

2.6 Anwendung von Milchsäure (Änderungen des pH)

2.6.1 Wirkprinzip

Milchsäure, acidum lacticum, ist eine farblose, sirupartige, hygroskopische und geruchlose Flüssigkeit. Sie besteht aus einem Gemisch aus 2-Hydroxypropionsäure und ihren Kondensationsprodukten wie Lactylmilchsäure und Polymilchsäure sowie Wasser (PH. EUR. 2, DAB 9; WALLHÄUSER 1988).

Die Summenformel lautet $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$, das Molekulargewicht liegt bei 90,08 der Schmelzpunkt (F- Wert) bei 18 °C. Milchsäure ist ein Stoffwechselprodukt lebender Zellen, welches bei geringem Sauerstoffangebot gebildet wird. Sie ist eine Hydroxysäure und optisch aktiv. Milchsäure ist mischbar mit Wasser, Alkohol und Glycerin.

Durch ihre verschiedenen Absolutkonfigurationen dreht sie die Schwingungsebene von linear polarisiertem Licht entweder nach rechts oder nach links. Befindet sich die OH- Gruppe in der räumlichen Anordnung links (L- Form), wird diese Milchsäure entsprechend ihrem Einfluss auf das Licht als rechts- drehend bezeichnet und sie bekommt im Namen den Zusatz „(+““. Wenn die OH- Gruppe in der räumlichen Anordnung rechts befindet (D- Form), bezeichnet man diese Milchsäure als links drehend und sie bekommt den Zusatz „(-““ (WALLHÄUSER 1988).

Mikroorganismen bilden die L(+)- Form (die OH- Gruppe befindet sich in der räumlichen Anordnung links, die Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes wird nach rechts gedreht), die sog. „Fleischmilchsäure“, die D(-)- Form (die OH- Gruppe sitzt in der räumlichen Anordnung rechts, die Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes wird nach links gedreht) und als Mischung (Racemat) die DL- Form in artspezifischer Synthese.

Milchsäure ist eine GRAS Substanz (Generally Recognized As Safe). Sie hat, was den Acceptable Daily Intake Level für Menschen betrifft, kein oberes Limit (SCVPH 1998). Für Ratten liegt die akute orale Toxizität bei einer LD₅₀ von 3,7 g/kg (WALLHÄUSER 1988).

Milchsäure ist eine der am weitesten verbreiteten Säuren in der Natur. Sie wird durch Milchsäurebakterien als hauptsächliche Säure während aller Fermentationsvorgänge von Lebensmitteln synthetisiert (SCVPH 1998).

Literatur

D(-)- Milchsäure wird gebildet von diversen Leuconostoc-Arten, von *Lb. coryniformis ssp. torquens*, *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* und anderen.

L(+)- Milchsäure wird gebildet von *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Lb. alimentarius*, *Lb. amylophilus*, *Streptococcus*, *Listeria* und manchen Hefen und Pilzen.

DL- Milchsäure wird gebildet von *Lb. acidophilus*, *Lb. casei spp. pseudoplantarum*, *Lb. sake*, *Lb. plantarum* und anderen.

In Europa wird Milchsäure großtechnisch durch Fermentation mit Hilfe von Lactobacillus-Arten hergestellt (etwa 20.000 t pro Jahr). Der größte Teil geht in die Lebensmittelindustrie, ein kleinerer Teil (D(-)- Milchsäure) wird zur Synthese einiger Pflanzenbehandlungsmittel verwendet.

Milchsäure wirkt stabilisierend bei der Herstellung beispielsweise von Sauerkraut, Sauermilchprodukten, Käse, Silofutter (hier: natürliche Milchsäuregärung), wobei das Vorhandensein von großen Zuckermengen obligatorisch ist. Da KAHMHEFEN, MILCHSCHIMMEL (*Endomyces lactis*, leitet bei durch Milchsäurebakterien haltbar gemachten Produkten Verderb ein) und verschiedene Pilze bevorzugt organische Säuren verstoffwechseln, sind sie bei den oben genannten Produkten schädlich (FRANK 1994).

Wirkungsweise auf mikrobielle Agentien:

Milchsäure gehört zu den ältesten konservierenden Mitteln; eine ausreichende Wirkung wird bei Konzentrationen über 0,5 % erreicht (WALLHÄUSER 1988; FRANK 1994). Ihre optimale Desinfektionswirkung entfaltet Milchsäure bei einem pH- Wert von 3-4. Kurzzeitwirksam ist Milchsäure im stark sauren Bereich; bereits bei pH 5 fehlt diese kurzfristige Desinfektionswirkung (WALLHÄUSER 1988). Eine Langzeitwirkung (konservierende Wirkung) von Milchsäure wird erst bei Konzentrationen über 0,5 % erzielt.

Da Milchsäure nach dem deutschen Recht kein Lebensmittel-Zusatzstoff ist, bedarf sie keiner Zulassung (FRANK 1994).

Zur Abtötung in 24 Std bei 22 °C benötigt man gegen *S. aureus* 40 mg/l, gegen *E. coli* 1000 mg/l und gegen *Ps. aeruginosa* 300 mg/l. Vor allem gramnegative Bakterien sind gegenüber Milchsäure empfindlich (FRANK 1994).

2.6.2 Einsatz von Milchsäure in der Dekontamination

Die bakteriziden bzw. bakteriostatischen Eigenschaften von Säuren hängen im allgemeinen vom Grad der Dissoziation der Säure im Milieu bei einem bestimmten pH ab. Ein antimikrobieller Effekt steigt mit wachsender Konzentration undissoziierter Säure (DOORES 1993). Auch vom Aufbau der Säuremoleküle, der Taxonomie der Zielbakterien, der Temperatur der Säurelösung und der Zeit, welche das Agens der Säure ausgesetzt ist, ist der mikrobizide Effekt abhängig (MOUNTNEY und O'MALLEY 1965; JUVEN et al. 1974; THOMSON et al. 1976, SCVPH 1998).

Kurzkettige organische Säuren (Essigsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Propionsäure, Fumarat, Tartrat und Succinat) besitzen antibakterielle Aktivität, manche (Sorbinsäure und Propionsäure) haben auch antifungale Effekte. Traditionelle Einsatzgebiete sind die Lebensmittelkonservierung und die Zugabe zum Zwecke der Geschmacksgebung (SCVPH 1998).

In den späten 50er Jahren begann man, Geflügelfleisch zum Zwecke der Dekontamination mit organischen Säuren und ihren Salzen zu behandeln. Ziel war die Verlängerung der Haltbarkeit und die Reduktion von Pathogenen. Primär konzentrierte man sich auf organische Säuren mit kurzen Kohlenstoffketten und hier besonders auf diejenige, die als GRAS anerkannt waren. In Frage kamen daher Essigsäure (FAO 1965), Milchsäure (FAO 1965), Zitronensäure (FAO 1965), Propionsäure (FAO 1965) und Succinat, da sie bezüglich des Acceptable Daily Intake Level für Menschen nicht limitiert sind.

Die in dieser Studie gewählte Milchsäure ist in der Zusatzstoff- Zulassungsverordnung als Zusatzstoff in begrenzter Menge ($q_s = \text{quantum satis}$) zugelassen, d.h. nach der guten Herstellungspraxis darf Milchsäure „nur in der Menge verwendet werden, die erforderlich ist, um die gewünschte Wirkung zu erzielen, und unter der Voraussetzung, dass der Verbraucher dadurch nicht irregeführt wird.“ (ZZulV 1998).

Ein besonderes Augenmerk bei der Behandlung von Schlachttierkörpern ist auf das zu behandelnde Gewebe und die Position im Prozess, an dem die Säurebehandlung erfolgt, zu legen. An fettigen Gewebe- Oberflächen konnten, eher als an mageren Oberflächen (Muskulatur) mikrobizide Effekte festgestellt werden. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass Muskulatur größere Pufferkapazitäten besitzt (SCVPH 1998).

Literatur

Je früher im Prozess die Applikation der Milchsäure erfolgt, umso besser ist der mikrobizide Effekt, da die Mikroorganismen auf frischem Fleisch noch nicht so fest verhaftet sind (SMULDERS 1987).

Laut SCVPH (1998) bewirken organische Säuren eine Dekontamination von Geflügelschlachtkörpern um 90-99 % der Ausgangsbelastung und bezogen auf Pathogene von 30-90 %.

VAN DER MAREL et al. (1988) tauchten Broilerschlachtkörper an verschiedenen Stufen im Schlachtprozess je 15 sek in 1-2 % Milchsäurelösung (pH 2,2 bei 19 °C). Untersucht wurde auf die Gesamtkeimzahl, auf Psychrophile, Enterobacteriaceae, *S. aureus* und deren Wachstum bei 0 °C über 23 Tage. Es ergab sich, dass sofort nach der Behandlung die bakterielle Belastung pro Gramm Haut generell um eine Logarithmusstufe reduziert wurde und der pH der Haut um 3,2 Einheiten auf einen pH von 4 abfiel. Die Behandlung mit 2 % Milchsäure unterdrückte das Wachstum von Mikroorganismen nach der Dekontamination effektiver als mit 1 % Milchsäure. Die Behandlung war am erfolgreichsten, wenn sie kurz vor der Kühlung eingesetzt wurde.

BAUSTIA et al. (1995) untersuchten die Wirkungen von Milchsäure, Chlor (50 ppm) und Trinatriumphosphat (TSP)- Sprays auf Putenschlachtetierkörpern.

1,25 %ige Milchsäure erzielte eine 2,4 log₁₀- Reduktion der aeroben Gesamtkeimzahl, 4,25 %ige Milchsäure erbrachte eine 4,4 log₁₀- Reduktion. Das Säurespray hatte auch Einfluss auf die Reduktion von Coliformen und reduzierte außerdem die Salmonellenkontamination.

SNIJDERS et al. (1985 I) untersuchten den Dekontaminationseffekt von Milchsäure für Tierkörper, Teilstücke und Messer. Sie gingen davon aus, dass sich die bakterielle Belastung des Tierkörpers, eine gute Prozesshygiene vorausgesetzt (good manufacturing practice = GMP), während eines jeden Schrittes der Fleischgewinnung verringert. Durch die Anwendung von Milchsäure konnte die Verringerung der bakteriellen Belastung des Tierkörpers von Prozessschritt zu Prozessschritt noch verbessert werden. So konnte die aerobe Gesamtkeimzahl auf Kalbfleisch durch Behandlung mit Milchsäuresprays um log 0,7/cm² reduziert werden. Ein limitierender Faktor war die mögliche geschmackliche Abweichung durch Milchsäuresprays. Bei Sprays mit bis zu 2 % Milchsäure konnten die Autoren keine geschmackliche Abweichung feststellen. Der sofortige antibakterielle Effekt bei den Sprühbehandlungen mit Milchsäure war abhängig vom Substrat und den Bedingungen der Dekontamination. Zusätzlich konnte eine verlängerte Lagerungsfähigkeit verzeichnet

werden, was auf einen bakteriostatischen Effekt bei den durch die Milchsäure geschädigten Mikroorganismen zurückgeführt wurde.

Durch die Anwendung von Milchsäure kam es zu einer Verschiebung der bakteriellen Flora zugunsten von grampositiven Keimen (SNIJDERS et al. 1985 I).

Sprühbehandlungen des Tierkörpers mit 5 %iger Milchsäure resultieren in einer starken Reduktion der Keime, verursachen jedoch eine nicht zu akzeptierende Verfärbung der behandelten Teile. SNIJDERS et al. (1985 I) zeigten, dass die optimale Milchsäurekonzentration für Sprühbehandlungen – d.h. hier traten keine Verfärbungen auf – bei 1 % v/v für Rindfleisch und 1,25 % v/v für Kalbfleisch liegt. Auch wenn nach der Behandlung eine kleine Verfärbung erfolgte, so verschwand sie nach einem Tag in der Kühlung. Die akzeptable Konzentration wurde für Kalbfleisch höher angesetzt, da es von Natur aus blasser ist.

Der Zusatz von 2,7 % Milchsäure zum Wasser der Sterilisationsbecken zeigte eine Reduktion der aeroben Gesamtkeimzahl auf den Messern schon bei einer Temperatur von 45 °C, was deutlich besser war als der Effekt bei der üblichen Wassertemperatur von 82 °C im Wasserbad (SNIJDERS et al. 1985 I).

In einer anderen Studie verwendeten SNIJDERS et al. (1985 II) eine 90 %ige Stamm-Milchsäure (Chemie Combinat Amsterdam). Als Ersatz für Messerklingen dienten rostfreie Stahlplättchen, welche mit gepuffertem TSB- Agar beschichtet wurden. Bei der Behandlung von Messern über 15 sek in 82 °C warmem Wasser wurde eine Reduktion der Keime um 2,2 log bezogen auf die aerobe Gesamtkeimzahl erzielt, was sich signifikant vom Einsatz von Milchsäure unterschied. Hier konnte in 15 sek schon bei einer Temperatur von 20 °C eine Reduktion der Keimmenge um 3,2 log, bezogen auf die aerobe Gesamtkeimzahl, erreicht werden.

SNIJDERS et al. (1985 II) kamen zu dem Schluss, dass die Desinfektion von Messern mit Wasser von 82 °C weit vom Optimum (= Keimfreiheit nach Behandlung im Sterilisationsbecken) entfernt ist, wenn nicht zusätzlich eine mechanische Reinigung erfolgt. Wenn Milchsäure zugesetzt wird, kann laut SNIJDERS et al. (1985 II) mit kälterem Wasser (< 82 °C) gearbeitet werden. Eine Behandlung mit Sprühen habe noch einen besseren Effekt als dies nur bei stehendem Wasser möglich sei.

Der Erfolg der Dekontamination mit Milchsäure hängt somit laut SNIJDERS et al. (1985 I) u.a. ab von Konzentration, Anwendungsdauer, Temperatur, dem Anhaften der Mikroorganismen an der Oberfläche und der Applikationsart des Mittels wie Spraysen oder Eintauchen. Die Benutzung von Milchsäure als End- Dekontaminant, verbunden mit einer guten Prozesshygiene, kann insofern laut SNIJDERS et al. (1985 I) entscheidende Vorteile bringen. Diese Vorteile manifestieren sich in einem sofortigen bakteriziden Effekt und einem verzögerten bakteriostatischen Effekt und bewirken eine verlängerte Haltbarkeit des Fleisches. Durch Unterdrückung der gramnegativen Mikroorganismen könne die Zahl enteropathogener Mikroorganismen reduziert werden. Eine Vernachlässigung der Hygiene beim Schlachten und Verarbeiten könne jedoch durch die Benutzung von Milchsäure nicht ausgeglichen werden (SNIJDERS et al. 1985 I).

Zielsetzung der vorgelegten Untersuchung war es, den Dekontaminationseffekt der rechtlich vorgegebenen Heißwasserbehandlung im Sterilisationsbecken zu vergleichen mit Verfahren unter Einbeziehung von unterschiedlichen Zeit-/Temperaturkombinationen, Ultraschall und Milchsäure.