

<b>Zeitschrift:</b>	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
<b>Herausgeber:</b>	Bundesamt für Gesundheit
<b>Band:</b>	83 (1992)
<b>Heft:</b>	2
<b>Artikel:</b>	Veränderungen der Gehalte an Glucose, Glykogen, L- und D-Milchsäure beim mikrobiellen Verderb von Rindfleisch = Concentration changes of glucose, L- and D-lactic acid during microbial spoilage of beef
<b>Autor:</b>	Meyns, Silke / Begazo, Nadia / Schmidt-Lorenz, W.
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-982254">https://doi.org/10.5169/seals-982254</a>

### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 28.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Veränderungen der Gehalte an Glucose, Glykogen, L- und D-Milchsäure beim mikrobiellen Verderb von Rindfleisch

Concentration Changes of Glucose, Glycogen, L- and D-Lactic Acid during Microbial Spoilage of Beef

*Silke Meyns, Nadia Begazo und W. Schmidt-Lorenz*

Institut für Lebensmittelwissenschaften, Eidg. Technische Hochschule, Zürich

## Einleitung

Im Muskelfleisch kann die Energiegewinnung post mortem eine Zeitlang durch Glykolyse aufrechterhalten werden. Der End-pH-Wert sowie der Restglykogengehalt des Fleisches sind abhängig von der Glykogenmenge im Muskel vor der Schlachtung. Ausserdem können noch Restmengen an Glucose und Glucose-6-phosphat im Fleisch vorhanden sein.

Die Literaturangaben über die Gehalte an Glykogen und Glucose in Frischfleisch variieren erheblich, was teilweise auf die angewandten unterschiedlichen Analysenverfahren zurückzuführen ist. Nach Gill (1) spielt Glucose eine entscheidende Rolle für den Verlauf des Verderbs. Erst nach Erschöpfung der Kohlenhydratreserven im Fleisch sollen die am Verderb beteiligten Bakterien freie Aminosäuren und L-Milchsäure abbauen, was dann zur Bildung von sensorisch wahrnehmbaren Fehlgerüchen führt. Allerdings haben andere Autoren (2, 3) auch in verdorbenem Fleisch noch Glucose nachgewiesen. In der vorliegenden Untersuchung sollte festgestellt werden, ob bei sensorisch erkennbarem Verderb gröserer Rindfleischstücke tatsächlich Glykogen und Glucose mikrobiell vollständig abgebaut werden. Ausserdem gibt es in der Literatur bisher noch keine Angaben über die Glucose- und Glykogengehalte von vakuumverpackt kühlgelagertem Fleisch.

L-Milchsäure akkumuliert durch die postmortale Glykolyse im Muskel und führt zur Absenkung des pH-Wertes. L-Milchsäure kann einerseits als Substrat für Bakterien dienen und ist andererseits ein Stoffwechselprodukt der Milchsäurebakterien, deshalb scheint L-Milchsäure als Verderbsindikator nicht geeignet. Von Nassos et al. (4) wurde allerdings Gesamtmilchsäure auch als Verderbsindikator für Hackfleisch vorgeschlagen.

D-Milchsäure wird im Fleisch ausschliesslich durch Milchsäurebakterien gebildet und wurde daher von verschiedenen Autoren als Indikator für den Verderb von vakuumverpacktem Fleisch und Fleischprodukten vorgeschlagen (5–7). Unklar ist,

ob und inwieweit D-Milchsäure auch bei offen gelagertem Fleisch durch die dort ebenfalls am Verderb beteiligten Milchsäurebakterien gebildet wird.

## Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurde Rindsunderspälte (*Musculus glutaeobiceps*) verwendet. Es handelte sich dabei um frisches Rindfleisch, das immer zum gleichen Zeitpunkt, d. h. am Tag des Zerlegens drei Tage nach der Schlachtung, von einem Zerlegebetrieb bezogen wurde. Der Muskel wurde im Laboratorium ladenfertig zugeschnitten und anschliessend in 6 bis 8 ca. 500 g schwere Stücke geteilt. Diese Stücke wurden aerob im Exsikkator bzw. anaerob in der Vakuumpackung bei 4 °C eingelagert. Die Einzelheiten dieses Verfahrens wurden ausführlich erläutert (8).

### *Probenahme und mikrobiologische Methoden*

An den jeweiligen Probenahmetagen wurden im Laufe der Lagerung sowohl für die mikrobiologischen als auch für die chemischen Analysen Oberflächenproben entnommen. Mit einem Stanzeisen (3,6 cm Durchmesser) wurde zunächst ein Fleischzylinder gewonnen und davon mit einem Skalpell ein ca. 0,5 cm dickes Stück von der oberen Oberfläche (10 cm<sup>2</sup>) abgeschnitten.

Für die Bestimmung von Konzentrationsprofilen wurden Quader von 10 cm<sup>2</sup> Oberfläche geschnitten und diese quer in fünf ca. 1 cm dicke Stücke geteilt (8).

Für die Bestimmung der Gesamtkoloniezahl wurde PC-Agar verwendet. Die übrigen mikrobiologischen Analysen wurden mit Selektivplattenverfahren durchgeführt. Die Koloniezahlen der Pseudomonaden wurden mit GSP-Agar bestimmt, die der Enterobacteriaceen mit VRBG-Agar. Für die Bestimmung der Koloniezahlen von Milchsäurebakterien kam MRS-Agar zur Anwendung und von *Brochothrix thermosphacta* SNaPP-Agar. Die genauen Bedingungen für diese Untersuchungen wurden bereits beschrieben (8).

### *Enzymatische Untersuchungen*

Zur Untersuchung der Fleischproben auf die Inhaltsstoffe Glucose, Glykogen, D- und L-Milchsäure wurden enzymatische Methoden verwendet. Die eingesetzten Enzyme und Testsätze wurden von der Firma Boehringer (Rotkreuz) bezogen. Die Durchführung der Tests erfolgte gemäss den Vorschriften der Firma Boehringer (9).

Bei den Oberflächenproben erfolgten diese Bestimmungen jeweils doppelt bei drei repräsentativen Lagerreihen. Die Konzentrationsprofile wurden bei zwei Lagerreihen untersucht. Angegeben sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte der Ergebnisse.

## *Bestimmung von Glucose und Glykogen mit der Dehydrogenase-Methode*

Die Bestimmungen von Glucose und Glykogen erfolgten jeweils bei einer tiefgefrorenen Probe von ca. 5 g Gewicht, 0,5 cm Dicke und 10 cm<sup>2</sup> Oberfläche aus der oberen Oberflächenschicht eines gelagerten Fleischstücks. Die Fleischprobe wurde gemäss der Vorschrift der Firma Boehringer (9) zur Bestimmung von Stärke bei gleichzeitiger Anwesenheit von Monosacchariden in Fleischprodukten mit Dimethylsulfoxid und Salzsäure aufgeschlossen.

Im erhaltenen Filtrat wurde sofort photometrisch Glucose mit dem Testsatz Glucose (Boehringer 71625) und Glykogen mit dem Testsatz Stärke (Boehringer 207748) bestimmt. Die eingesetzten Probenvolumina wurden zur Steigerung der Empfindlichkeit bis auf 2 ml erhöht.

Die Bestimmung der Glucose erfolgte bei diesem Testsatz mit der Dehydrogenase-Methode. Dabei wird die Glucose zunächst mit ATP und Hexokinase zu Glucose-6-phosphat phosphoryliert und anschliessend mit Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase zu Gluconat-6-phosphat oxidiert. Eventuell bereits vorhandenes Glucose-6-phosphat wird ebenfalls durch die Dehydrogenase oxidiert, so dass mit dieser Methode die Summe von Glucose und Glucose-6-phosphat erfasst werden konnte.

Glykogen wurde zunächst mit Amyloglucosidase zu Glucose aufgeschlossen und mit dieser anschliessend die oben angegebene Reaktion durchgeführt. Der Glykogengehalt ergab sich rechnerisch aus dem Glucosegehalt vor und nach der Amyloglucosidase-Behandlung.

Die Wiederfindungsraten betrugen im Fleischhomogenisat für Glucose 93% und für Glykogen 99%. Die Nachweisgrenze betrug 0,2 mg g<sup>-1</sup> Fleisch, die Reproduzierbarkeit der Methoden für Glucose ± 5%, für Glykogen ± 10%.

## *Bestimmung von Glucose mit der Oxidasemethode*

Es wurden 5 g tiefgefrorenes Fleisch, entsprechend einer 0,5 cm dicken und 10 cm<sup>2</sup> grossen Oberflächenprobe der gelagerten Fleischstücke, vorzerkleinert in ein 50-ml-Zentrifugenglas eingewogen, mit 5 ml Wasser versetzt, mit einem Stabmixer (Ultra-Turrax, Janke & Kunkel) homogenisiert und anschliessend abzentrifugiert. Der Glucosegehalt des klaren Überstandes wurde sofort mit den Teststäbchen Haemo-Glukotest 20–800R (Boehringer) bestimmt und deren Färbung mit dem Reflexionsphotometer Refloflux II M (Boehringer) gemessen. Das Photometer gab die gemessenen Werte direkt in mg dl<sup>-1</sup> an, die auf das Gewicht des Fleisches umgerechnet wurden.

Mit der Oxidasemethode wurde die Glucose separat erfasst. Diese Methode wird zur Bestimmung des Glucosegehaltes in Blut eingesetzt. Sie beruht auf der Umsetzung von Glucose mit Glucoseoxidase zu Gluconsäure. Dabei entsteht Wasserstoffperoxid, das in einer weiteren Reaktion mit Peroxidase zu einem Farbstoff umgesetzt wird, dessen Extinktion proportional zur Glucosekonzentration ist.

Die Wiederfindungsrate betrug 98%, die Nachweisgrenze lag bei 0,2 mg Glucose g<sup>-1</sup> Fleisch. Die Reproduzierbarkeit der Methode betrug ± 10%.

## *Bestimmung von D- und L-Milchsäure*

Für diese Bestimmungen wurde ebenfalls eine tiefgefrorene Probe von 5 g Gewicht, 0,5 cm Dicke und 10 cm<sup>2</sup> Oberfläche mit Perchlorsäure nach der Vorschrift von Boehringer (1987) für die Bestimmung von Milchsäure in Fleischerzeugnissen aufgeschlossen.

Das erhaltene Filtrat wurde mit dem Testsatz L-Milchsäure (Boehringer 1390849) nach der Vorschrift des Herstellers untersucht. Die Wiederfindungsrate im Fleischhomogenisat lag bei 96%. Die Nachweisgrenze betrug 0,1 mg g<sup>-1</sup> Fleisch, die Reproduzierbarkeit ± 5%.

Zur Bestimmung des Gehaltes an D-Milchsäure wurde ebenfalls der Testsatz L-Milchsäure, aber mit D-Lactat-Dehydrogenase (Boehringer 106941) verwendet. Statt 50 µl wie vorgeschrieben wurden nur 25 µl dieses Enzyms dem Testgemisch zugesetzt, darum musste die Inkubationszeit von 20 auf 60 min verlängert werden. Zur Steigerung der Empfindlichkeit war eine Erhöhung des eingesetzten Probevolumens bis auf 1 ml notwendig. Die Wiederfindungsrate von D-Milchsäure im Fleischhomogenisat betrug 91%. Die Nachweisgrenze lag ebenfalls bei 0,1 mg g<sup>-1</sup> Fleisch, die Reproduzierbarkeit ± 5%.

## *Ergebnisse*

### *Offene Lagerung im Exsikkator*

In den Abbildungen 1 a) und b) sind die Analysenwerte für Glucose bzw. Glykogen und die Gesamtkoloniezahlen in den 0,5 cm dicken Oberflächenschichten im Laufe der offenen 14tägigen Lagerung bei 4 °C eines frischen, d. h. drei Tage nach der Schlachtung eingelagerten Rindfleischstückes dargestellt. Die Streuungen der Mittelwerte der beiden Doppelproben, die jeweils wenige Zentimeter voneinander entfernt entnommen waren, lagen durchwegs in der Größenordnung von weniger als ± 5% für Glucose bzw. ± 10% für Glykogen. Dagegen zeigten die im Laufe der Lagerung gemessenen Werte sehr grosse Streuungen um bis zu ± 40%. Das war besonders stark ausgeprägt bei den mit der DH-Methode erfassten Konzentrationen von Glucose + Glucose-6-phosphat, aber ähnlich auch bei Glucose, Glykogen und L-Milchsäure. Relativ geringe Streuungen waren nur bei den stetig zunehmenden Gesamtkoloniezahlen zu verzeichnen. Die stets vom gleichen Muskel im Laufe der Lagerung entnommenen Oberflächendoppelproben lagen teilweise über 10 bis 30 cm voneinander entfernt. Dies war gleichermaßen bei Wiederholung der Lagerversuche mit jeweils frischem Rindfleisch eines anderen Schlachttierkörpers der Fall.

In den Abbildungen 2 a) und b) sind die mittleren Analysenwerte von drei verschiedenen Lagerversuchen zusammengefasst. Dabei sind die Streuungen im Verlauf der Lagerung etwas geringer als bei jedem einzelnen Lagerversuch, insgesamt aber doch ungewöhnlich gross. Daher waren nur ungefähre Schätzungen über

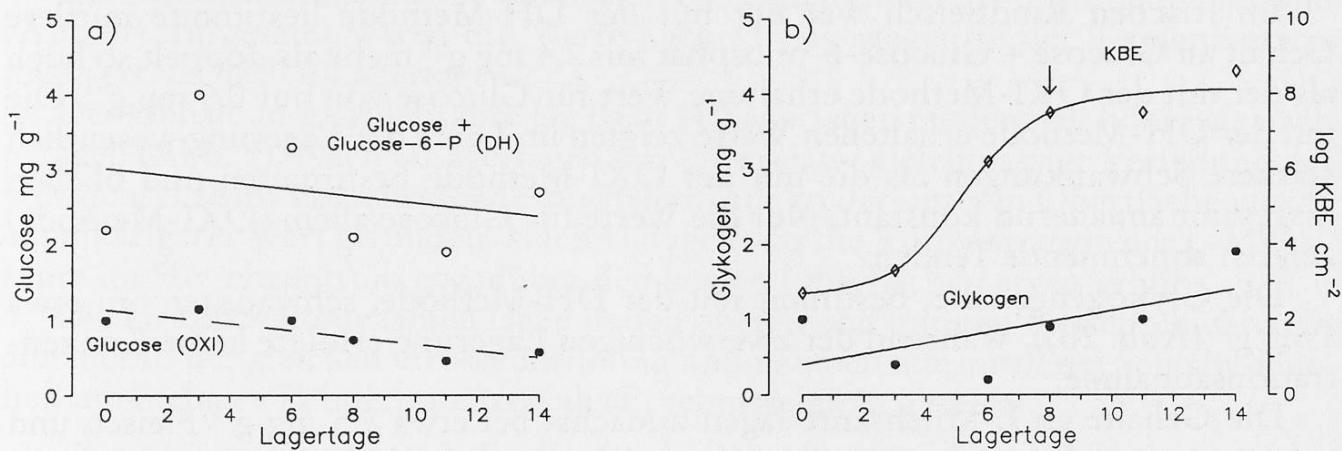


Abb. 1 a) und b). Glucose- (DH- und OXI-Methode) und Glykogengehalte sowie Gesamtkoloniezahlen (KBE) in 0,5 cm dicken Oberflächenschichten bei der offenen Lagerung von Rindfleisch bei 4 °C (Mittelwerte von Doppelproben eines Lagerversuchs). Der Pfeil kennzeichnet den sensorisch erkennbaren Verderbsbeginn

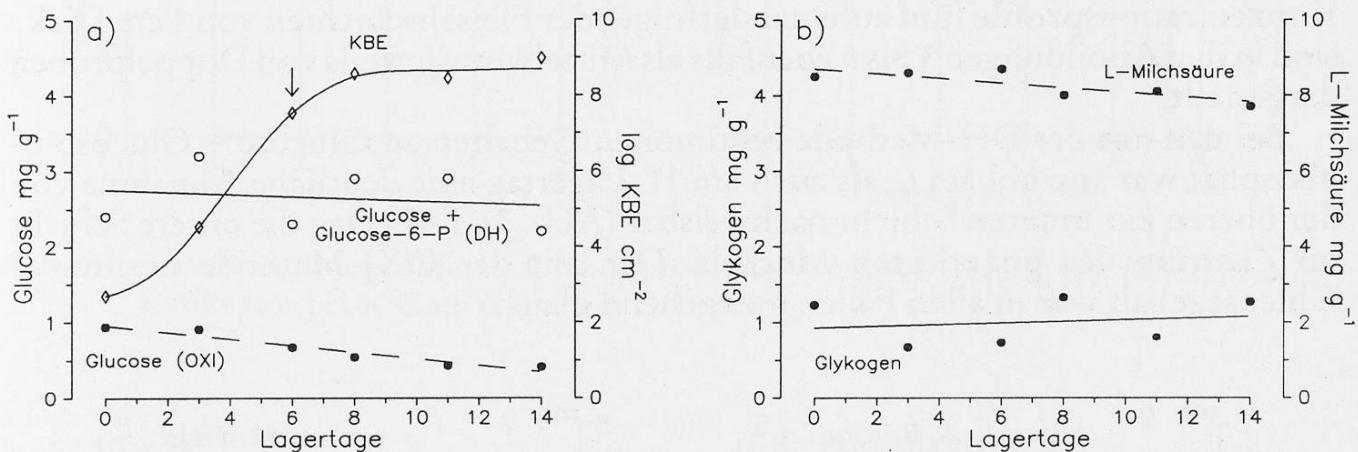


Abb. 2 a) und b). Glucose- (DH- und OXI-Methode), Glykogen- und L-Milchsäuregehalte sowie Gesamtkoloniezahlen (KBE) in 0,5 cm dicken Oberflächenschichten bei der offenen Lagerung von Rindfleisch bei 4 °C (Mittelwerte von drei Lagerreihen). Der Pfeil kennzeichnet den sensorisch erkennbaren Verderbsbeginn

Tendenzen der Konzentrationsänderungen möglich. Die Gesamtkoloniezahlen lagen mit  $5 \times 10^2 \text{ KBE cm}^{-2}$  beim frischen Fleisch sehr niedrig und nahmen dann rasch zu. Nach 6 Lagertagen bei 4 °C wurden bereits Gesamt- und *Pseudomonas*-Koloniezahlen von nahezu  $10^8 \text{ KBE cm}^{-2}$  erreicht. Zu diesem Zeitpunkt setzte der sensorisch erkennbare Vererb ein. Nach 14 Lagertagen lagen die Gesamt- und *Pseudomonas*-Koloniezahlen über  $10^9 \text{ KBE cm}^{-2}$ . Milchsäurebakterien und *Bacillus thermosphacta* erreichten nach 14 Tagen  $10^8 \text{ KBE cm}^{-2}$ , während die Enterobacteriaceen nur auf  $10^6 \text{ KBE cm}^{-2}$  stiegen (8).

Im frischen Rindfleisch war der mit der DH-Methode bestimmte mittlere Gehalt an Glucose + Glucose-6-phosphat mit  $2,4 \text{ mg g}^{-1}$  mehr als doppelt so hoch als der mit der OXI-Methode erhaltene Wert für Glucose von nur  $0,9 \text{ mg g}^{-1}$ . Die mit der DH-Methode erhaltenen Werte zeigten im Laufe der Lagerung wesentlich stärkere Schwankungen als die mit der OXI-Methode bestimmten und blieben insgesamt annähernd konstant. Nur die Werte für Glucose allein (OXI-Methode) zeigten abnehmende Tendenz.

Die Glykogengehalte, bestimmt mit der DH-Methode, schwankten um etwa  $1 \text{ mg g}^{-1}$  (Abb. 2b)). Während der zweiwöchigen Lagerung erfolgte keine Konzentrationsabnahme.

Die Gehalte an L-Milchsäure lagen zunächst bei etwa  $8,5 \text{ mg g}^{-1}$  Fleisch und nahmen vom 8. Lagertag an wenig auf unter  $8 \text{ mg g}^{-1}$  ab (Abb. 2b)).

D-Milchsäure wurde während der Lagerung von Rindfleisch im Exsikkator bei  $4^\circ\text{C}$  nur am letzten, dem 14. Lagertag mit einem Gehalt von  $0,2 \text{ mg g}^{-1}$  nachgewiesen.

### Konzentrationsprofile

Die bei zwei Lagerversuchen nach 6 und 11 Tagen Lagerdauer bestimmten Konzentrationsprofile fünf aufeinanderfolgender Fleischschichten von 1 cm Dicke sind in den Abbildungen 3 bis 5 ebenfalls als Mittelwerte jeweils von Doppelproben dargestellt.

Bei den mit der DH-Methode bestimmten Gehalten an Glucose + Glucose-6-phosphat war sowohl am 6. als auch am 11. Lagertag eine deutliche Abnahme von der oberen zur unteren Schicht nachweisbar (Abb. 3). Dabei lag die untere Schicht im Zentrum des unzerlegten Muskels. Der mit der OXI-Methode bestimmte Glucosegehalt war in allen Fällen weitgehend gleich.

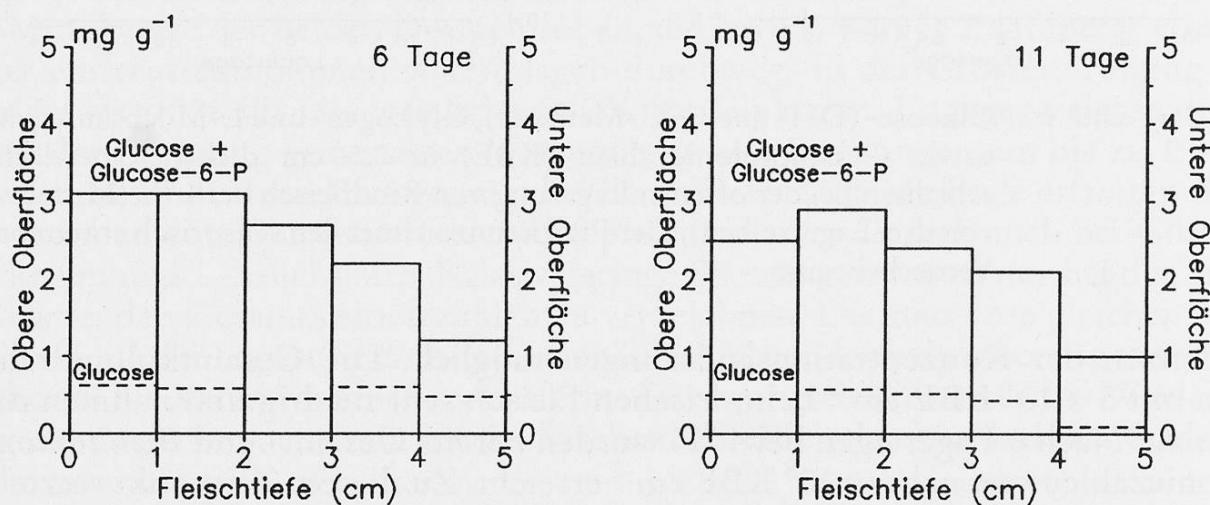


Abb. 3. Konzentrationsprofile der Glucose bei der offenen Lagerung von Rindfleisch im Exsikkator bei  $4^\circ\text{C}$  am 6. und am 11. Lagertag (Glucose + Glucose-6-phosphat, DH-Methode; Glucose, OXI-Methode)

Die Konzentrationsprofile für Glykogen zeigten ein relativ uneinheitliches Bild (Abb. 4). Insgesamt waren die Werte nach 11 Lagertagen in der Tendenz etwas niedriger als nach 6 Lagertagen.

Der Gehalt an L-Milchsäure lag nach 11 Lagertagen tendenziell höher als nach 6 Tagen (Abb. 5). Nach 6 Lagertagen war eine relativ gleichmässige Verteilung der L-Milchsäure im Fleischstück festzustellen, nur an der unteren Oberfläche wurde ein niedrigerer Wert gefunden. Nach 11 Tagen war die Konzentration der L-Milchsäure im Fleischzentrum gegenüber den beiden Oberflächen etwas erhöht.

Die Gesamtkoloniezahlen lagen in den oberen und unteren Fleischschichten in annähernd der gleichen Größenordnung und nahmen zur mittleren Schicht deutlich um mehrere Zehnerpotenzen ab (Ergebnisse nicht gezeigt).

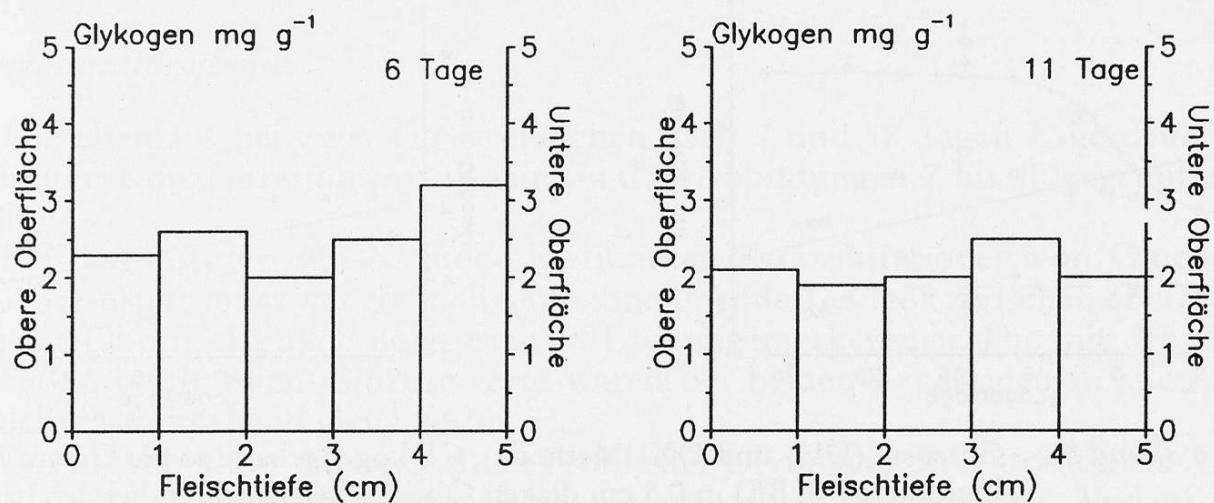


Abb. 4. Konzentrationsprofile des Glykogens bei der offenen Lagerung von Rindfleisch im Exsikkator bei 4 °C am 6. und am 11. Lagertag

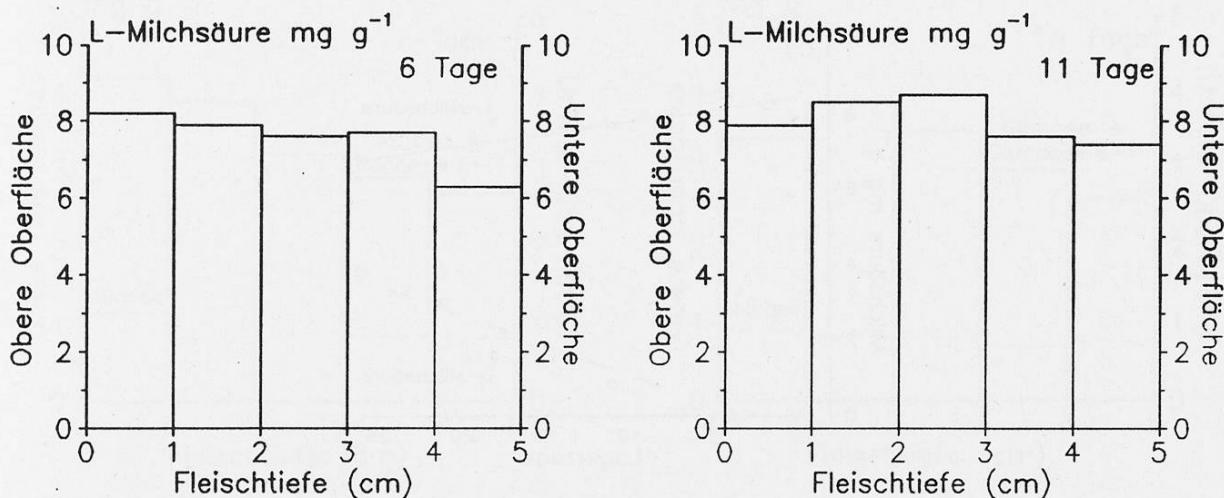


Abb. 5. Konzentrationsprofile der L-Milchsäure während der offenen Lagerung von Rindfleisch bei 4 °C am 6. und am 11. Lagertag

## Lagerung in der Vakuumpackung

Bei der Lagerung des Rindfleisches bei 4 °C in der Vakuumpackung lagen die Schwankungen der Analysenmittelwerte in der gleichen Größenordnung wie bei der offenen Lagerung (Abb. 6 a) bis c)).

Die Gesamtkoloniezahlen stiegen während der Lagerung deutlich langsamer an als bei der offenen Lagerung.  $10^7$  KBE  $\text{cm}^{-2}$  wurden in der Vakuumpackung erst nach 11 Tagen gegenüber 6 Tagen bei offener Lagerung erreicht. Nach etwa 14 Tagen traten erste sensorisch erkennbare säuerliche und muffige Geruchsabweichungen auf. Danach war keine weitere Vermehrung mehr erkennbar. In der Bakterienflora

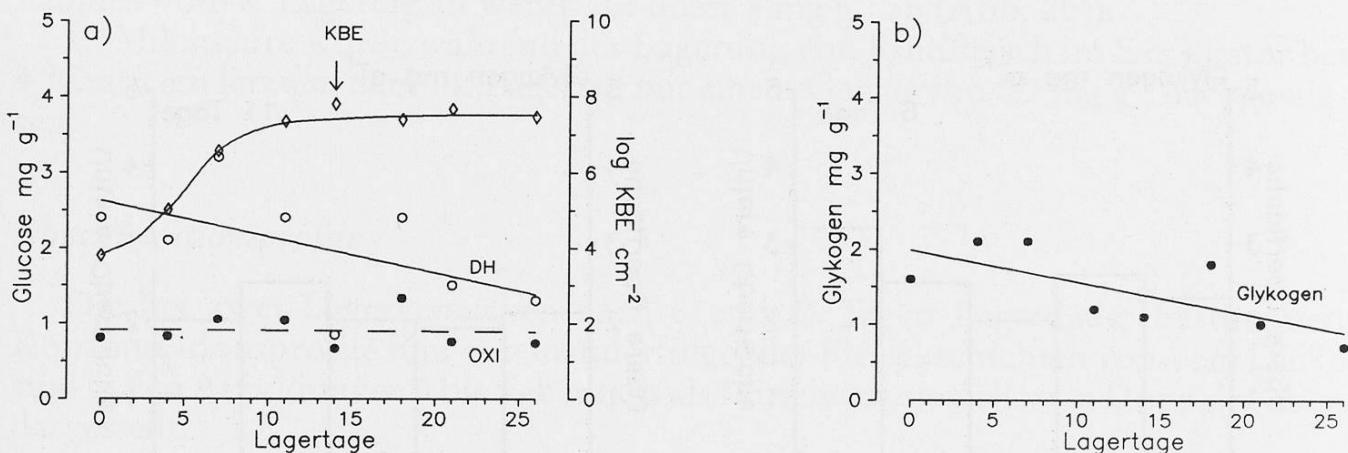


Abb. 6 a) und b). Glucose- (DH- und OXI-Methode), Glykogengehalte sowie Gesamtkoloniezahlen (KBE) in 0,5 cm dicken Oberflächenschichten bei der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch bei 4 °C (Mittelwerte aus drei Lagerreihen). Der Pfeil kennzeichnet den sensorisch erkennbaren Verderbsbeginn

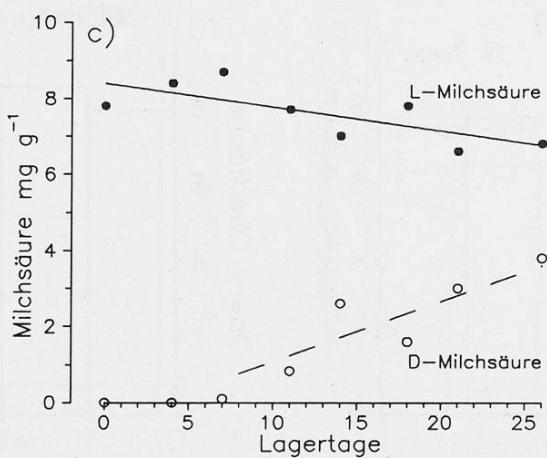


Abb. 6 c). L- und D-Milchsäuregehalte in 0,5 cm dicken Oberflächenschichten bei der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch bei 4 °C (Mittelwerte aus 3 Lagerreihen). Der Pfeil kennzeichnet den sensorisch erkennbaren Verderbsbeginn

dominierten bereits nach 4 Lagertagen Milchsäurebakterien. Die Koloniezahlen der Pseudomonaden und von *Brochothrix thermosphacta* erreichten maximal  $10^4$  KBE cm<sup>-2</sup>, die der Enterobacteriaceen  $10^3$  KBE cm<sup>-2</sup>.

Die Werte für Glucose + Glucose-6-phosphat (DH-Methode) nahmen während der Lagerung um nahezu die Hälfte ab. Die mit der OXI-Methode bestimmten Glucosewerte blieben praktisch konstant.

Auch der Glykogengehalt ging in den 26 Lagertagen deutlich um 50% zurück. Dabei waren auch nach 26 Lagertagen noch 0,75 mg Glykogen g<sup>-1</sup> nachweisbar.

L-Milchsäure nahm im Lauf der Lagerung ebenfalls geringfügig ab. D-Milchsäure wurde erstmals am 7. Lagertag mit 0,2 mg g<sup>-1</sup> Fleisch, gleichzeitig mit dem Auftreten eines säuerlichen Geruchs, nachgewiesen. Die Konzentration der D-Milchsäure stieg kontinuierlich bis auf etwa 4 mg g<sup>-1</sup> am 26. Lagertag an.

### Konzentrationsprofile

Die ebenfalls bei zwei Lagerversuchen nach 7 und 18 Tagen Lagerdauer bestimmten Konzentrationsprofile sind in den Abbildungen 7 bis 10 gegenübergestellt.

Bei den mit der DH-Methode bestimmten Konzentrationen von Glucose + Glucose-6-phosphat war ebenfalls eine abnehmende Tendenz zwischen oberer und unterer Oberfläche auch noch nach 18 Lagertagen erkennbar. Die mit der OXI-Methode bestimmten Glucosewerte waren bei beiden Lagertagen in allen fünf Schichten weitgehend gleich (Abb. 7).

Die in Abbildung 8 dargestellten Profile der Glykogenkonzentration am 7. und 18. Lagertag zeigten im Vergleich zu Glucose einen umgekehrten Verlauf. Die unteren Oberflächen (ursprüngliches Muskelzentrum), die einen niedrigeren Glucosegehalt aufwiesen, hatten einen höheren Gehalt an Glykogen. Insgesamt waren

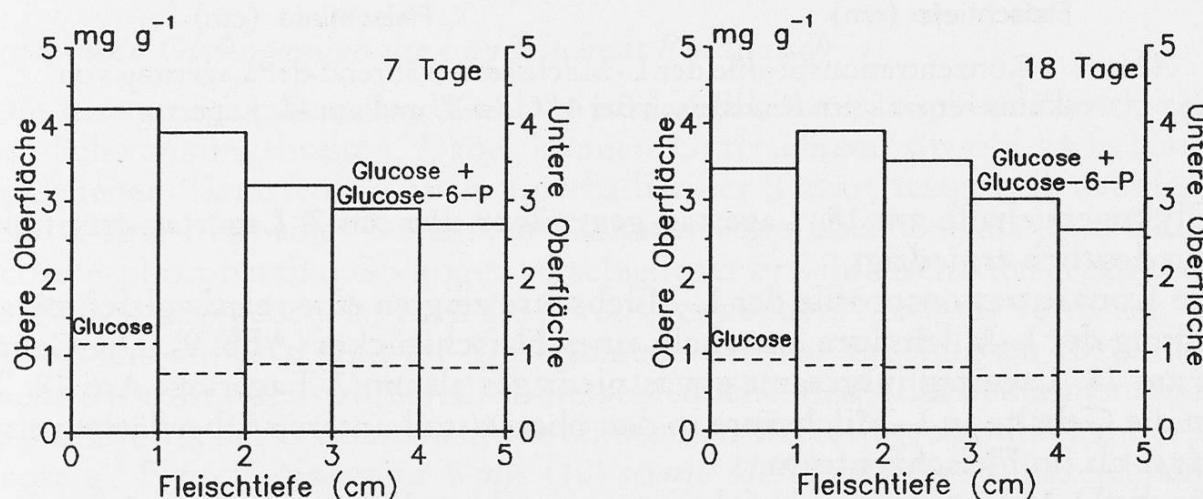


Abb. 7. Konzentrationsprofile der Glucose bei der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch bei 4 °C am 7. und am 18. Lagertag (Glucose + Glucose-6-phosphat, DH-Methode; Glucose, OXI-Methode)

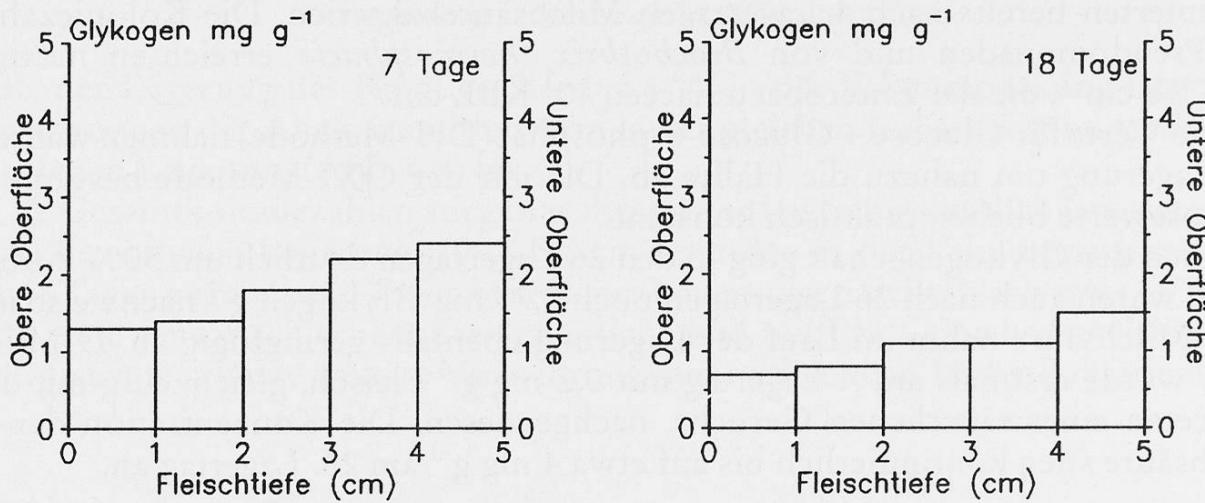


Abb. 8. Konzentrationsprofile des Glykogens während der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch bei 4 °C am 7. und am 18. Lagertag

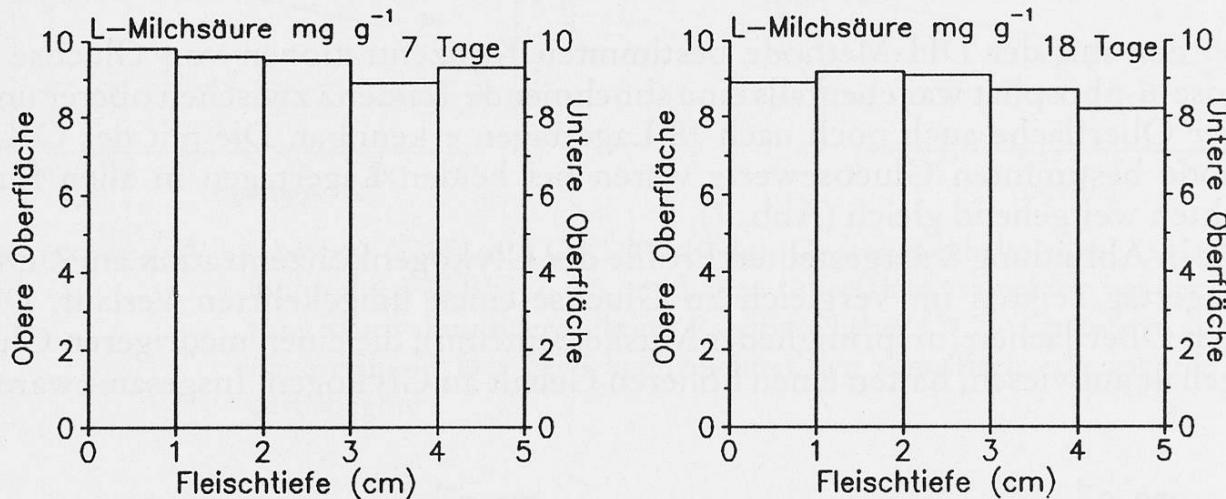


Abb. 9. Konzentrationsprofile der L-Milchsäure während der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch bei 4 °C am 7. und am 18. Lagertag

die Glykogengehalte am 18. Lagertag gegenüber den am 7. Lagertag ermittelten Werten deutlich erniedrigt.

Die Konzentrationsprofile der L-Milchsäure zeigten eine relativ gleichmässige Verteilung der L-Milchsäure innerhalb eines Fleischstückes (Abb. 9). Die Gehalte lagen am 18. Lagertag insgesamt etwas niedriger als am 7. Lagertag. Am 18. Tag waren die Gehalte an L-Milchsäure in den oberen und unteren Oberflächen etwas niedriger als im Fleischzentrum.

Für die D-Milchsäure ergab sich ein ganz anderer Verlauf des Konzentrationsprofils (Abb. 10). Hier waren sowohl am 7. Lagertag, an dem D-Milchsäure nur in den Oberflächen nachgewiesen werden konnte, als auch am 18. Lagertag die Gehalte an D-Milchsäure an den Oberflächen der Fleischstücke am höchsten. Im Fleisch-

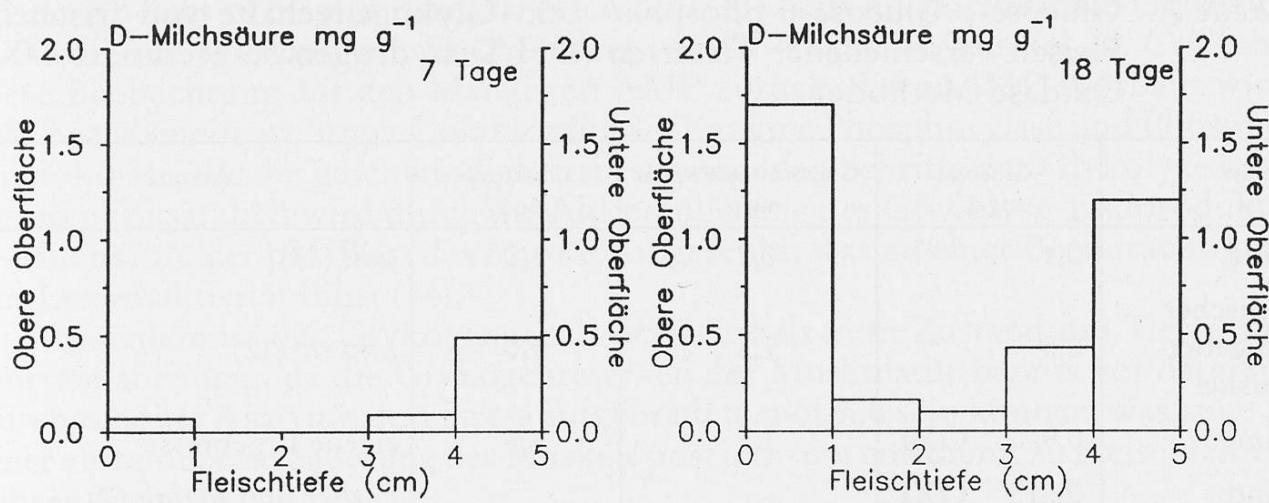


Abb. 10. Konzentrationsprofile der D-Milchsäure während der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch bei 4 °C am 7. und am 18. Lagertag

zentrum hingegen fanden sich auch am 18. Lagertag lediglich Werte von unter 0,5 mg D-Milchsäure  $\text{g}^{-1}$  Fleisch.

Ein sehr ähnliches Profil ergaben die Gesamt- und Milchsäurebakterien-Koloniezahlen mit sehr hohen Werten in den beiden Oberflächenschichten und sehr niedrigen zum Zentrum hin (Ergebnisse nicht gezeigt).

## Diskussion

### Glucose- und Glykogengehalte während der Kühl Lagerung von Rindfleisch

#### Glucose- und Glykogengehalte von frischem Rindfleisch

Die Literaturangaben über Kohlenhydratgehalte von frischem Fleisch zeigen grosse Schwankungsbreiten. Dabei können Unterschiede sowohl zwischen den verschiedenen Tierarten als auch innerhalb einer Tierart festgestellt werden. In Tabelle 1 sind die bisher bekannten Literaturwerte über Gehalte von Glucose, Glucose-6-phosphat und Glykogen verschiedener Frischfleischarten gegenübergestellt. Soweit angegeben, ist auch die jeweils verwendete Methode vermerkt.

Besonders auffällig sind die Unterschiede bei den Ergebnissen für Glucose. Ursache dafür ist offensichtlich die unterschiedliche Methodik der enzymatischen Analyse. Die mit der Oxidasemethode ermittelten Werte liegen sämtlich unter 1 mg Glucose  $\text{g}^{-1}$  Fleisch. *Nuss* und *Wolfe* (10) sowie *Mercier* et al. (11) bezeichnen die mit der Dehydrogenase-Methode ermittelten und deutlich höheren Werte als Glucosewerte. Tatsächlich wird mit der DH-Methode neben Glucose auch Glucose-6-phosphat bestimmt. In der vorliegenden Untersuchung wurde für frisches Rindfleisch mit der OXI-Methode 0,9 mg Glucose  $\text{g}^{-1}$  bestimmt und mit der

Tabelle 1. Glucose-, Glucose-6-phosphat- und Glykogengehalte von frischem Fleisch verschiedener Tierarten (DH Dehydrogenase-Methode, OXI Oxidase-Methode)

Tierart	Glucose mg g <sup>-1</sup>	Glucose-6-phosphat mg g <sup>-1</sup>	Glykogen mg g <sup>-1</sup>	Autor
Rind	0,1	*	0,2	Gill (13)
typischer Säugetiermuskel	0,5	*	1,5	Lawrie (12)
Rind	0,9	OXI	1,5	eigene Ergebnisse
Rind	0,615	OXI		Farber und Idziak (2)
Schaf	0,4	OXI		Gill (1)
Schaf	0,4	OXI	0,65	Gill und Newton (16)
Rind	3,4	DH	1,8	Mercier et al. (11)
Rind	2,4	DH		eigene Ergebnisse
Rind	2,0	DH	2,7	Nuss und Wolfe (10)
Huhn	1,2	DH	0,06	Keller-König (3)
Schwein	0,8	DH	1,6	Fischer und Augustini (21)

\* Methode nicht angegeben

DH-Methode 2,4 mg g<sup>-1</sup>. Aus der Differenz dieser beiden Werte ergab sich für Glucose-6-phosphat ein Gehalt von etwa 1,5 mg g<sup>-1</sup> Fleisch, der mit dem von Lawrie (12) angegebenen Wert gut übereinstimmt. Gill (13) fand ohne Angabe der verwendeten Methodik mit nur 0,2 mg g<sup>-1</sup> wesentlich niedrigere Glucose-6-phosphat-Werte. Offensichtlich liegt im Fleisch der Hauptteil der Glucose als Glucose-6-phosphat vor. Beim Abbau von Glykogen entsteht, ohne dass Energie in Form von ATP aufgewendet werden muss, Glucose-1-phosphat. Die Phosphorylgruppe wird enzymatisch umgelagert, so dass zunächst Glucose-6-phosphat und anschliessend durch eine Isomerase Fructose-6-phosphat gebildet wird (12, 14). Der nächste Reaktionsschritt wäre eine weitere Phosphorylierung des Fructose-6-phosphates zu Fructose-1,6-bisphosphat. Hierfür wird ATP benötigt, das aber im Muskel bis zum Beginn des Rigor mortis vollständig verbraucht wurde, weshalb die Glykolyse an diesem Punkt abbrechen muss. Damit wäre das Vorkommen von Glucose-6-phosphat im Muskel zu erklären. Unklar ist allerdings die Herkunft der freien Glucose, die beim Abbau des Glykogens normalerweise nicht entstehen kann. Möglicherweise sind hierfür unspezifische Phosphatasen verantwortlich, da die spezifische Glucose-6-phosphatase zwar in der Leber, aber nicht in der Muskulatur vorkommt (14).

Die Glykogengehalte von frischem Fleisch werden von den einzelnen Autoren mit 1,0 bis 2,7 mg g<sup>-1</sup> angegeben. Der in dieser Untersuchung gefundene Wert von

$1,5 \text{ mg g}^{-1}$  liegt in diesem Bereich. Nach Gill (13) läuft die postmortale Glykolyse nicht bis zur vollständigen Erschöpfung von Glykogen im Muskel ab. Gill führt diese Beobachtung auf den Mangel an AMP zurück, das zu IMP abgebaut wird. AMP ist aber ein wichtiger Cofaktor für die Enzyme Phosphorylase und Phosphofructokinase, die die geschwindigkeitsbestimmenden Schritte der Glykolyse katalysieren. Zusätzlich wird durch die Akkumulierung des Glykolyse-Endproduktes L-Milchsäure der pH-Wert des Muskels abgesenkt, was zu einer Beeinträchtigung der Enzymaktivität führt (14).

Ausserdem ist der Glykogengehalt des Muskels vom Zustand des Tieres ante mortem abhängig, da die Glykogenreserven der Muskulatur bereits vor dem Tod durch erhöhte Aktivität und Stress aufgebraucht worden sein können, was auch zu einer verminderten Säuerung des Muskels post mortem und damit zu Fleischfehlern führen kann (15).

### *Glucose- und Glykogengehalte von Rindfleisch während der Lagerung*

Die in der Literatur vielfach zitierten Befunde von Gill (1), nach denen die auf der Oberfläche von frischem Fleisch vorhandenen Bakterien zunächst nur die in den Oberflächenschichten vorhandene Glucose metabolisieren und erst nach Erschöpfung der Kohlenhydratreserven andere gelöste niedermolekulare Stoffe wie Aminosäuren und Milchsäure abbauen, beruhen ausschliesslich auf den Ergebnissen von Modellversuchen mit beimpftem Fleischsaftmedium und Muskelstücken vom Schaf. In einem sogenannten verdünnten Fleischsaftmedium, einer durch Erhitzung deproteinisierten und filtrierten Lösung von zerkleinertem Schafffleisch in Phosphatpufferlösung, war nach Beimpfung mit  $5 \times 10^5 \text{ KBE Lactobacillus sp. ml}^{-1}$  und anaerober Bebrütung bei  $30^\circ\text{C}$  nach 12 h die vorhandene Glucose verbraucht und hörte die Vermehrung auf. Nach Beimpfung mit einem *Pseudomonas sp.*-Stamm mit  $3 \times 10^7 \text{ KBE ml}^{-1}$  und aerobe Bebrütung bei  $30^\circ\text{C}$  war die vorhandene Glucose bereits nach einer Stunde erschöpft. Allerdings war der Glucosegehalt des zehnfach verdünnten Mediums mit  $30 \mu\text{g ml}^{-1}$  sehr niedrig. Nach Verbrauch der Glucose stieg der Gehalt an Ammoniak stark an, um nach einer weiteren Stunde Bebrütung wieder abzufallen. Der Gehalt an Milchsäure des Fleischsaftmediums nahm ebenfalls kontinuierlich ab. Die Milchsäure war nach fünfstündiger Bebrütung nicht mehr nachweisbar. Aus diesen Versuchen schloss Gill (1), dass Pseudomonaden auf Fleisch zunächst die vorhandene Glucose aufbrauchen, bevor sie freie Aminosäuren und Milchsäure metabolisieren. Erst der Abbau der Aminosäuren führt zu erhöhter Ammoniabildung und damit zu sensorisch wahrnehmbaren Veränderungen.

Bei den Modellversuchen mit Fleisch wurden 3,5 cm lange Stücke aus dem M. longissimus dorsi vom Schaf mit zwischen  $10^3$  bis  $10^8 \text{ KBE ml}^{-1}$  konzentrierten Suspensionen von *Pseudomonas sp.* bzw. *Lactobacillus sp.* beimpft und bei  $10^\circ\text{C}$  2 Tage aerob bzw. 4 Tage anaerob bebrütet. Danach wurden aus den bebrüteten Fleischstücken kleine Zylinder mit einem Durchmesser von 1 cm gewonnen, von diesen sechs aufeinanderfolgende Schichten von etwa 1,5 mm Dicke abgeschnitten

und in jeder Schicht die Glucosegehalte mit der OXI-Methode sowie die Ammoniakkonzentration bestimmt. Mit steigenden Koloniezahlen nahmen die Glucosegehalte in der äussersten Oberflächenschicht und zunehmend auch in den tieferen Fleischschichten ab. Bei Koloniezahlen von  $2,8 \times 10^9$  KBE cm<sup>-2</sup> in der Oberflächenschicht nach zweitägiger Bebrütung bei 10 °C war in 1,5 mm Tiefe keine Glucose mehr, ein erhöhter Ammoniakgehalt aber nur in den obersten Oberflächenschichten nachweisbar. Ähnliche Gradienten der Glucosegehalte von der Oberfläche in die Tiefe des Fleischzylinders wurden auch nach Beimpfung mit *Lactobacillus sp.* und anaerober Bebrütung bestimmt. Mit diesen Modellversuchen sollten offenbar die Einwirkungen der während einer Lagerung zunehmenden Bakterienflora auf der Fleischoberfläche simuliert werden. Entsprechende Lagerversuche wurden aber nicht durchgeführt.

Gill (1) verallgemeinert die Ergebnisse dieser Versuche und schliesst daraus für den Verlauf des Verderbs, dass sensorisch wahrnehmbare Fehlgerüche erst nach Erschöpfung der Kohlenhydratreserven, d. h. zu Beginn des Aminosäureabbaus, auftreten. Damit würde die Lagerfähigkeit des Fleisches direkt von dessen Kohlenhydratgehalt abhängig sein.

Bisher liegen aber nur wenige Untersuchungen über die Veränderungen der Kohlenhydratgehalte im Laufe der Kühlagerung von Fleisch vor. Farber und Idziak (2) bestimmten in bei 4 °C gelagertem, normal verdorbenem Rindfleisch, das frisch 0,6 mg Glucose g<sup>-1</sup> Fleisch enthielt, bei Koloniezahlen von  $2,1 \times 10^9$  KBE cm<sup>-2</sup> noch 0,02 mg Glucose g<sup>-1</sup>. Sie verwendeten allerdings ebenfalls nur sehr kleine Fleischscheiben von 10 bis 14 g Gewicht, von denen für die Glucosebestimmungen Proben von 1 bis 2 g Gewicht abgeschnitten wurden.

Die hier mit der DH-Methode bestimmten Glucosegehalte schwankten verglichen mit den Ergebnissen der OXI-Methode stärker, was nicht auf die Methode zurückzuführen ist, da deren Reproduzierbarkeit mit ± 5% gut war. Bei den angegebenen Werten handelt es sich um die Mittelwerte aus drei Lagerreihen, d. h. um Untersuchungsergebnisse der Unterspälten dreier verschiedener Tiere. Es muss daher von erheblichen Unterschieden der untersuchten Muskeln ausgegangen werden, da die individuellen Glykogengehalte und damit wahrscheinlich auch die Glucosegehalte vom physiologischen Zustand des Tieres ante mortem bestimmt werden.

Zusätzlich ist offenbar damit zu rechnen, dass auch innerhalb ein und desselben Muskels in einigen Zentimetern Abstand Glucose und Glykogen ungleichmäßig verteilt sind. Die starken Streuungen der Ergebnisse um bis zu ± 40% im Verlauf der Lagerung, die bei jedem einzelnen Lagerversuch beim gleichen Muskel erhalten wurden, sind anders nicht zu erklären. Über die lokale Verteilung von Glucose und Glykogen in einem bestimmten Muskel sind bisher keine Untersuchungen bekannt.

Mit den vorliegenden Untersuchungen konnten die Ergebnisse von Gill (1) nicht bestätigt werden. Zu jedem Zeitpunkt der aeroben Lagerung der Rindfleischstücke bei 4 °C waren Glucose und auch Glykogen selbst noch nach 14 Lagertagen und damit in vollkommen verdorbenem Fleisch nachweisbar. Glucose kam nach 14 Tagen, d. h. 8 Tage nach Verderbsbeginn, noch in Mengen von 0,4 mg g<sup>-1</sup> Fleisch

vor, wobei dieser Wert mit der auch von *Gill* (1) verwendeten Oxidasemethode bestimmt wurde. Die mit der DH-Methode ermittelten Werte für Glucose zeigten keine Abnahme während der Lagerung. Da es sich um die Summe aus Glucose und Glucose-6-phosphat handelte, müsste auch hier eine leichte Abnahme der Werte zu verzeichnen sein, was aber praktisch nicht der Fall war. Nach *Gill* und *Newton* (16) sind Pseudomonaden nicht in der Lage Glucose-6-phosphat abzubauen, da offenbar kein Transportsystem für Glucose-6-phosphat wie bei *E.coli* vorhanden ist. Dies wurde auch von *Molin* und *Ternström* (17) bestätigt. Es besteht also die Möglichkeit, dass der Glucose-6-phosphatgehalt relativ konstant bleibt, weil die Bakterien diese Substanz nicht metabolisieren oder weil Glucose-6-phosphat durch weiteren enzymatischen Glykogenabbau ergänzt werden kann.

Im Gegensatz zu *Gill* (1) wurden in der vorliegenden Arbeit die Proben von der Oberfläche 0,5 cm dick abgeschnitten, eine Schnitttiefe, die relativ gut reproduzierbar eingehalten werden konnte. *Gill* dagegen hat teilweise nur 0,2 cm dicke Fleischscheiben von einer Oberfläche abgeschnitten, was technisch eher schwierig durchzuführen ist. Trotzdem hätte auch bei 0,5 cm dicken Fleischstücken, zumindest einige Zeit nach Verderbsbeginn, eine deutliche Abnahme der Glucosegehalte festgestellt werden müssen.

*Gill* (1) verwendete bei seinen Modellversuchen sehr kleine Stücke, deren Kohlenhydratgehalt insgesamt relativ gering war, so dass bei massivem Bakterienbewuchs durchaus die Möglichkeit bestand, die Glucose- und auch die Glykogenreserven zu erschöpfen. Das würde auch den von *Gill* (1) gefundenen ausgeprägten Glucosegradienten nach zweitägiger Einwirkung der aufgeimpften *Pseudomonas*-Suspension mit hohen Koloniezahlen (bis über  $10^9$  KBE  $\text{cm}^{-2}$ ) bei 10 °C erklären. In der vorliegenden Untersuchung wurden dagegen unbeimpfte 400 bis 500 g schwere Teilstücke verwendet, wie sie auch in Fleischereien vorrätig gehalten werden. In Stücken dieser Grösse konnten in keinem Fall, weder während der offenen Lagerung noch während der Lagerung in der Vakuumpackung, eine Erschöpfung der Glucosekonzentration an der Oberfläche oder im Fleischzentrum nachgewiesen werden. Die vorhandenen Mengen an Glucose im gesamten Stück waren offensichtlich so gross, dass genügend an die Fleischoberfläche und damit an die verbrauchenden Bakterien diffundieren konnten.

Konzentrationsprofile der Glucose während der aeroben Lagerung zeigten ein Gefälle von der oberen Oberfläche des Fleischstücks zur unteren Oberfläche, was für Glykogen nicht beobachtet wurde. Die obere Oberfläche lag teilweise schon bei der Lieferung des Muskels offen bzw. wurde durch das Entfernen der Muskelhäute mit den Schneidwerkzeugen und -brettern kontaminiert. Die untere Oberfläche entstand durch einen Schnitt, bei dem der Muskel längs in zwei Hälften geteilt wurde. In Vorversuchen wurde festgestellt, dass sich die Bakterienvermehrung auf solchen durch Schmierinfektion kontaminierten Oberflächen kaum unterschied von den bereits vorher offen liegenden Oberflächen, lediglich die Koloniezahlen waren im ersten Fall zu Beginn niedriger, stiegen aber etwas rascher an. Nach 4 bis 6 Tagen wurden gleich hohe Koloniezahlen erreicht. Daraus folgt, dass die Bakterienvermehrung auf beiden Oberflächen etwa gleich verläuft und damit auch der Glucoseverbrauch der Flora gleich sein müsste.

Die gleiche Besonderheit trat auch bei den Konzentrationsprofilen des vakuumverpackt gelagerten Fleisches auf. Da in diesem Fall das ganze Stück gleichmäßig von Fleischsaft umgeben war und damit die Bakterien gleichmäßig verteilt waren, sollte der Glucosegehalt an beiden Oberflächen ähnlich sein. Aber auch hier war der Glucosegehalt an der unteren Oberfläche niedriger und zusätzlich gleichzeitig der Glykogengehalt höher. Möglicherweise lassen sich diese Beobachtungen auf eine ungleichmäßige Verteilung des Glykogens und damit auch der Glucose innerhalb des Muskels zurückführen, worüber in der Literatur bisher nichts beschrieben ist. Da die untere Oberfläche ursprünglich jeweils im Muskelzentrum lag, könnte damit an den Muskelaussenseiten bereits mehr Glykogen zu Glucose bzw. Glucose-6-phosphat abgebaut worden sein.

Bei der Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch blieben die mit der OXI-Methode bestimmten Glucosewerte konstant und die mit der DH-Methode bestimmten wurden kleiner, d. h. nur die Gehalte an Glucose-6-phosphat nahmen ab. Ob Milchsäurebakterien in der Lage sind, extrazellulär vorliegendes Glucose-6-phosphat zu verwerten, ist bisher nicht bekannt. Milchsäurebakterien erreichen nicht so hohe Koloniezahlen wie die Pseudomonaden bei der aeroben Lagerung und verbrauchen dadurch wahrscheinlich weniger Glucose, so dass Glucose vom Zentrum an die Oberfläche diffundieren kann und dadurch keine Konzentrationsabnahme an der Oberfläche auftritt. Nach Gill (1) sind auf Fleisch die erreichbaren Koloniezahlen unter anaeroben Bedingungen von der Diffusion der metabolisierbaren Substanzen an die Oberfläche abhängig. In der vorliegenden Untersuchung konnte dies nicht bestätigt werden, da auch nach 26tägiger Lagerung von vakuumverpacktem Rindfleisch den Bakterien noch ausreichend Glucose an den Oberflächen zur Verfügung stand.

Bei den Glucose-Konzentrationsprofilen konnten zwischen dem 7. und 18. Lagertag nur geringfügige Unterschiede festgestellt werden.

Der Glykogengehalt des vakuumverpackten Rindfleisches sank anders als bei offen gelagertem Rindfleisch während der 26tägigen Lagerung etwas ab, was auch durch die Konzentrationsprofile am 7. und am 18. Lagertag bestätigt wurde, da die Gehalte des Profils am 18. Lagertag generell niedriger waren. Dieser Befund könnte mit der Verwertung von beim Glykogenabbau entstehendem Glucose-6-phosphat durch die Bakterien erklärt werden. Im Gegensatz dazu kann Glucose-6-phosphat von den Pseudomonaden während der aeroben Lagerung nicht abgebaut werden, weshalb bei dieser Lagerart der Glykogenabbau nicht erkennbar war.

### *L- und D-Milchsäuregehalte während der Kühl Lagerung von Rindfleisch*

#### *L-Milchsäuregehalte von frischem Rindfleisch*

L-Milchsäure akkumuliert im Muskel als Endprodukt der postmortalen Glykolyse. Gill (13) und Lawrie (12) gaben für Rindfleisch bzw. für einen typischen Säugetiermuskel nach dem Rigor mortis einen Milchsäuregehalt von  $9 \text{ mg g}^{-1}$  an, ohne nähere Angabe, ob es sich dabei um L-, D- oder Gesamt milchsäure handelte.

Dieser Wert wird in den vorliegenden Untersuchungen mit etwa 8,5 mg L-Milchsäure g<sup>-1</sup> in frischem Rindfleisch bestätigt. Nassos et al. (4, 18, 19) hatten in Rinderhackfleisch Gesamtmilchsäure mit Gehalten zwischen 4 und 7 mg g<sup>-1</sup> bestimmt. Diese etwas niedrigeren Werte waren möglicherweise durch die verwendete Methodik bedingt, da die Milchsäure nicht enzymatisch, sondern nach Derivatisierung mit Hilfe der Gaschromatographie bestimmt wurde.

D-Milchsäure ist ausschliesslich ein mikrobielles Stoffwechselprodukt und kommt daher in frischem Fleisch nicht vor.

### *L- und D-Milchsäuregehalte während der Lagerung*

Die geringfügige Abnahme der Gehalte an L-Milchsäure bei offen im Exsikkator bei 4 °C gelagertem Rindfleisch nach 8 Lagertagen dürfte auf die Aktivität der Pseudomonaden, die L-Milchsäure abbauen können, zurückzuführen sein (1). Dies wird durch die Konzentrationsprofile der L-Milchsäure quer durch Fleischstücke bestätigt. Nach 11 Lagertagen waren an den Oberflächen tendenziell etwas niedrigere L-Milchsäurekonzentrationen als im Fleischzentrum festzustellen. Die in der Verderbsflora relativ gering vertretenen Milchsäurebakterien konnten den L-Milchsäuregehalt an der Fleischoberfläche offenbar nicht erhöhen, da die vorhandenen weit höheren Koloniezahlen der Pseudomonaden L-Milchsäure schneller abgebaut haben dürften. Die Veränderungen waren aber zu wenig ausgeprägt und traten erst nach sensorisch erkennbarem Verderbsbeginn ein, so dass L-Milchsäure als Indikator für den Alterungsgrad von offen gelagertem Fleisch sicher nicht in Frage kommt.

D-Milchsäure, als Stoffwechselprodukt der Milchsäurebakterien, wurde erst nach 14 Lagertagen bei völlig verdorbenem Fleisch nachgewiesen und erlaubt damit keine Aussage über das Alter von offen gelagertem Fleisch.

Der geringfügige Abfall des L-Milchsäuregehaltes beim vakuumverpackten bei 4 °C gelagertem Rindfleisch deutet darauf hin, dass einerseits unter den Milchsäurebakterien keine starken L-Milchsäurebildner vertreten waren und andererseits ein gewisser Abbau an der Oberfläche stattfand. Die Konzentrationsprofile nach 7 und 18 Lagertagen zeigten wie bei offen gelagertem Fleisch nach längerer Lagerung etwas geringere L-Milchsäuregehalte an den Oberflächen als im Fleischzentrum. Insgesamt war nach 18 Tagen der Gehalt etwas niedriger, was darauf schliessen lässt, dass L-Milchsäure bis zu einem gewissen Grad auch im vakuumverpackten Fleisch abgebaut wird, entweder durch die nur in sehr geringer Zahl vorkommenden Pseudomonaden oder durch fleischeigene Enzyme.

Der Gehalt von D-Milchsäure in den Oberflächenschichten nahm vom 7. Lagertag und einer Gesamtkoloniezahl von knapp 10<sup>7</sup> KBE cm<sup>-2</sup> kontinuierlich zu. D-Milchsäure wird ausser von *Lactobacillus*- auch von *Leuconostoc*-Arten gebildet, die beide auch hier auf Fleisch gefunden wurden (8). Sie konnte erstmals am 7. Lagertag nachgewiesen werden. Der sensorisch erkennbare Verderb setzte aber erst am 14. Lagertag ein, so dass D-Milchsäure als Indikatorsubstanz für die Alterung von vakuumverpacktem Fleisch geeignet erscheint. Bei ihrem Nachweis hat das betroffene Fleischteil nur noch eine beschränkte Haltbarkeitsreserve. Ob

und inwieweit die Zusammensetzung der Milchsäurebakterienflora einen Einfluss auf den D-Milchsäuregehalt hat, bleibt abzuklären.

Konzentrationsprofile der D-Milchsäure quer durch Fleischstücke zeigten das typische Bild eines an den Fleischoberflächen gebildeten Stoffes, wie bereits bei Ammoniak und Blausäure beobachtet (8, 20).

Über ähnliche Ergebnisse berichteten *De Pablo* et al. (7) bei vakuumverpackt bei 4 °C gelagertem Schweinefleisch. Der D-Milchsäuregehalt stieg erstmals nach 10 Lagertagen und bei einer Gesamtkoloniezahl von etwa  $10^6$  KBE cm<sup>-2</sup> an. Nach 15 bis 20 Tagen wurden etwa 0,7 mg D-Milchsäure g<sup>-1</sup> erreicht. Während eines Versuchs konnten nach 33 Lagertagen 2,7 mg g<sup>-1</sup>, bei einem zweiten Versuch nach 33 Lagertagen dagegen nur 0,8 mg g<sup>-1</sup> nachgewiesen werden. *De Pablo* et al. (7) führen diese Unterschiede auf verschiedene Floren bei den beiden Experimenten zurück, hatten dazu allerdings keine weitere Untersuchung durchgeführt.

*Wiegner* (5) stellte bei vakuumverpackt und bei 2 °C gelagertem Rindfleisch nach etwa 2 bis 3 Wochen bei einer Gesamtkoloniezahl von  $10^7$  bis  $10^8$  KBE cm<sup>-2</sup> einen Anstieg der D-Milchsäurekonzentration fest. Bei DFD-Fleisch konnte ein Anstieg des D-Milchsäuregehaltes erst nach 7wöchiger Lagerung beobachtet werden, was auf die ebenfalls verzögerte Bakterienvermehrung bei dem kohlenhydratarmen DFD-Fleisch zurückzuführen ist. *Wiegner* (5) berichtet, dass D-Milchsäure die für eine Indikatorsubstanz erforderlichen Merkmale aufweist. Gleichzeitig wird aber betont, dass D-Milchsäure als alleiniges Kriterium zur Beurteilung des Frischezustandes von Fleisch nicht geeignet sei.

### Schlussfolgerung

Die Befunde von *Gill* (1) aus Modellversuchen bei Schafffleisch bezüglich bevorzugter Kohlenhydratverwertung vor Aminosäuren und Milchsäure war im Verlauf von drei Lagerversuchen mit grossen Rindfleischstücken nicht zu bestätigen. Trotz starker Schwankungen der Werte, wahrscheinlich infolge ungleichmässiger Verteilung der Kohlenhydrate im grossen Muskel und ihrer Abhängigkeit vom Zustand des Tieres vor der Schlachtung, konnten auch bei sensorisch und mikrobiologisch vollkommen verdorbenem Rindfleisch immer noch Kohlenhydrate nachgewiesen werden. Um detailliertere Informationen bezüglich der Verteilung der Kohlenhydrate in der Muskulatur zu erhalten, sind weitere umfangreiche Abklärungen notwendig.

### Zusammenfassung

Während der Lagerung von 400 bis 500 g schweren unverpackten und vakuumverpackten Rindfleischstücken bei 4 °C war nur teilweise eine geringe Abnahme der enzymatisch bestimmten Glucose- und Glykogenkonzentrationen in den 0,5 cm dicken Oberflächenschichten nachweisbar. Auch bei sensorisch eindeutig verdorbenem Fleisch waren die Kohlenhydratreserven noch nicht erschöpft. Bei offen gelagertem Fleisch nahm Glucose allein geringfügig ab, die Summe aus Glucose + Glucose-6-phosphat blieb annähernd unverändert.

Bei vakuumverpacktem Fleisch erfolgte ein stärkerer Abbau von Glykogen und Glucose-6-phosphat. Diese Unterschiede sind auf die unterschiedlichen Bakterienfloren bei den beiden Lagerarten zurückzuführen. Die Gehalte an L-Milchsäure in den Oberflächenschichten der Fleischstücke veränderten sich während der Lagerung bei beiden Lagerarten praktisch nicht. D-Milchsäure war bei offen im Exsikkator gelagertem Fleisch erst nach 14 Lagertagen nachweisbar, bei vakuumverpacktem Fleisch schon nach 7 Tagen und damit 7 Tage vor sensorisch festgestelltem Verderbsbeginn. Der Gehalt an D-Milchsäure ist damit geeignet, die Haltbarkeitsreserve von kühlgelagertem vakuumverpacktem Rindfleisch abzuschätzen.

### Résumé

Des morceaux de viande de boeuf de 400 à 500 g, non emballés ou emballés sous vide, ont été stockés à 4 °C. Une diminution minime des concentrations en glucose et glycogène déterminées enzymatiquement n'a été constatée que partiellement dans les couches supérieures d'une épaisseur de 0,5 cm. Il y avait encore présence de réserves en hydrates de carbone même dans une viande manifestement détériorée à l'examen organoleptique. La teneur en glucose de viande stockée sans emballage a diminué légèrement tandis que la somme des teneurs en glucose et glucose-6-phosphate est pratiquement restée constante. La dégradation de glycogène et de glucose-6-phosphate était plus avancée dans la viande emballée sous vide. Ces résultats étaient dues au flores bactériennes, différentes selon la méthode d'emballage utilisée. Les teneurs en acide L-lactique dans les couches supérieures des morceaux de viande, emballée ou non, n'ont pratiquement pas changé. L'acide D-lactique dans la viande non emballée et gardée dans l'exciseur était décelable seulement après 14 jours de stockage. Pour la viande emballée sous vide, cela était le cas après 7 jours, donc 7 jours avant le début de l'altération constaté à l'examen organoleptique. Par conséquent, la teneur en acide D-lactique est un indicateur convenable pour estimer la qualité de conservation, voire fraîcheur d'une viande de boeuf emballée sous vide et entreposée au réfrigérateur.

### Summary

400–500 g pieces of unpackaged or vacuum-packaged beef were stored at 4 °C. Only in some cases a slight decrease in the enzymatically determined concentrations of glucose and glycogen could be observed in the surface layers. Even in sensorically clearly spoiled meat the reserves of carbohydrates were not yet depleted. In aerobically stored beef only glucose decreased but the sum of glucose and glucose-6-phosphate remained nearly constant. The degradation of glycogen and glucose-6-phosphate was more advanced in vacuum-packaged beef. These differences were due to the different bacterial floras of the two packaging conditions. The content of L-lactic acid in the surface layers of the unpackaged or vacuum-packaged meat pieces hardly changed during storage. In aerobically stored beef D-lactic acid could be detected only after 14 days of storage. In vacuum-packaged beef D-lactic acid could be detected already after 7 days of storage and therewith 7 days before the sensorically detectable beginning of spoilage. Thus the content of D-lactic acid is a suitable indicator for estimating the freshness of refrigerated vacuum-packaged stored beef.

## Literatur

1. Gill, C.O.: Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. *J. Appl. Bacteriol.* **41**, 401–410 (1976).
2. Farber, J.M. and Idziak, E.S.: Detection of glucose oxidation products in chilled fresh beef undergoing spoilage. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**, 521–524 (1982).
3. Keller-König, B.: Veränderungen der Gehalte an Glucose, Milchsäure, Lipiden und Carbonylverbindungen beim mikrobiellen Verderb von kühlgelagertem Schlachtgeflügel. Diss. ETH Nr. 8406, Zürich, 1987.
4. Nassos, P.S., King jr., A.D. and Stafford, A.E.: Lactic acid concentration as an indicator of acceptability in refrigerated or freeze-thawed ground beef. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 822–823 (1988).
5. Wiegner, J.: Sensorische Analyse, mikrobiologischer Befund und D(-)-Lactat-Konzentration als Parameter zur Frischecharakterisierung von vakuumverpacktem Rindfleisch. Dissertation des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität, Berlin 1985.
6. Schneider, W., Hildebrandt, G. und Sinell, H.-J.: D(-)-Lactat-Konzentration als Parameter für die Bewertung des Frischezustandes vorverpackter hitzebehandelter Fleischergebnisse. *Fleischwirtsch.* **63**, 1198–1205 (1983).
7. De Pablo, B., Asensio, M.A., Sanz, B. and Ordóñez, J.A.: The D(-)-lactic acid and acetoin/diacetyl as potential indicators of the microbial quality of vacuum-packed pork and meat products. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 185–190 (1989).
8. Meyns, S. und Schmidt-Lorenz, W.: Mikrobieller Verderb von kühlgelagertem Rindfleisch und Ammoniabildung. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **83**, 71–95 (1992).
9. Boehringer: Methoden der biochemischen Analytik und Lebensmittelanalytik. Firma Boehringer, Mannheim 1987.
10. Nuss, J.I. and Wolfe, F.H.: Effect of post-mortem storage temperatures on isometric tension, pH, ATP, glycogen and glucose-6-phosphate for selected bovine muscles. *Meat Sci.* **5**, 201–213 (1981).
11. Mercier, G.P., Schmitt, R.E. und Schmidt-Lorenz, W.: Untersuchungen über die Reifung von Bündnerfleisch. *Fleischwirtsch.* **69**, 1593–1598 (1989).
12. Lawrie, R.A.: Meat science, 4th edition, Pergamon Press, Oxford 1985.
13. Gill, C.O.: Microbial interaction with meats. In: Brown, M.H. (ed.), *Meat microbiology*. Applied Science Publishers, London 1982.
14. Stryer, L.: Biochemie. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg 1990.
15. Newton, K.G. and Gill, C.O.: Storage quality of dark, firm, dry meat. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**, 375–376 (1978).
16. Gill, C.O. and Newton, K.G.: The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* **43**, 189–195 (1977).
17. Molin, G. and Ternström, A.: Phenotypically based taxonomy of psychrotrophic *Pseudomonas* isolated from spoiled meat, water, and soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **36**, 257–274 (1986).
18. Nassos, P.S., King jr., A.D. and Stafford, A.E.: Relationship between lactic acid concentration and bacterial spoilage in ground beef. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**, 894–900 (1983).
19. Nassos, P.S., King jr., A.D. and Stafford, A.E.: Lactic acid concentration and microbial spoilage in anaerobically and aerobically stored ground beef. *J. Food Sci.* **50**, 710–712, 715 (1985).

20. Meyns S. und Schmidt-Lorenz, W.: Mikrobielle Bildung von Blausäure beim Verderb von kühlgelagertem Rindfleisch. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **83**, 103–120 (1992).
21. Fischer, K. und Augustini, C.: Stadien der postmortalen Glykogenolyse bei unterschiedlichen pH<sub>1</sub>-Werten in Schweinefleisch. Fleischwirtsch. **57**, 1191–1194 (1977).

Dr. Silke Meyns  
Eidg. Anstalt für Wasserversorgung,  
Abwasserreinigung und Gewässerschutz  
Abteilung Limnologie  
Überlandstrasse 133  
CH-8600 Dübendorf