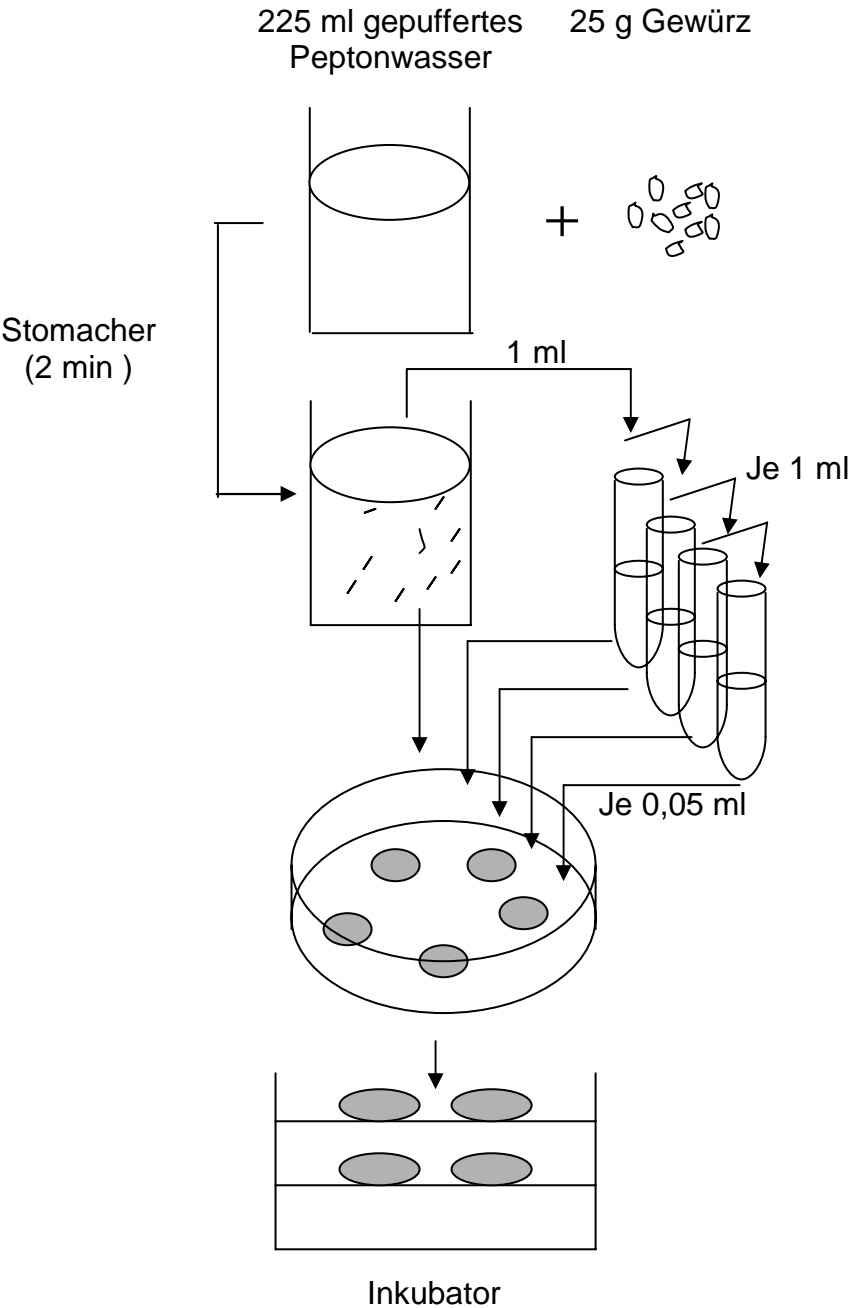
Peptonwasser	g pro Liter Aqua dest.
Pepton aus Casein _____	1,0
Agar-Agar _____	0,4
Tween [®] 80 _____	1,0
pH-Wert: 7,0 ± 0,2 bei 25°C	

Peptonwasser, gepuffert	g pro Liter Aqua dest.
Peptone _____	10,0
Natriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat _____	9,0
Kaliumhydrogenphosphat _____	1,5
pH-Wert: 7,2 ± 0,2 bei 25°C	

3.1.1 Mikrobiologischer Status der verwendeten Gewürze

Da Gewürze häufig in hohem Maße mit Mikroorganismen belastet sind, musste erst der mikrobiologische Gesamtstatus der verwendeten Gewürze vor der eigentlichen Versuchsdurchführung bestimmt werden. Um zu Überprüfen, ob die eingesetzten Proben salmonellenfrei waren, wurde auch ein Salmonellen-Nachweis durchgeführt. Zur Bestimmung des Gesamtstatus wurde das Drop-Plating-Verfahren angewendet. Hierzu sind je 25 g Gewürz mit 225 g gepuffertem Peptonwasser angereichert, eine dekadische Verdünnungsreihe erstellt und die einzelnen Verdünnungen auf die Selektivnährböden gedropt worden.

Abb. 3: Schema des Drop-Plating-Verfahrens



Anschließend wurden die Selektivplatten in den Inkubator verbracht und nach angemessener Zeit abgelesen und ausgewertet (Tab. 4).

Tab. 4: Bebrütungsdauer und –Temperatur der verschiedenen Nährmedien

Nährmedium	Keimgruppe	Bebrütungs- temperatur und -milieu	Bebrütungsdauer (in Stunden, h)
Plate-Count-Agar	aerobe Gesamt- keimzahl	30°C/ aerob	48 h
MRS-Agar	Laktobazillen	30°C/ aerob	24 h
Sorbinsäure-Agar	säure- tolerante Laktobazillen	30°C/ anaerob	24 h
VRBD-Agar	Entero- bakteriazeen	30°C/ anaerob	48 h
VRB-Agar	Coliforme	30°C/ anaerob	48 h
CATC-Agar	Enterokokken	42°C/ aerob	48 h
TSC-Agar	sulfit- reduzierende Anaerobier	37°C/ anaerob	24 h
GSP-Agar	Pseudo- monaden	30°C/ aerob	48 h
Bacillus-Cereus- Agar	Bacillus Cereus	37°C/ aerob	24 h
Palcam-Listeria- Selektivagar	Listeria monocy- togenes	37°C/ aerob	48 h
Rose-Bengal- Agar	Hefen und Schimmel- pilze	25°C/ aerob	96 h
ECD-Agar	Escherichia coli	44°C/ aerob	16-18 h
Glutamat- Nährlösungsagar	Escherichia coli	37°C/ aerob	4 h
BAIRD-PARKER- Agar	koagulase positive Staphylo- kokken	37°C/ aerob	48 h

Die Bestimmung der Keimzahl erfolgte durch die Ermittlung der mittleren Koloniezahl mit Hilfe des gewogenen arithmetischen Mittelwertes \bar{n} aus den verwertbaren Verdünnungsstufen. Hierbei wird die Summe aller ausgezählten Kolonien durch die Summe der ausgezählten Kolonien durch die Summe der ausgezählten Agarplatten unter gleichzeitiger Gewichtung des Probenvolumens dividiert. Dieses Maß der zentralen Tendenz wird nach folgender Gleichung berechnet:

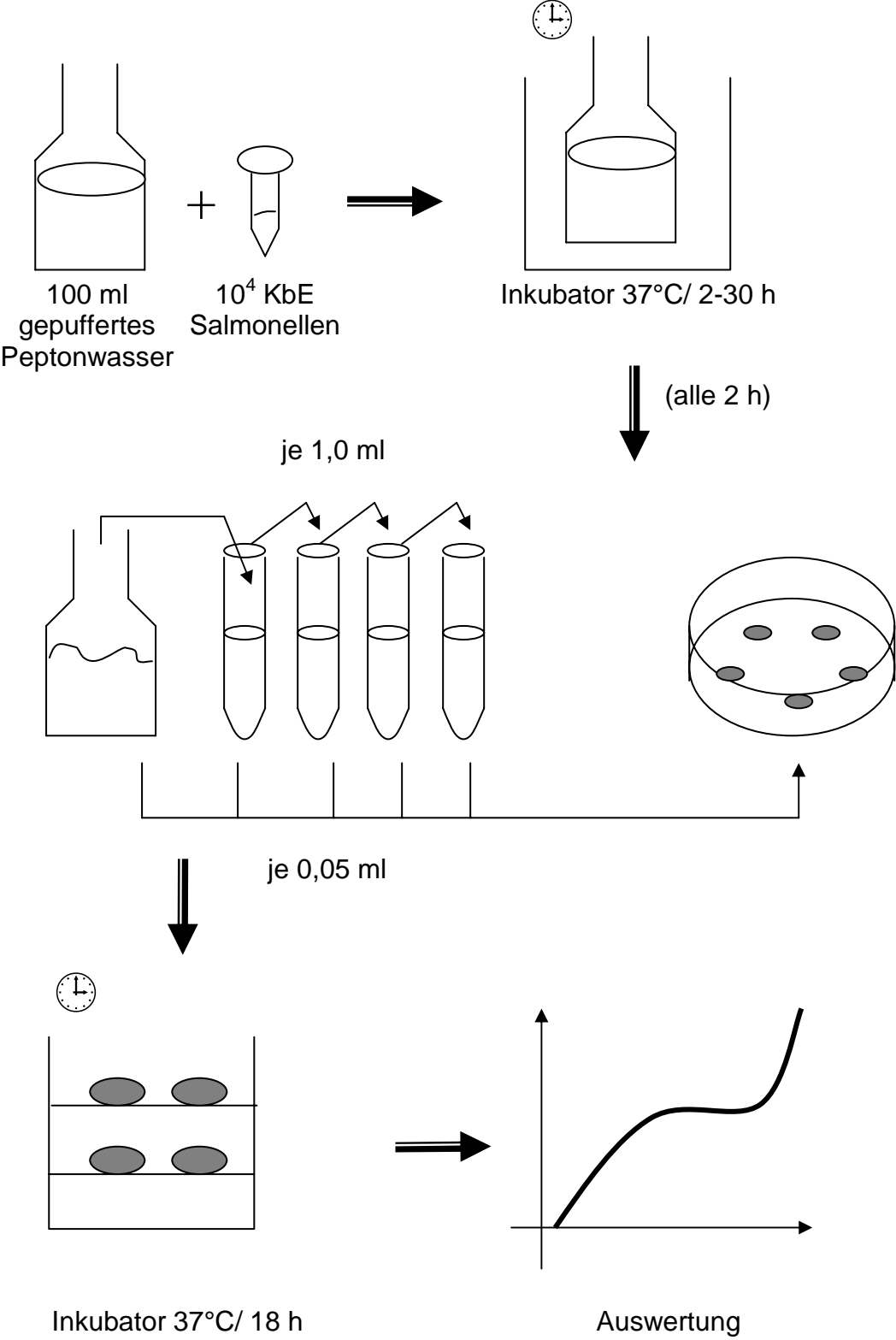
$$\bar{n} = \frac{\Sigma C}{n_1 \cdot 1 + n_2 \cdot 0,1} \cdot d \quad \text{(Farmiloe'sche Formel)}$$

- \bar{n} gewogenes arithmetisches Mittel der Koloniezahlen
- ΣC Summe der Kolonien aller Petrischalen, die zur Berechnung herangezogen werden (niedrigste und nächst höhere auswertbare Verdünnungsstufen)
- n_1 Anzahl der Petrischalen der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe
- n_2 Anzahl der Petrischalen der nächst höheren Verdünnungsstufe
- d Verdünnungsfaktor der niedrigsten ausgewerteten Verdünnungsstufe; hierbei handelt es sich um die auf n_1 bezogene Verdünnungsstufe.

3.1.2 Sallmonellawachstumskurven

Um eine Beeinflussung der Salmonellen durch Gewürze festzustellen und diese mit dem ungehindertem Wachstum der Mikroorganismen vergleichen zu können, wurden zuerst Wachstumskurven ohne Gewürzeinfluss für jedes der fünf verwendeten Salmonellaisolate erstellt. Hierzu wurden jeweils 100 ml gepuffertes Peptonwasser mit 10^4 KbE Salmonellen versetzt (Endkeimzahl 10^2 KbE) und bei 37°C über einen Zeitraum von 2-30 Stunden inkubiert. Die Bestimmung der Koloniezahl erfolgte alle 2 Stunden mit Beginn der 0. Stunde unter Anwendung des Tropfplattenverfahrens (vgl. Abb. 4).

Abb. 4: Erstellung der Salmonellawachstumskurven ohne Gewürzeinfluss



3.1.3 Salmonellawachstumskurven mit Gewürzeinfluss

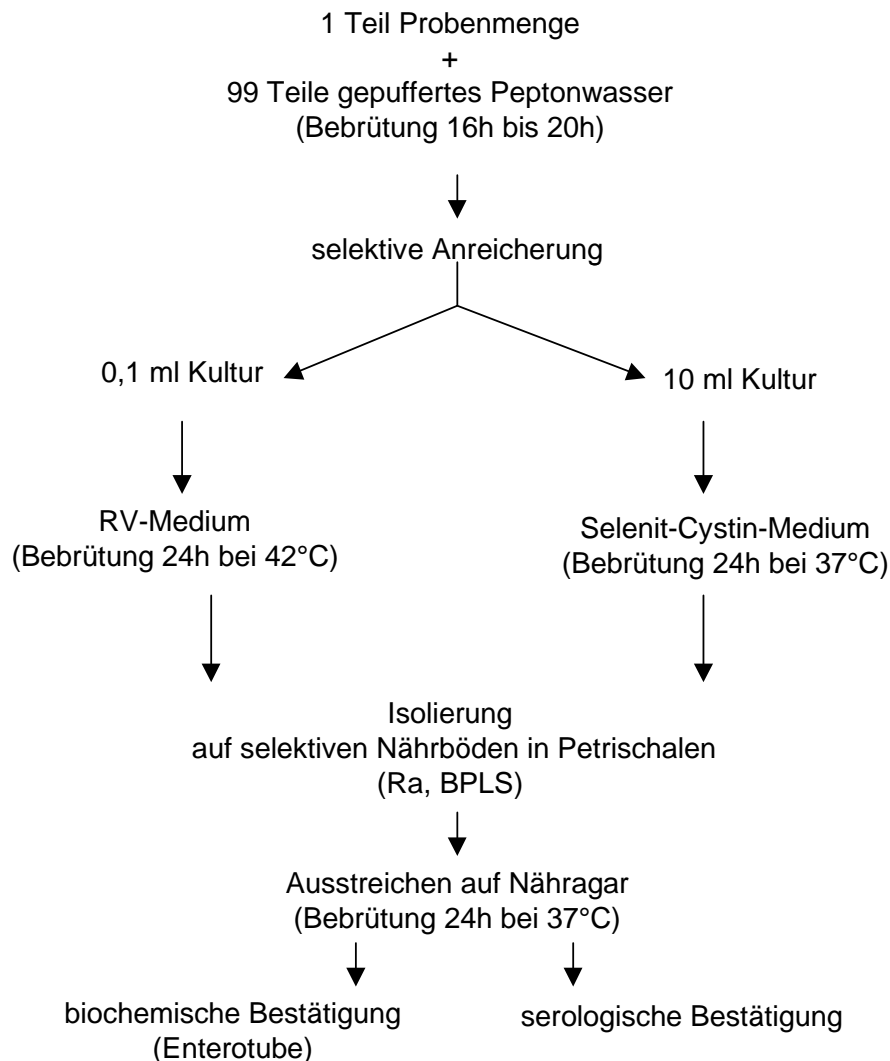
Da die Proben zum Teil erheblich mit Mikroorganismen belastet waren (siehe Ergebnisse: Kap. 4.1), wurde ein Doppelansatz des Versuches mit autoklaviertem und nicht autoklaviertem Gewürz durchgeführt, um eine etwaige Beeinflussung durch die Bakterienflora der Gewürze auf die Salmonellen zu unterbinden. Die Gewürze wurden in sterilen Glasgefäßen bei einem Kammerdruck von 2,8 bar und einer Temperatur von 121°C über einem Zeitraum von 20 Minuten autoklaviert (Autoklav: Fa. GÖSSNER, GVA 4.6). Anfänglich wurden die Proben zusammen mit dem gepuffertem Peptonwasser erhitzt. Dieser Ansatz wurde aber wegen Pipettierschwierigkeiten nach dem Autoklavieren dahingegen geändert, dass steriles Peptonwasser erst nach der Erhitzung des Gewürzes hinzugegeben wurde. Die Pipettierschwierigkeiten resultierten u. a. aus Konsistenzveränderungen, wobei gemahlener Pfeffer mit gepuffertem Peptonwasser unter Autoklavierbedingungen eine gummiartige Masse bildet.

Der Versuchsansatz wurde mit den 36 ausgewählten Gewürzen wie folgt durchgeführt: 10 g Gewürz, 10^2 KbE Salmonellen und 90 ml gepuffertes Peptonwasser wurden bei 37°C inkubiert. In Vier-Stunden-Intervallen erfolgte eine Keimzahlprüfung mittels Drop-Plating-Verfahren auf den Selektivnährböden BPLS, Rambach und Plate Count. Die Bestimmung der Keimzahlen bei den nicht autoklavierten Proben erwies sich auf dem BPLS-Agar als äußerst schwierig, da dieser Nährboden von Sporenbildnern überwuchert wurde. Eine Auswertung hinsichtlich der Salmonellen war nicht möglich. Es wurde daraufhin auf eine Verwendung dieses Nährbodens verzichtet, weil der Rambach-Agar gute Ergebnisse erbrachte.

3.1.4 Wiederfindung von Salmonellen in Gewürzen

Zur Wiederfindung von Salmonellen in Gewürzen wurde das standardisierte Nachweisverfahren von Salmonellen (Methode L 00.00-20 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG) angewendet (Abb. 5).

Abb. 5: standardisierte Nachweisverfahren von Salmonellen



Für die methodologische Untersuchung wurde der Versuchsaufbau mit modifizierten Voranreicherungsverdünnungen und 10g Ausgangsmaterial durchgeführt. Die Proben wurden mit 10^4 KbE Salmonellen inokuliert. Der Versuch startete mit einem Voranreicherungsverhältnis von 1:10 (Probenmaterial : gepuffertes Peptonwasser). Konnten die zugesetzten Salmonellen nachgewiesen werden, so wurde der Versuch beendet. Zeigte sich jedoch kein Koloniewachstum auf den Nährböden, wurde der Versuch Schritt für Schritt mit den Voranreicherungsverhältnissen 1:20, 1:50 und 1:100 solange wiederholt, bis sich die Salmonellen wiederfinden ließen. Fiel der Nachweis bei einem Verhältnis von 1:100 wiederum negativ aus, wurde das Experiment abgebrochen und keine höheren Verdünnungen überprüft.

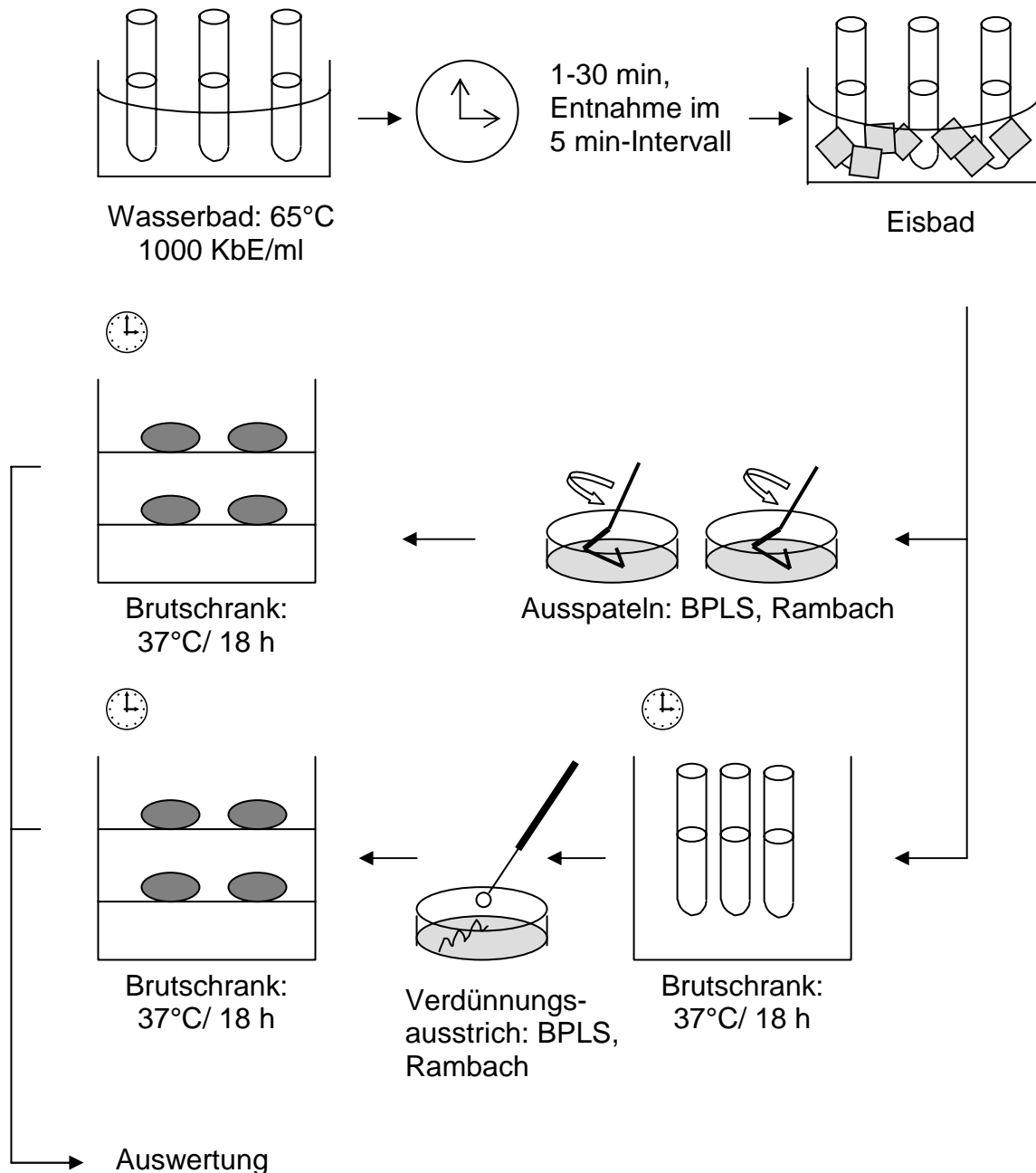
3.1.5 Wiederfindung subletal geschädigter Salmonellen in Gewürzen

Salmonellen sind in Lebensmitteln oftmals nur in geringer Zahl enthalten, daher kann sich der Nachweis häufig als schwierig erweisen. Ihr Auffinden wird unter Umständen durch inhibitorische Faktoren von Bakterien, ein niedriges Redoxpotential und pH-Wert-Schwankungen beeinträchtigt (BAYLIS et al., 2000). Darüber hinaus besteht die Möglichkeit der subletalen Schädigung von Salmonellen. Dieses Phänomen, welches das Anzüchten der Keime erschwert, kann durch Prozesse bei der Herstellung (BAYLIS et al., 2000) und Haltbarmachung von Lebensmitteln hervorgerufen werden (SIEMS, 1974). Derartige schädigende Einflüsse stellen hohe Temperaturen, ionisierende Strahlen, chemische Substanzen wie Reinigungs- und Desinfektionsmittel, Gefriertrocknung sowie Tiefgefrieren dar (SIEMS, 1974; ZIMMERMANN & WERNERY, 1979).

Um diesen Umständen gerecht zu werden, wurden die Wiederfindungsversuche von Salmonellen in Gewürzen auch mit subletal geschädigten Mikroorganismen durchgeführt. Zur Gewährleistung eines sicheren und wiederholbaren Modells der Schädigung wurde Hitze (Wasserbad, Fa. Medingen W6) als beeinträchtigender Faktor gewählt. Zu beachten war, dass Wildtypen von Salmonellastämmen äußerst widerstandsfähig gegenüber einer Temperaturerhöhung sein können. So beschreiben CHEN und GRIFFITHS (1996) Abtötungszeiten von > 30 Minuten bei Temperaturen von > 65°C im zirkulierenden Wasserbad. Für die Vorversuche zur Schädigung der Salmonellen wurde eine Temperatur von 65°C als Konstante und die Dauer der Schädigung als Variable gewählt. Die Schwierigkeiten bestanden darin, bei einer Temperatur von 65°C den genauen Zeitpunkt des Eintretens der Schädigung herauszufinden, ohne die Salmonellen so stark zu beeinträchtigen, dass eine Regeneration nicht mehr eintritt. Zur Überprüfung ob eine subletale Schädigung vorlag, wurden die manipulierten Salmonellen sofort nach der Schädigung auf Selektivnährböden (Rambach und Plate Count) ausgespatelt sowie parallel dazu in BHI-Bouillon gegeben. Anschließend erfolgte eine Bebrütung der Mikroorganismen bei 37°C über einen Zeitraum von 18 Stunden. Nach Ablauf der Bebrütungsdauer wurden die Platten ausgewertet und die Bouillon auf Plate Count sowie Rambach-Agar ausgestrichen und nochmals bei 37°C für 18 Stunden bebrütet. Die Salmonellen galten dann als subletal geschädigt, wenn sich auf den direkt ausgespatelten Platten kein Koloniewachstum erkennen ließ, jedoch die Nährböden,

auf denen in BHI-Bouillon inkubierte Proben ausgebracht wurden, Koloniewachstum zeigten (Abb. 6).

Abb. 6: Durchführung der subletalen Schädigung (Vorversuch)



Die Versuche zur Inaktivierung bei Salmonellen ergaben, dass eine Temperatur von 65°C über 20 Minuten gehalten werden musste, um eine subletale Schädigung zu erreichen. Die Versuchsanordnung entsprach dem Verfahren von 3.1.4 (Wiederfindung der Salmonellen in Gewürzen) mit dem Unterschied, dass

vorgeschädigte Mikroorganismen in den Konzentrationen 400 KbE/ml, 4 KbE/ml und 0,4 KbE/ml zugesetzt wurden. Um den Hemmeffekt zu charakterisieren, bestand die Notwendigkeit, die genaue Keimzahl der hinzugefügten subletalen Salmonellen zu bestimmen. Dieser quantitative Nachweis erfolgte über die Anwendung des MPN-Verfahrens (Most-Probable-Number) (Abb. 7).

Abb. 7: Wiederfindung subletal geschädigter Salmonellen

