Tierärztliche Hochschule Hannover

Untersuchungen zum Einfluss etherischer Öle in SB-Verpackungen mit Schutzatmosphäre auf die Qualität von Brühwurst

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung des Grades

einer Doktorin der Veterinärmedizin

-Doctor medicinae veterinariae-

(Dr. med. vet.)

vorgelegt von

Cristiana Soares da Silva

Hessisch Oldendorf

Hannover 2011

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. Günter Klein

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Institut für Lebensmittelqualität und –sicherheit

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Günter Klein
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Josef Kamphues

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.2011

Meiner Familie

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden an folgender Stelle veröffentlicht:

C. Soares da Silva, B. Nowak, G.Klein (2009):
Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit von etherischen Ölen (in vitro) auf die Verderbnisflora von Brühwurstprodukten.
In: 50. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ der DVG e.V., Garmisch-Partenkirchen 29.09. bis 02.10.2009, Sonderausgabe Amtstierärztlicher Dienst

C. Soares da Silva, G.Klein (2010):
Verbraucherakzeptanz und mikrobiologische Qualität von mit etherischen Ölen behandeltem Brühwurstaufschnitt
In: 51. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene“ der DVG e.V., Garmisch-Partenkirchen 28.09. bis 01.10.2010, Sonderausgabe Amtstierärztlicher Dienst

Inhaltsverzeichnis

Seite

Inhaltsverzeichnis ..... **V**

Abbildungsverzeichnis ..... **IX**

Tabellenverzeichnis ..... **XII**

Abkürzungsverzeichnis ..... **XIV**

1 Einleitung **17**

2 Schrifttum **19**

2.1 Verderbniskeime in Brühwurst 19

2.1.1 Brochothrix thermosphacta 19

2.1.2 Pseudomonas fragi 20

2.1.3 Lactobacillus sakei 21

2.2 Brühwurst, Typ Mortadella 23

2.2.1 Rechtliche Grundlagen und Begriffsdefinitionen 23

2.2.2 Phosphat als Kutterhilfsmittel 24

2.2.3 Umrötung der Brühwurst durch Nitritpökelsalz 24

2.2.4 Farbe 26

2.2.5 Haltbarkeit der Brühwurst 28

2.2.6 Kontamination von Brühwurst/-aufschnitt 28

2.3 Einflüsse der verschiedenen Schutzgase in MAP (modified atmosphere packaging) 30

2.3.1 Stickstoff 30

2.3.2 Kohlendioxid 31

2.3.3 Sauerstoff 32

2.3.4 Kohlenmonoxid 33

2.4 Etherische Öle 33

2.4.1 Definition 36

2.4.2 Mechanismen 37

2.4.3 Nutzung in Lebensmitteln ... 40
2.4.4 Etherische Öle und MAP eingesetzt in Lebensmitteln ... 41
2.4.5 Muskatöl ... 45
2.4.6 Nelkenöl ... 47

3 Eigene Untersuchungen ... 49

3.1 Material-Vorversuche ... 49
3.1.1 Bakterienstämme ... 49
3.1.2 Etherische Öle ... 49

3.2 Material-Hauptversuche ... 49
3.2.1 Wurst ... 49

3.3 Methoden-Vorversuche ... 49
3.3.1 Anzucht und Aufbewahrung der Bakterienstämme ... 49
3.3.2 Herstellung von Lösungen der Öle ... 50
3.3.3 Vorbereitung der Keimsuspension ... 51
3.3.4 Belegung der Mikrotiterplatten ... 51
3.3.5 Ermittlung der Ausangskeimzahl ... 55

3.4 Methoden Hauptversuche ... 55
3.4.1 Herstellung der Wurst ... 55
3.4.2 Verpacken der Wurstscheiben gemeinsam mit etherischem Öl ... 56
3.4.3 Lagerung der Wurstscheiben ... 56
3.4.4 Mikrobiologische Untersuchungen ... 57
3.4.4.1 Aerobe mesophile GKZ ... 57
3.4.4.2 *Brochothrix thermosphacta* ... 58
3.4.4.3 *Lactobacillus sakei* ... 58
3.4.4.4 *Pseudomonas fragi* ... 58
3.4.5 Physikalische Untersuchungen ... 59
3.4.5.1 pH ... 59
3.4.5.2 L*a*b ... 59
3.4.5.3 a_W-Wert ... 60

3.4.6 Chemische Untersuchungen ... 60
3.4.7 Sensorische Untersuchungen ... 61
3.4.8 Statistische Auswertung ... 61

4 Ergebnisse ... 63

4.1 Vorversuche ... 63
4.1.1 Brochothrix thermosphacta ... 63
4.1.2 Lactobacillus sakei ... 66
4.1.3 Pseudomonas fragi ... 67

4.2 Hauptversuche - Lagerungsversuche ... 72
4.2.1 Mikrobiologische Untersuchungen ... 72
4.2.1.1 Brochothrix thermosphacta ... 72
4.2.1.2 Lactobacillus sakei ... 79
4.2.1.3 Pseudomonas fragi ... 84
4.2.1.4 Aerobe Gesamtkeimzahl ... 87
4.2.2 Physikalische Untersuchungen ... 93
4.2.2.1 pH-Wert ... 93
4.2.2.2 L*a*b*-Farbmessung ... 95
4.2.2.3 a_W-Wert ... 100
4.2.3 Chemische Untersuchungen ... 101
4.2.4 Sensorische Untersuchungen ... 101
4.2.4.1 Geruch ... 101
4.2.4.2 Geschmack ... 103

5 Diskussion ... 106

5.1 Diskussion von Material und Methoden ... 106
5.1.1 Bakterienstämme ... 106
5.1.2 Etherische Öle ... 107
5.1.3 Stammlösungen ... 107
5.1.4 Brühwurstherstellung und Lagerung ... 108

5.2 Diskussion der Ergebnisse ... 109

5.2.1 Vorversuche 109
5.2.1.1 Muskatöl 109
5.2.1.2 Nelkenöl 111
5.2.2 Hauptversuche 115
5.2.2.1 *Brochothrix thermosphacta* 115
5.2.2.2 *Lactobacillus sakei* 119
5.2.2.3 *Pseudomonas fragi* 122
5.2.2.4 aerobe mesophile Gesamtkeimzahl 126
5.2.2.5 Sensorik 129
5.2.2.6 Ausblick auf die Nutzung etherischer Öle in Lebensmitteln 133

6 Schlussfolgerungen 136

7 Zusammenfassung 138

8 Summary 141

9 Literaturverzeichnis 144

10 Gesetze und Normen 171

11 Anhang 172

11.1 Medien, Geräte und Verbrauchsmaterialien 172
11.2 Tabellenanhang 177

Danksagung 214

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Ablaufes der Umrötung (BRAUER 2004) 25
Abbildung 2: Koordinatenachsen des CIELAB-Systems (KLETTNER u. STIEBING 1980a) 27
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Plattenbelegung 53
Abbildung 4: Belegung der Mikrotiterplatten im Detail 54
Abbildung 5: Wachstum von *Brochothrix thermosphacta* bei den verschiedenen Behandlungen, gemittelt über alle Chargen (n=6) 65
Abbildung 6: Wachstum von *Lactobacillus sakei* bei den verschiedenen Behandlungen, gemittelt über alle Chargen (n=6) 67
Abbildung 7: Wachstum von *Pseudomonas fragi* bei den verschiedenen Behandlungen, gemittelt über alle Chargen (n=6) 69
Abbildung 8: Wachstum und Reduktion von *Brochothrix thermosphacta* unter dem Einfluss der verschiedenen Behandlungsvarianten gemittelt über alle Chargen (n=6) 70
Abbildung 9: Wachstum und Reduktion von *Lactobacillus sakei* unter dem Einfluss der verschiedenen Behandlungsvarianten gemittelt über alle Chargen (n=6) 71
Abbildung 10: Wachstum und Reduktion von *Pseudomonas fragi* unter dem Einfluss der verschiedenen Behandlungsvarianten gemittelt über alle Chargen (n=6) 71
Abbildung 11: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 2 76
Abbildung 12: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 5 76
Abbildung 13: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 7 77
Abbildung 14: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 10 77

Abbildung 15: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 14 78
Abbildung 16: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 21 78
Abbildung 17: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 7 82
Abbildung 18: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 10 82
Abbildung 19: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 14 83
Abbildung 20: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 21 83
Abbildung 21: Verhalten von *Pseudomonas fragi* am Untersuchungstag 7.....86
Abbildung 22: Verhalten von *Pseudomonas fragi* am Untersuchungstag 21.....86
Abbildung 23: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 2 90
Abbildung 24: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 5 90
Abbildung 25: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 7 91
Abbildung 26: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 10 91
Abbildung 27: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 14 92
Abbildung 28: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 21 92
Abbildung 29: Verlauf des pH-Wertes der Wurstscheiben aus den Chargen (Versuchsdurchgängen) 1 bis 3 über den Lagerungsverlauf, dargestellt als Mittelwert ±SD (n=3).....95
Abbildung 30: Helligkeitswerte (L*-Wert) der Wurstscheiben aus den Chargen (Versuchsdurchgängen) 1 bis 3 über den Zeitraum von 15 Tagen, pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht.....96

Abbildung 31: Rotwerte (a*-Wert) der Wurstscheiben aus den Chargen 1 bis 3 über den Zeitraum von 15 Tagen, pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht 98

Abbildung 32: Gelbwerte (b*-Wert) der Wurstscheiben aus den Chargen (Versuchdurchgängen) 1 bis 3 über den Zeitraum von 15 Tagen, pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht 99

Abbildung 33: Verlauf des a_w-Wertes der Wurstscheiben der Chargen (Versuchsdurchgängen) 1 bis 3 über den Lagerungszeitraum; pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht.....100

Abbildung 34: Ergebnisse der sensorischen Untersuchung für das Merkmal Geruch, gemittelt über alle Chargen (n = 9); Pfeil: statistisch signifikante Unterschiede (TUKEY-Test $p < 0,05$).....103

Abbildung 35: Ergebnisse der sensorischen Untersuchung für das Merkmal Geschmack, gemittelt über alle Chargen (n = 9); Pfeil: statistisch signifikante Unterschiede (TUKEY-Test $p < 0,05$) ...105

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Oxidationszustand des Eisens im Myoglobinmolekül und die dazu gehörige Farbe (BRAUER 2004) 26

Tabelle 2: Zusammenhang zwischen der Behandlung und dem Erreichen der festgelegten Höchstgrenze für die aerobe Gesamtkeimzahl und die Verlängerung der Haltbarkeit in Tagen 44

Tabelle 3: Effekt der Behandlungen auf das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus sakei* und *Pseudomonas fragi* gemessen an Tag 9 der Lagerung 45

Tabelle 4: Darstellung der Untersuchungsverfahren im Rahmen der chemischen Vollanalyse und der Stelle in der amtlichen Sammlung, an dem das jeweilige Verfahren festgehalten ist 61

Tabelle 5: Keimzahlen von *Brochothrix thermosphacta* während der Lagerung unter dem Einfluss etherischer Öle der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze 75

Tabelle 6: Keimzahlen von *Lactobacillus sakei* während der Lagerung unter dem Einfluss etherischer Öle der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze.....81

Tabelle 7: Keimzahlen von *Pseudomonas fragi* während der Lagerung unter dem Einfluss etherischer Öle der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze.....85

Tabelle 8: Keimzahlen der aeroben Gesamtkeimzahl während der Lagerung unter Einfluss von etherischen Ölen der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit

Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze 89
Tabelle 9: Ergebnisse der chemischen Vollanalyse an Tag 0 der Chargen (Versuchdurchgängen) 1 bis 3, pro Charge wurden zwei Messungen durchgeführt 101
Tabelle 10: Ergebnisse der mikrobiologischen Vorversuche für *Pseudomonas fragi* 177
Tabelle 11: Ergebnisse der mikrobiologischen Vorversuche für *Lactobacillus sakei* 180
Tabelle 12: Ergebnisse der mikrobiologischen Vorversuche für *Brochothrix thermopshacta* 183
Tabelle 12: Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche aus Charge 1 186
Tabelle 13: Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche aus Charge 2 189
Tabelle 14: Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche aus Charge 3 193
Tabelle 15: Ergebnisse der pH Werte als MW (n=3), alle Versuchschargen 197
Tabelle 16: Ergebnisse des a_W-Wertes der Brühwurst als Mittelwerte (n=3), alle Versuchschargen 201
Tabelle 17: L*-Wert (Helligkeit) als Mittelwert (n=3), alle Versuchschargen 203
Tabelle 18: a*-Wert (Rotwert) als Mittelwert (n=3), alle Versuchschargen 205
Tabelle 19: b*-Wert (Gelbwert) als Mittelwert (n=3), alle Versuchschargen 207
Tabelle 20: Ergebnisse der Sensorik für das Merkmal Geschmack (n=10), alle Versuchschargen 209
Tabelle 21: Ergebnisse der Sensorik für das Merkmal Geruch (n=10), alle Versuchschargen 211
Tabelle 22: Ergebnisse über positiven Kaufentscheid der Prüfer zu jedem Produkt in %; alle Versuchschargen 213

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua destillata
Art.	Artikel
BEFFE	bindegewebsfreies Fleischeiweiß
BEFFE/FE	bindegewebsfreies Fleischeiweiß im Fleischeiweiß
BGBl	Bundesgesetzblatt
BHI-Bouillon	Brain Heart Bouillon (Hirn-Herz-Glucose-Bouillon)
BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
Br. thermosphacta	*Brochothrix thermosphacta*
bzw.	beziehungsweise
CIE	Commission International de l`Eclairage
d	Tage
DIN EN ISO	Deutsches Institut für Normung Europäische Normung Standards Organisation
EG	Europäische Gemeinschaft
et al.	et alii (und andere)
evtl.	eventuell
GKZ	Gesamtkeimzahl
HP	Hydroxiprolin
incl.	inklusive
KbE	Kolonie bildende Einheiten
LFGB	Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch

lg	$\log_{10}$ KbE/g oder $\log_{10}$ KbE/ml
LM	Lebensmittel
LmB	Deutsches Lebensmittelbuch
log	Logarithmus
L. sakei	*Lactobacillus sakei*
MAP	modified atmosphere packaging
MW	arithmetischer Mittelwert
n	Anzahl der Proben
NPS	Nitritpökelsalz
ONF	organisches Nichtfett
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
pH	Wasserstoffionenkonzentration
P. fragi	*Pseudomonas fragi*
s.	siehe
SD	Standardabweichung
subsp.	Subspezies
Tab.	Tabelle
TS	Trockensubstanz
ZZulVO	Zusatzstoff-Zulassungs-Verordnung
§	Paragraph

1 Einleitung

Der Handel und nicht zuletzt der Verbraucher, verlangen von Lebensmitteln bei der heutigen weiträumigen Distribution, insbesondere von Fleischprodukten eine lange Haltbarkeit unter Einhaltung einer möglichst guten Produktqualität. Verpackte Brühwurst wird jedoch häufig am Ende des deklarierten Mindesthaltbarkeitsdatums beanstandet. Hohe Keimzahlen in der Brühwurst und der damit verbundene schnelle Verderb führen zu einer negativen Einschätzung des Produktes seitens des Verbrauchers und damit zu nicht unerheblichen wirtschaftlichen Verlusten. Außerdem steht der Verbraucher synthetischen Konservierungsstoffen, aufgrund ihrer potentiell karzinogenen oder teratogenen Eigenschaften zunehmend kritischer gegenüber, weshalb der Druck auf die Industrie, eine akzeptable Alternative zu finden, wächst. Diese Alternative können etherische Öle darstellen.

Gewürze und ihre etherischen Öle werden bereits seit Jahrhunderten dazu genutzt, Lebensmittel zu aromatisieren, den Appetit anzuregen und die Verdauung zu fördern. Des Weiteren ist eine antimikrobielle Wirksamkeit der Öle bekannt. Sie werden aufgrund dieser Fähigkeiten vom Verbraucher als pflanzliche und damit natürlichere Alternative zu den bisherigen Konservierungsstoffen positiv gesehen.

Für eine Kombination aus dem Zusatz etherischer Öle und Lagerung unter einer modifizierten Schutzgasatmosphäre als Hürde gegen den mikrobiellen Verderb von Brühwurst, fehlen jedoch hinreichende wissenschaftliche Erkenntnisse.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll die Hemmung des Wachstums und der Vermehrung typischer Verderbniserreger von Brühwurstprodukten durch Einsatz etherischer Öle und einer modifizierten Atmosphäre untersucht werden.

Dazu werden zwei etherische Öle (Muskat- und Nelkenöl) als auch ihre Kombination in verschiedenen Konzentrationen mittels Bouillonmikrodilution in vitro untersucht. Ihr schließt sich ein Tropfplattenverfahren an. Da es sich bei etherischen Ölen um sehr geschmacks- und geruchsintensive Substanzen handelt, ist der Einsatz von Ölen, die in Form von Gewürzen bereits einen Teil der herkömmlichen Brühwurstrezeptur darstellen, sinnvoll, da das Produkt seine sensorischen Eigenschaften und damit die

Verbrauchererwartungen nicht einbüßen soll, indem es nicht mehr so schmeckt oder riecht, wie der Verbraucher es gewohnt ist bzw. er es vorzieht.
Die Ergebnisse aus den in vitro-Versuchen sollen anschließend dazu genutzt werden, die Wirksamkeit der Öle im Endprodukt Wurst unter möglichst praxisnahen Bedingungen zu untersuchen.
Die Ergebnisse sollen einen Beitrag zu der Frage eines möglichen Einflusses verschiedener Konzentrationen etherischer Öle auf das Wachstum von Verderbniserregern in schutzgasverpackter Brühwurst liefern.

2 Schrifttum

2.1 Verderbniskeime in Brühwurst

2.1.1 Brochothrix thermosphacta

B. thermosphacta ist ein Gram-positives, nicht sporulierendes, Katalase positives, unbewegliches Bakterium (HOLZAPFEL 2004). Es ist hitzeempfindlich und wächst nicht mehr bei 37°C (SKOVGAARD 1985), allerdings wurde ein Wachstum auch bei 0 bis 10°C beobachtet (BRAUN u. SUTHERLAND 2004). Zusätzlich ist es fakultativ anaerob und verändert seine Morphologie mit der Zeit von kokkenförmigen kurzen Stäbchen zu langen Ketten (RATTANASOMBOON et al. 1999).

B. thermosphacta gilt als potenter Verderbniserreger in Fleisch und Fleischprodukten (DAINTY u. MACKEY 1992) und ist sogar fähig, sie schneller zu verderben als Laktobazillen (STANLEY et al. 1981). In modifizierter Atmosphäre oder in Vakuum kann er zum dominierenden Keim werden (HUIS IN´T VELD 1996; BRAUN u. SUTHERLAND 2004; ZHOU et al. 2009). Unter anaeroben Bedingungen bei gleichzeitiger Anwesenheit von wenig Glucose bildet *B. thermosphacta* vermehrt L-(+)-Laktat und Ethanol. Ist viel Glucose unter den gleichen anaeroben Bedingungen vorhanden entstehen Laktat, Acetat, Formiat und Ethanol. Aerob nutzt das Bakterium Glycerol als Energiequelle (GRAU 1983; HOLZAPFEL 2004). Bevorzugtes Substrat von *B. thermosphacta* ist Zucker (GILL u. NEWTON 1982). Wenn viel CO_2 vorhanden ist, bleibt der Zucker-Stoffwechsel anaerob, auch wenn Sauerstoff vorhanden ist (PIN et al. 2002). Eine Atmosphäre bestehend aus Stickstoff und Kohlenstoffdioxid zu gleichen Teilen begrenzt das Wachstum (BORCH et al. 1996).

Der Keim wächst selbst bei hohem pH-Wert (BORCH et al. 1996), aerob wächst *Brochothrix thermosphacta* sogar noch bei pH 5,5 in Fleischextrakt. Unter anaeroben Bedingungen wächst dieser Keim zwar noch bei einem pH von 5,9, nicht mehr aber bei 5,5 (GRAU 1983) oder gar bei einem Wert von 5,3 (BLICKSTAD 1983).

2.1.2 Pseudomonas fragi

Pseudomonas fragi ist ein Gram-negatives, polar begeißeltes Kurzstäbchen. Des Weiteren ist es obligat aerob und Katalase-, Lipase- und Oxidase-positiv. *Pseudomonas fragi* gehört zu den psychrotrophen Bakterien. Anders als andere Pseudomonaden ist es nicht fluoreszierend, das heißt, es bildet keine Farbstoffe (LABADIE 1999). Es kommt ubiquitär vor, daher findet man es in eiweißreichen gekühlten Lebensmitteln wie Fleisch, Fleischerzeugnissen und Fisch (TRYFINOPOULOU et al. 2002; ERCOLINI et al. 2006), aber auch in Salaten, Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser (LEBERT et al. 1998; HOLZAPFEL 2004).

Unter aeroben Bedingungen wird *Pseudomonas fragi* häufig als der dominante Keim in Fleisch und Fleischprodukten, die kühl gelagert werden, ausgemacht (DROSINOS u. BOARD 1995; NEUMEYER et al. 1997; SUNDHEIM et al. 1998; HO et al. 2003). Unter Schutzgasatmosphäre mit Sauerstoff kann der Keim ebenfalls wachsen (METAXOPOULOS et al. 2002). Wachstum von *Pseudomonas fragi* wurde bei Temperaturen zwischen 0°C und 35°C beobachtet. Ein Temperaturoptimum liegt zwischen 28°C und 30°C. Die höchste hydrolytische Aktivität wurde festgestellt bei 24°C, die maximale Esterproduktion bei 15°C (HEBRAUD et al. 1994; MICHEL et al. 1996; FONCHY et al. 1999). Zu Beginn der Schlachtung sind es eher andere Pseudomonaden, wie *Pseudomonas fluorescens*, die überwiegen, während der Kühllagerung steigt die Zahl von *Pseudomonas fragi* allerdings an, so dass im weiteren Verlauf *Pseudomonas fragi* zum vorherrschenden Keim wird (LEBERT et al. 1998). Es wurde festgestellt, dass *Pseudomonas fragi* bei Kühltemperaturen schneller wächst als andere *Pseudomonas* spp., was an der kürzeren lag-Phase liegt (LEBERT et al. 1998; LABADIE 1999; RATTANASOMBOON et al. 1999).

Pseudomonas fragi ist fähig, verschiedene Eisenquellen für sein Wachstum zu nutzen. Sein Eisenbedarf ist doppelt so hoch wie beispielsweise der des pathogenen *Pseudomonas aeruginosa*, außerdem ist er in der Lage, Exoproteasen zu bilden. Beides sind wichtige Mechanismen beim Verderb von Fleischprodukten (LABADIE 1999). In Abwesenheit exogener Vitamine kann *Pseudomonas fragi* wachsen und sich vermehren, wenn dem Keim organische Kohlenstoffverbindungen und anorganische Stickstoffverbindungen zur Verfügung stehen (PEREIRA u. MORGAN 1957).

Zuerst wird Nicht-Protein-Stickstoff metabolisiert, anschließend setzt die Produktion von Lipasen und Proteasen ein, die Fett- und Aminosäuren freisetzen und metabolisieren (HUIS IN´T VELD 1996). Dieses verursacht den für den Verderb durch *Pseudomonas fragi* charakteristischen fruchtig-fauligen Geruch aufgrund der Bildung von Ethylestern und schwefelhaltigen Verbindungen (LEBERT et al. 2007; ERCOLINI et al. 2009). Des Weiteren bildet sich eine Schleimschicht, der sogenannte Biofilm. Dieser bietet eine mechanische Stabilität und einen ausgezeichneten Schutz. Er ermöglicht es den Mikroorganismen sich auf veränderte Umweltbedingungen einzustellen. So steigt die Toleranz gegenüber extremen pH- und Temperatur-Schwankungen, Schadstoffen, aber auch UV- und Röntgenstrahlung sowie Nahrungsmangel.

2.1.3 Lactobacillus sakei

Der Name von *Lactobacillus sakei* leitet sich vom japanischen Reiswein ab, aus dem er erstmals isoliert wurde (CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001). Es handelt sich bei dem Keim um Gram-positive, Koagulase negative (RANTSIOU et al. 2005), kurze bis kokkoide, leicht gekrümmte Stäbchen. Sie kommen einzeln, in Paaren und als kurze Ketten vor. Des Weiteren zählen sie zu den besonders psychrotrophen Laktobazillen (CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001), was es ihnen möglich macht, noch bei Temperaturen von 2°C bis 4°C zu wachsen. Sie sind heterofermentativ und aerotolerant (CHAMPOMIER-VERGES et al. 2002; HOLZAPFEL 2004; MAYO et al. 2008). *Lactobacillus sakei* gehört zur am stärksten vertretenen Gruppe von Verderbniserregern in Vakuum oder MAP verpackten Fleischprodukten, so auch in Mortadella, die bei Kühltemperaturen gelagert wird (SAMELIS et al. 2000; ERCOLINI et al. 2006). Die Kombination aus mikroaeroben Bedingungen, einer Lagerung um 4°C und die Zugabe von Salzen begünstigen das Wachstum psychrotropher Laktobazillen (LABADIE 1999; METAXOPOULOS et al. 2002), welche noch bei niedrigen pH-Werten von 5 bis 6 wachsen (BORCH et al. 1996; HUGAS et al. 1998; METAXOPOULOS et al. 2002). Man findet sie außerdem in Silage, Sauerkraut oder Sauerteig. In Europa gehört *Lactobacillus sakei* zu den gängigen Starterkulturen in Rohwurst und verschiedenen Milchprodukten, dennoch ist dieser Keim vielfach als dominanter Bestandteil der Verderbnisflora von kühl gelagertem Fleisch und Fleischprodukten unter Vakuum oder Schutzgas identifiziert worden (BORCH et al. 1996; HUIS IN´T VELD 1996;

KRÖCKEL 2006). Er ist fähig, verschiedene Bakteriocine, darunter das Sakacin A, Sakacin P, Sakacin K und Lactocin S zu bilden (HUGAS et al. 1998; CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001; LEROY et al. 2005). Dabei handelt es sich um ribosomal synthetisierte antimikrobiell wirksame Peptide, die nachweislich in der Lage sind, Lebensmittelvergifter, wie *Listeria monocytogenes* (KRÖCKEL 2006) und *E. coli* (PAPATHOMOPOULOU u. KOTZEKIDOU 2009) zu hemmen. Die Produktion der Bacteriocine erfolgt bei Temperaturen zwischen 4°C und 30°C. Die optimale Temperatur dafür befindet sich zwischen 20°C und 30°C (HUGAS et al. 1998).

Die Fähigkeit von *Lactobacillus sakei*, Arginin abzubauen, erlaubt eine Unterscheidung zu dem eng verwandten *Lactobacillus curvatus*, der dazu nicht in der Lage ist (VERGES et al. 1999; CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001). Der Verderb von Lebensmitteln aufgrund von *Lactobacillus sakei* erklärt sich durch die Fermentation von Zuckern (HUIS IN´T VELD 1996). Via anaerober Glycolyse wird Zucker abgebaut, es entstehen D- und L-Lactat, was gleichzeitig den Abfall des pH-Wertes zur Folge hat. Die hohe Durchsetzungsfähigkeit von *Lactobacillus sakei* auf Fleischerzeugnissen erklärt sich aus den speziellen Möglichkeiten der Energiegewinnung auch im zuckerarmen Fleischmillieu, dazu gehört die zusätzliche Eigenschaft, Aminosäuren und Purinnukleoside zu verwerten (KRÖCKEL 2006). Proteolyse von myofibrillären Muskelproteinen sowie Lipolyse und Lipidoxidation scheinen Schlüsselrollen bei der Geschmacksentwicklung von Fleischprodukten darzustellen (CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001).

Typisch für den Verderb durch *Lactobacillus sakei* sind käsiger Geruch, säuerlicher Geschmack, Gasbildung, eine Grünverfärbung aufgrund der Bildung von H_2O_2 und die Bildung eines fadenziehenden Schleimes (BORCH et al. 1996; METAXOPOULOS et al. 2002; VIHAVAINEN et al. 2007). Schleimbildende Stämme von *Lactobacillus sakei* wurden in Verarbeitungsräumen von Fleischwarenherstellern nach der Hitzebehandlung isoliert (BORCH et al. 1996).

2.2 Brühwurst, Typ Mortadella

2.2.1 Rechtliche Grundlagen und Begriffsdefinitionen

In der Verordnung EG Nr. 853/2004 (ANONYM 2004b) sind Fleischerzeugnisse definiert als verarbeitete Erzeugnisse, die aus der Verarbeitung von Fleisch oder der Weiterverarbeitung solcher verarbeiteten Erzeugnisse so gewonnen werden, dass bei einem Schnitt durch den Kern die Schnittfläche die Feststellung erlaubt, dass die Merkmale von frischem Fleisch nicht mehr vorhanden sind.

Teil des § 15 des Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB ANONYM 2008) ist das Deutsche Lebensmittelbuch. Hierbei handelt es sich um eine Sammlung von Leitsätzen, in denen die Herstellung, Beschaffenheit oder sonstige Merkmale von Lebensmitteln, die für ihre Verkehrsfähigkeit wichtig sind, beschrieben werden. Die Leitsätze halten die allgemeine Verkehrsauffassung unter Berücksichtigung des redlichen Hersteller- und Handelsbrauches und der berechtigten Verbrauchererwartung fest. Bei den Leitsätzen handelt es sich nicht um Rechtsnormen, sondern um hochrangige Sachverständigengutachten. Brühwurst vom Typ Mortadella gehört laut den Leitsätzen für Fleisch- und Fleischerzeugnisse (BMVEL 2003) in die Kategorie der fein zerkleinerten Brühwürste.

Gemäß der Leitsätze für Fleisch- und Fleischerzeugnisse (BMVEL 2003) werden feinzerkleinerte Brühwürste als durch Brühen, Backen, Braten oder auf andere Weise hitzebehandelte Wurstwaren, bei denen zerkleinertes rohes Fleisch mit Kochsalz und ggf. anderen technologisch notwendigen Salzen meist unter Zusatz von Trinkwasser (oder Eis) ganz oder teilweise aufgeschlossen werden und deren Muskeleiweiß bei der Hitzebandlung mehr oder weniger zusammenhängend koaguliert ist, so dass die Erzeugnisse bei etwaigem erneuten Erhitzen schnittfest bleiben, definiert. Die Menge des verwendeten Trinkwassers ist bei den einzelnen Wurstsorten verschieden. Würste, die roh in den Verkehr kommen, aber dazu bestimmt sind, vor dem Verzehr durch Brühen, Backen, Braten oder auf andere Weise hitzebehandelt zu werden und dabei schnittfest zu werden, sind Brühwursthalbfabrikate.

Brät wird definiert als das zerkleinerte rohe Fleisch, welches durch Zusatz von Trinkwasser und Salzen die zum Abfüllen fertige Rohmasse bei der Brühwurstherstellung

darstellt. Als besondere Merkmale werden die Umrötung und das Abfüllen in Hüllen von größerem oder mittelgroßem Kaliber genannt. Feinzerkleinerte Brühwurst wird aus folgenden Ausgangsmaterialien hergestellt: grob entsehntes Rindfleisch, grob entfettetes Schweinefleisch, fettgewebsreiches Schweinefleisch und Speck.

2.2.2 Phosphat als Kutterhilfsmittel

Die Zugabe von Phosphat in Wurstprodukte muss für den Verbraucher kenntlich gemacht werden [Zusatzstoffzulassungs-Verordnung 1998 (ZzulV) zuletzt geändert 2008]. Des Weiteren enthält die Verordnung die maximal zulässige Dosierung von Phosphat von 10 g/kg. Die optimale Dosierung ist zudem niedriger, sie beträgt 0,5 g/kg (GLANDORF et al. 1991).

Es wirkt als Kutterhilfsmittel, indem es das post mortem verloren gegangene Wasserbindungsvermögen von Fleisch wiederherstellt. Dabei wirkt es direkt in den Myofilamenten und trennt das Aktomyosin in Aktin und Myosin. Dies ist der Mechanismus, der in lebender Muskulatur und in Warmfleisch von ATP hervorgerufen wird.

Anders als bei anderen Kutterhilfsmitteln, wie beispielsweise Citrat oder Laktat, sorgt Phosphat dafür, dass die myofibrillären Eiweiße nicht nur aufquellen, indem die Ionenstärke des Bräts erhöht wird, sondern zusätzlich dadurch aufgeschlossen werden. Eine weitere Möglichkeit die Ionenstärke von Brät zu erhöhen, ist die Zugabe von Kochsalz. Kutterhilfsmittel erhöhen so die Wasser- und Fettbindekapazität des Bräts (LAUTENSCHLÄGER u. TROEGER 2007), aber nicht nur das Wasserhaltevermögen, sondern auch die Zartheit werden so verbessert (SIELAFF 1996).

2.2.3 Umrötung der Brühwurst durch Nitritpökelsalz

Im Zuge der Harmonisierung des europäischen Lebensmittelrechts lässt die Zusatzstoffzulassungs-Verordnung Kaliumnitrit (E249) und Natriumnitrit (E250) als Umrötemittel für die Brühwurstproduktion zu. Vor 1998 war der Einsatz von Kaliumnitrit in Deutschland verboten. Natrium- oder Kaliumnitrat dürfen laut ZzulV nur für gepökelte Fleischerzeugnisse und selbige in Dosen verwandt werden. Nitrit darf nur in Vermischung mit Kochsalz als „Nitritpökelsalz“ zum Umröten von Fleischerzeugnissen genutzt werden. Ein festes Mischungsverhältnis liegt derzeit nicht vor, die ZzulV gibt lediglich Richt- und Höchstwerte für die Zugabe an. So darf maximal eine Menge von

150 mg/kg verwendet werden. Die Restmenge für das Endprodukt Brühwurst darf maximal 100 mg/kg betragen. Diese Menge ist ausreichend für eine schnelle und stabile Umrötung (BRAUER 2004).

Die Umrötung in der Brühwurst ist sehr komplex und erstreckt sich über verschiedene miteinander verbundene Reaktionen. Zum besseren Verständnis der technischen Gesichtspunkte der Umrötung zeigt Abb. 1 schematisch die einzelnen Schritte während der Umrötung.

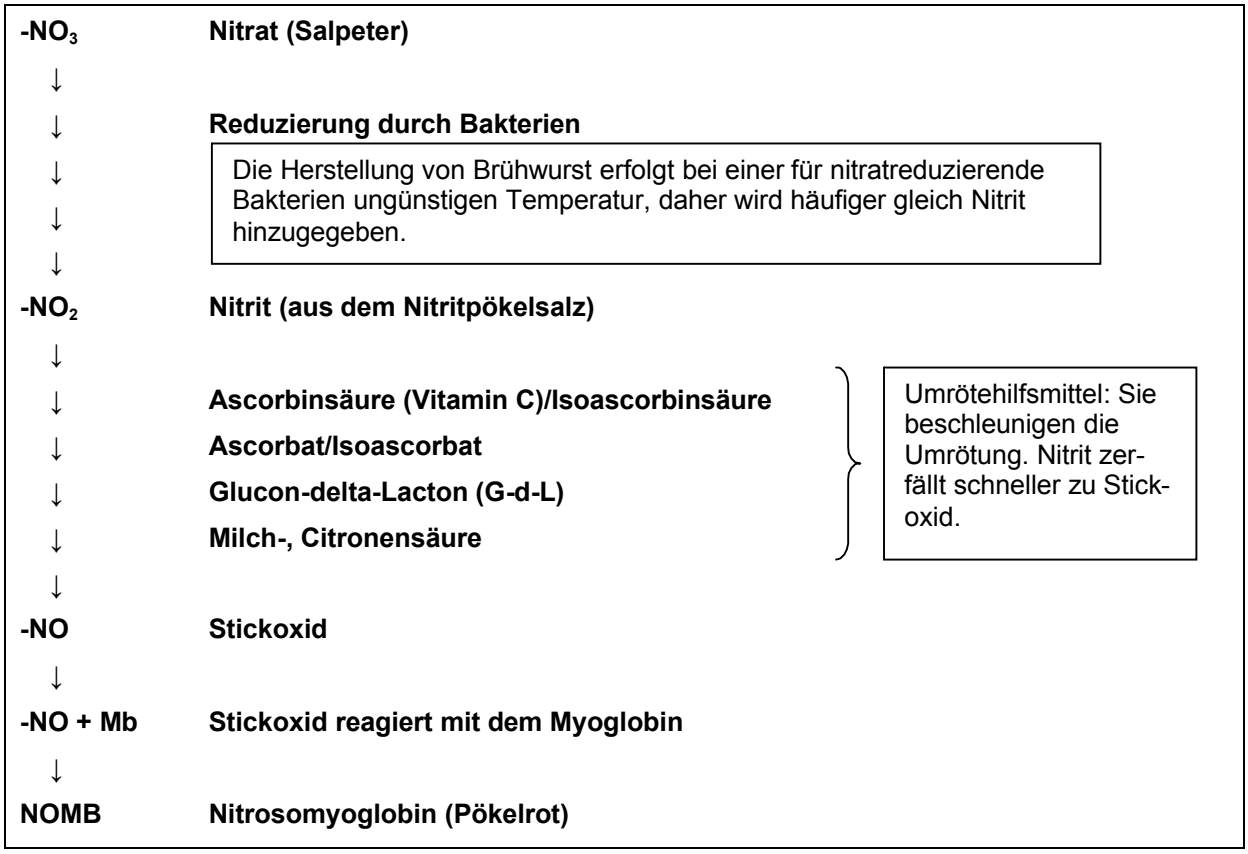

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Ablaufes der Umrötung (BRAUER 2004)

Durch die Zugabe von Nitritpökelsalz gelangt das zur Umrötung notwendige Nitrit in die Wurst. Es zerfällt zu Stickoxid. An dieser Stelle treten die Umrötehilfsmittel ihre Wirkung an. Das Umrötehilfsmittel Ascorbat, welches auch unter die in der Zusatzstoffzulassungs-Verordnung erwähnten Zusatzstoffe fällt, sorgt für ein schnelleres Zerfallen des Nitrits in Stickoxid. Ein leicht saures Milieu beschleunigt den Vorgang zusätzlich. Auch andere Umrötehilfsmittel, wie Zitronen- oder Milchsäure haben diesen Effekt.

Das entstandene Stickoxid verbindet sich mit dem Myoglobin des Fleisches, so entsteht das Pökelrot „Nitrosomyoglobin“. Dieses ist hitzestabil und relativ licht- und sauerstoffstabil. Für die Bildung von Stickoxid und seine Reaktion mit Myoglobin sind also verschiedene Faktoren von Bedeutung. Dazu gehören Temperatur, pH-Wert und Sauerstoff. Nachteilig auf die Pökelfarbstoffbildung wirkt sich Sauerstoff aus. So wird beim Zerkleinern und Kuttern des Bräts Luft untergeschlagen, es besteht die Gefahr der Bildung von Metmyoglobin. Es zeigt sich, dass die wirkungsvollste Methode zur Reduzierung des Sauerstoffeinflusses der Einsatz von Vakuumkuttern ist. In ihnen hergestellte Brühwurst ist deutlich röter und die Farbhaltung ist besser (WIRTH 2007).

Die durch die Umrötung erhaltene Farbe und Farbstabilität einer Brühwurst sind wichtige Kriterien bei Auswahl und Kauf, da mit ihr Qualitätsbegriffe wie Frische, hoher Magerfleischanteil und Geschmack assoziiert werden. Mehr als 90% der Brühwürste werden umgerötet. Die restlichen 10% werden nur mit Kochsalz hergestellt, dadurch erhalten sie eine grau-weiße Farbe (Weiß- und Bratwurst).

2.2.4 Farbe

Der Muskelfarbstoff Myoglobin kommt in drei für die Umrötung wichtigen Formen vor (BRAUER 2004). Tabelle 1 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Oxidationszustand des Muskelfarbstoffes Myoglobin und der Farbe des Produktes.

Tabelle 1: Oxidationszustand des Eisens im Myoglobinmolekül und die dazu gehörige Farbe (BRAUER 2004)

Form	Farbe
Myoglobin	purpurrot
Oxymyoglobin	hellrot
Metmyoglobin	grau/braun

Myoglobin besitzt in seinem Porphyrinring, dem Häm, ein zentrales zweiwertiges Eisenion. Dieses Eisenion ist in der Lage, Sauerstoff zu binden. Die Folge ist, dass aus dem purpurroten Myoglobin hellrotes Oxymyoglobin wird. Dieser Vorgang ist reversi-

bel. Wichtig ist die Tatsache, dass nur so viel Myoglobin umgesetzt werden kann, wie im Magerfleisch enthalten ist.

Beim Metmyoglobin liegt das Eisenion nicht mehr zweiwertig, sondern dreiwertig vor. Es entsteht eine braune Farbe (LINDAHL et al. 2001). Die Bildung von Metmyoglobin ist nicht umkehrbar.

Im Rahmen wissenschaftlicher Untersuchungen lässt sich eine objektive Messung der Farbintensitäten nach dem CIELAB-System durchführen (KLETTNER u. STIEBING 1980b; RÖDEL 1991). Das System ist international anerkannt und wurde vom CIE (Comission Internationale de l`Eclairage) als Methode der Wahl vorgeschlagen. Durch die drei Parameter L * (Helligkeit), a* (Farbton) und b* (Sättigung) wird jede Farbe durch das System genau definiert. Der Wert L* beschreibt die Helligkeit, a* den ROT-GRÜN-Bereich und b* den GELB-BLAU-Bereich (CAVA et al. 2009).

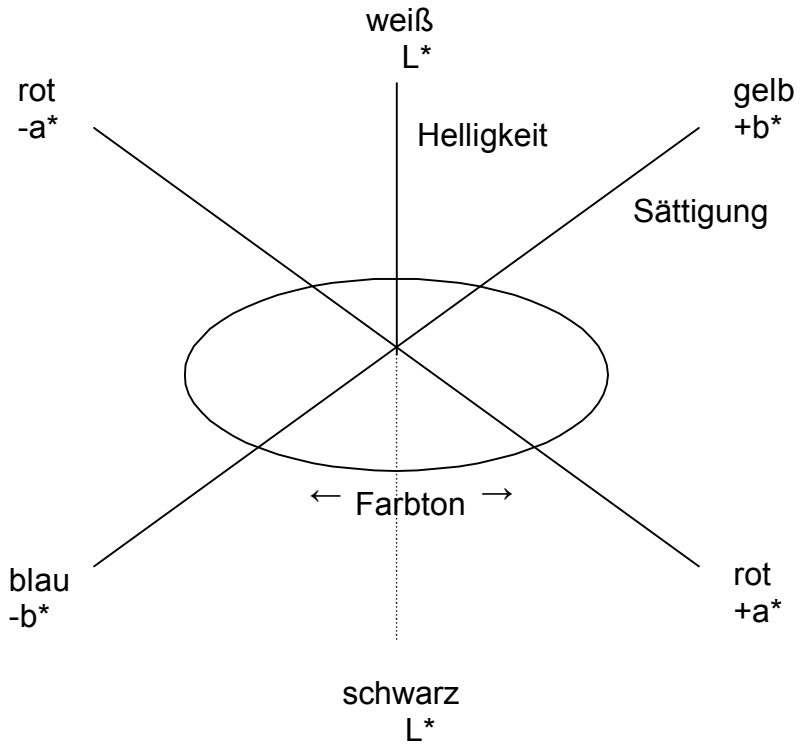

Abbildung 2: Koordinatenachsen des CIELAB-Systems (KLETTNER u. STIEBING 1980a)

2.2.5 Haltbarkeit der Brühwurst

Maßgebend für die Haltbarkeit von Brühwürsten ist die Hitzebehandlung, durch sie werden vegetative Keime im rohen Brät weitgehend inaktiviert. Das Gleiche gilt für Enzyme mikrobiellen und fleischeigenen Ursprungs. Hierfür sollte die Kerntemperatur bei mindestens 70 °C liegen. Bereits ab 40 °C kommt es zur Eiweißkoagulation und Hitzedenaturierung des Myoglobins. Für die Erhaltung der mikrobiologischen Stabilität ist die Temperatur während der sich anschließenden Verarbeitungsprozesse von großer Wichtigkeit, da jede Keimart eine minimale Wachstumstemperatur hat (LAUTENSCHLÄGER u. TROEGER 2007). Da beim Herstellungsprozess von Brühwurst auch Wasser, meist in Form von Eis, zugegeben wird, lässt sich auch die Wasseraktivität (a_w-Wert) als Kriterium zur Haltbarkeitsbestimmung heranziehen. Sie ist der Quotient aus dem Dampfdruck des Wassers des Lebensmittels und dem Wasserdampfdruck von Wasser bei gleichen Temperaturbedingungen. Die Vermehrungsfähigkeit von Mikroorganismen hängt stark vom Wassergehalt und von der Verfügbarkeit von Wasser ab. Der a_w-Wert von fein zerkleinerter Brühwurst variiert im Bereich von 0,97-0,98 (KEWELOH u. HERZIG 2009). Sie zählt daher zu den leicht verderblichen Lebensmitteln.

2.2.6 Kontamination von Brühwurst/-aufschnitt

Zu einer Kontamination kann es bereits lange vor Beginn der Wurstherstellung kommen. Bereits am Ende des Schlachtbandes lässt sich eine breite Palette von Keimen auf dem Frischfleisch isolieren. Diese variiert durch den Schlachtprozess, die Temperatur, den a_w-Wert, den pH-Wert, die Verpackungsart und die Lagerungszeit. Zur Keimflora gehören: *Pseudomonas, Lactobacillus, Brochothrix, Enterobacteriaceae, Bacillus, Staphylococcus* usw. (BAUMGART u. BECKER 2008). Auf der Oberfläche von vorbehandeltem Fettgewebe ist mit Pseudomonaden zu rechnen (FRIES 2003). Das zur Herstellung verwandte Wasser muss Trinkwasserqualität besitzen. Auch Gewürze stellen eine Kontaminationsquelle vor allem für Gram-positive Keime dar (FRIES 2003). Die Zugabe von Kochsalz stabilisiert zwar das Brät, hat aber keine größeren mikrobiologischen Effekte, da der a_w-Wert nur geringfügig abgesenkt wird.

Bei Verwendung von Naturdärmen hängt der mikrobiologische Status stark von der Vorverarbeitung und Reinigung der Därme ab.
Häufig ist am Ende des Schlachtprozesses die aerobe Gesamtkeimzahl bereits bei einer Zahl von 10^2 bis $10^3/cm^2$ (REUTER 2003). Zu den dominierenden Keimen auf gekühltem Frischfleisch, aerob, MAP- oder vakuumverpackt, gehören *Pseudomonas fragi*, *Lactobacillus sakei* und *Brochothrix thermosphacta* (NYCHAS 2007).
Adäquat erhitztes Brät weist eine Keimbelastung von lg 0 bis lg 3/g auf (FRIES 2003). Durch die Erhitzung von Brühwurst auf eine Kerntemperatur von 72°C wird in der Regel ein Keimgehalt von unter 100/g erreicht. Besonders Gram-negative Bakterien werden durch die Hitzebehandlung abgetötet, während Enterokokken, Laktobazillen und *Brochothrix thermosphacta* den Prozess überleben können. Endosporen von *Bacillus* spp. oder *Clostridium* spp. können diese Temperaturen zwar überleben, sind aber bei Kühltemperaturen und insbesondere bei der Anwesenheit von Nitritpökelsalz nicht in der Lage auszukeimen. Erst nach der Herstellung, während der Schneide- und Verpackungsvorgänge, kommt es zur Rekontamination (REUTER 1970; HOLZAPFEL u. GERBER 1986; BORCH et al. 1988; KORKEALA et al. 1988; HOLY u. HOLZAPFEL 1991; HOLY et al. 1991). Die Arbeitsgruppe „ Mikrobiologische Richt- und Warnwerte“ der Fachgruppe „Lebensmittelmikrobiologie und – hygiene“ der DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie) Stand 2007, hat Richtwerte für Brühwurstaufschnitt veröffentlicht. So ist der Richtwert $5x10^6$ KbE/g für die aerobe Gesamtkeimzahl und für Milchsäurebakterien von Brühwurstaufschnitt am Tag der Auslieferung.
Bedingt durch das reiche Nährstoffangebot und die mikroaeroben Bedingungen vermehren sich vor allem psychrothrophe Laktobazillen und *Brochotrix thermosphacta* auf der Wurstoberfläche mit dem Ergebnis einer zum Verderb führenden Säurebildung. Zur Oberflächenkontamination kommt es über die Luft, Gerätschaften oder die Hände des Personals. Hier spielen die Gram-negativen Keime, wie *Pseudomonas fragi* eine besondere Rolle. Sie kommen in fleischverarbeitenden Betrieben vor. Ihre Übertragung auf die Wurstoberfläche geschieht vor allem beim Aufschneiden und Abpacken (REUTER 1970). Während des Verpackungsvorganges werden direkt vom Menschen auch Laktobazillen und Enterobacteriacaeae als Darmhabitanten übertra-

gen (MAKELA et al. 1992). Durch das Aufschneiden entstehen große Reaktionsflächen. Hier ist also nicht nur das zerkleinerte Fett durch Sauerstoff- und Lichteinfluss gefährdet, sondern das gesamte Produkt wird für Verderb empfänglicher gemacht. Typische Bakterien finden sich beispielsweise auf den Aufschneidemaschinen, Waagen oder Transportbändern (QUIST 1976). Aufgrund der vergrößerten Oberfläche ist die Haltbarkeit der Aufschnittware, selbst bei sachgemäßer Kühllagerung, kürzer als bei vorverpackten Brühwürsten. Bereits nach 10 Tagen Lagerung und einer Temperatur von 5°C werden Geruchs- und Geschmacksfehler festgestellt. Eine maximale Haltbarkeit von 2 Wochen wird daher für diese Temperatur vorgeschlagen (SHAY et al. 1978; FRIES 2003). Bei einer Lagerungstemperatur von 7°C stellt man schon nach 8 Tagen Qualitätsverluste fest (FRIES 2003).

2.3 Einflüsse der verschiedenen Schutzgase in MAP (modified atmosphere packaging)

2.3.1 Stickstoff

Stickstoff als inertes und geruch– sowie geschmackloses Gas erfüllt in der Verpackung hauptsächlich Stütz–und Füllaufgaben, insbesondere wenn die Verpackung keinen oder nur wenig Sauerstoff enthält (INNS 1987; PHILLIPS 1996). Außerdem ist es farblos, hat eine geringere Dichte als Luft und ist nicht entzündlich (SANDHYA 2010). Die geringe Löslichkeit von Stickstoff in der wässrigen Phase eines Lebensmittels verhindert das Kollabieren der Packung. Es besteht kein direkter Einfluss von Stickstoff auf das mikrobielle Wachstum in Lebensmitteln (CHURCH u. PARSONS 1995). Dementsprechend fanden RUBIO et al. (2007) heraus, dass der Hauptfaktor für die Modifikationen der Wurstcharakteristika die Lagerungszeit und nicht der Einsatz von Stickstoff war. Der Austausch von Sauerstoff gegen Stickstoff wird genutzt um, der Sauerstoff bedingten Entwicklung von Ranzigkeit entgegenzuwirken und das Wachstum aerober Keime zu inhibieren (PHILLIPS 1996). Das Wachstum anaerober Keime bleibt unbeeinflusst (SANDHYA 2010). In der Literatur finden sich allerdings gegensätzliche Daten bezüglich des Einflusses von Stickstoff. Ein Grund dafür ist ein unterschiedlich hoher Restsauerstoffgehalt in den Verpackungen.

2.3.2 Kohlendioxid

Kohlendioxid ist farblos, beim Lösen in Wasser entsteht Kohlensäure, die den pH-Wert senkt (SANDHYA 2010). Es stellt für Fleisch und Fleischprodukte die wichtigste Komponente in MAP-Verpackungen dar. Es löst sich teilweise in der fettigen und/oder wässrigen Phase des Lebensmittels (DEVLIEGHERE u. DEBEVERE 2000). Der Umfang dieser Umsetzung ist allerdings abhängig von extrinsischen (Gas/Produktvolumenverhältnis, initiale CO_2-Konzentration in der Verpackung und Lagerungstemperatur) und intrinsischen (a_w-Wert, pH-Wert, Fettgehalt und Zusammensetzung) Parametern (GILL 1988). Nach DEVLIEGHERE et al. (1998) sind vor allem die Lagerungstemperatur und das Gas/Produktvolumenverhältnis wichtig für die Menge an Kohlendioxid, das sich in der wässrigen Phase löst und damit das mikrobielle Wachstum im Lebensmittel beeinflusst. Nach PHILLIPS (1996) ist die Effektivität von MAP-Verpackungen abhängig von der Gaskonzentration, der Lagerungstemperatur (je kälter, desto höhere Effizienz) und dem Anfangskeimgehalt. Mit sinkender Temperatur erhöht sich auch die Löslichkeit von Kohlendioxid (PEXARA et al. 2002).

Auch die Art der Keime spielt eine Rolle. So fanden PEXARA et al. (2002) heraus, dass die Nutzung von Kohlendioxid erfolgsversprechender bei Lebensmitteln ist, deren Verderbnisflora hauptsächlich aus aeroben, Gram-negativen und psychrotrophen Bakterien besteht. Das Wachstum von Hefen und Sporenbildnern kann sogar noch gefördert werden. Eine Atmosphäre aus 100% Kohlendioxid zeigte keine ausgeprägte Haltbarkeitsverlängerung, die Keimzahl entsprach der der Vakuumverpackung, so auch bei HUIS IN`T VELD (1996). Je mehr Kohlendioxid vorhanden ist, desto stärker ist die Oxidation von Myoglobin und Lipiden durch die Senkung des pH-Wertes (MARTINEZ et al. 2005). Bei SANTOS et al. (2005) wurde Kohlendioxid in den Konzentrationen 30, 50 und 80% genutzt, der jeweilige Rest wurde mit Stickstoff aufgefüllt. Hier blieben die Zahlen von *Lactobacillus* spp. und *Pseudomonas* spp. deutlich unter den Werten, die in Verpackungen mit Vakuum erzielt wurden. Innerhalb der MAP-Varianten zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Auffallend war, dass erst die Anzahl der Pseudomonaden anstieg und anschließend von den *Laktobazillen* überholt wurde, woraufhin auch der pH-Wert sank. Je mehr Kohlendioxid eingesetzt

wurde, desto langsamer wurde das Wachstum der *Laktobazillen*. Kohlendioxid wirkte besser gegen Gram-positive Keime und verlängerte die Haltbarkeit. PHILLIPS (1996) sieht Kohlendioxid als Hauptinhibitor gegen mikrobielles Wachstum, indem es die lag-Phase der Keime verlängert. Diese Ansicht teilt auch SANDHYA (2010), indem er betont, dass Kohlendioxid das einzige Gas mit antimikrobiellen Eigenschaften ist, auch hier wird die Verlängerung der lag-Phase als Hauptgrund genannt. FARBER (1990) fasste folgende Theorien für die Wirksamkeit von Kohlendioxid zusammen: Kohlendioxid sorgt für einen Umbau in der Zellmembran und verändert dadurch die Nährstoffaufnahme und –absorption. Es inhibiert oder reduziert ganze Enzymsysteme, penetriert die Membranen mit daraus resultierenden intrazellulären pH-Wert-Veränderungen und modifiziert die physiko-chemischen Proteineigenschaften. Die Mechanismen im Einzelnen konnten bis heute noch nicht abschließend geklärt werden.

2.3.3 Sauerstoff

Sauerstoff ist farb- und geruchlos, hochreaktiv und besitzt eine geringe Wasserlöslichkeit (SANDHYA 2010). Bei einem hohen Gehalt an Sauerstoff in der Schutzgasatmosphäre kommt es zu einem signifikanten Anstieg der Oxidationsvorgänge und damit zu einer Verkürzung der Haltbarkeit, unter anderem durch den Farbverlust und den schlechten Geruch. Im Umkehrschluss verlängert sich die Haltbarkeit mit sinkendem Sauerstoffgehalt im Hinblick auf Farbstabilität und Geruch durch eine verringerte Oxidationsrate (MARTINEZ et al. 2006). Aufgrund der erwähnten Oxidationsmechanismen führt viel Sauerstoff in Produkten mit hohem Fettgehalt zu einer raschen Entwicklung eines ranzigen Geruchs (PHILLIPS 1996). Allerdings führte bei KRAMER und BAUMGART (1993) auch eine Konzentration von 80% Kohlendioxid zu ranzigem Geruch. Durch die Photooxidation der Nitrosofarbstoffe zu Metmyoglobin kommt es zu einem Farbabbau des Pökelrots und so zu einem Abnehmen des a*-Wertes mit steigender Sauerstoffkonzentration. Wenig Sauerstoff allerdings führt zu einer signifikant besseren Farbstabilität (JORUNN 1993). Sauerstoff verlängert und verstärkt den Eindruck der roten Farbe, verkürzt aber die Haltbarkeit (MARTINEZ et al. 2005). Dies korreliert auch mit den Ergebnissen von PEXARA et al. (2002) und MASTROMATTEO et al. (2009). Sie fanden heraus, dass je mehr

Sauerstoff vorhanden ist, desto schneller kommt es zur Verfärbung des Fleischproduktes aufgrund von Verderb. Auf der anderen Seite inhibiert Sauerstoff das Wachstum anaerober Keime.

2.3.4 Kohlenmonoxid

Kohlenmonoxid ist genau wie Sauerstoff geruch– und farblos, allerdings ist es auch giftig. Es bildet zusammen mit Eisen eine feste Bindung, es entsteht daraus Carboxymyoglobin. Dieses sorgt für eine stabile rote Farbe, die den Eindruck von Frische suggerieren kann. Daher besteht das Risiko eines maskierten Verderbs, da der Keimgehalt unbemerkt ansteigt. In hohen Dosen ist Kohlenmonoxid schädlich. Versuche mit Kohlenmonoxid zeigten keine inhibierende Wirkung gegenüber Verderbniskeimen (WILKINSON et al. 2006). SÖRHEIM et al. (1999) geben an, dass eine Konzentration von unter einem Prozent in der Schutzgasatmosphäre von Fleischprodukten kein Gesundheitsrisiko für den Konsumenten darstellt.

2.4 Etherische Öle

Pflanzenduft beruht im Wesentlichen auf den von ihnen erzeugten etherischen Ölen. Der wegen der Flüchtigkeit dieser Stoffe gewählte Wortbestandteil "Ether" bezieht sich auf das griechisch-lateinische Wort "aither" - Himmelsluft oder - Weite des Himmels. Das Wort „etherisch“ bedeutet auch vergeistigt oder entrückt.

Sie sind von geringerer Dichte als Wasser und lassen sich deshalb nicht damit mischen. Gut löslich sind sie hingegen in Alkohol und einigen organischen Lösungsmitteln. Unter den bis heute wissenschaftlich bekannten ca. 250.000 höheren Pflanzen liegt der Anteil von Arten, die etherische Öle enthalten, bei ungefähr einem Prozent. Innerhalb des Pflanzenreiches kommen etherische Öle bei den niedrigen Pflanzen nur ausnahmsweise vor. Bei Pilzen scheinen sie gänzlich zu fehlen. Die große Ausnahme findet sich bei bestimmten Strauchflechten. Der Löwenanteil aller Pflanzenarten, die etherische Öle entwickeln oder herstellen, entfällt auf Blütenpflanzen, den so genannten Samenpflanzen, und in Geringerem, wenn auch nicht unbedeutendem Maße, auf die Nadelpflanzen.

Etherische Öle können allen Teilen aromatischer Pflanzen entstammen (aus Früchten, Teilen von Früchten, Blüten, Blütenknospen, Rinden, Blättern, Blättern und

Zweigen, Rhizomen, Wurzeln, Samen, Nadeln und Holz). Sie werden mittels bestimmter physikalischer Methoden aus Pflanzenmaterialien gewonnen. Pflanzen können fast unbegrenzt aromatische Substanzen herstellen.
Sie dienen der Verteidigung gegen Mikroorganismen, Insekten und Herbivoren. Phenole, hauptverantwortlich für die antimikrobiellen Eigenschaften, haben eine Ringstruktur. Vertreter dieser Stoffgruppe sind zum Beispiel Thymol und Carvacrol. Sie wurden bisher am umfangreichsten erforscht (HELANDER et al. 1998). Ein weiteres Phenol ist Eugenol, es besitzt sowohl antibakterielle als auch antimykotische Eigenschaften. Verantwortlich für das Pigment in Pflanzen (Schwarzteepigment) sind Quinone. Sie wirken außerdem antioxidativ, wie das Beispiel von Q10 zeigt. Des Weiteren wird vermutet, dass es sich bei den Quinonen um wichtige RedOx-Faktoren handelt, die als neue B-Vitamine wie Riboflavin klassifiziert werden können. Terpene geben den etherischen Ölen ihren typischen Geruch und Geschmack. Ihre generelle Struktur lautet C_{10} H_{16}. Ein Monoterpen ist zum Beispiel das das Linalool oder Capsaicin in Chillischoten. Auch Di-, Tri- und Tertraterpene sowie Sesquiterpene (C_{15}) sind zu finden. Terpene wirken gegen Bakterien, sind bakterizid gegen *Helicobacter pylori*, wirken gegen Pilze, Viren und Protozoen und wurden 1985 von der WHO gegen Malaria eingesetzt (KHULLAR 2010). Ihr Wirkmechanismus ist nicht vollständig geklärt, diskutiert wird eine mögliche Membranverletzung durch lipophile Komponenten (COWAN 1999). Die Art der Zusammensetzung etherischer Öle ist sehr unterschiedlich. Nicht selten besteht ein etherisches Öl aus über fünfzig analysierbaren Einzelsubstanzen.
Die Mehrzahl aller Pflanzen, die etherische Öle produzieren, wachsen in den wärmeren Regionen der Erde. Neben der geographischen Lage spielen auch andere Faktoren wie Höhenlage, Bodenzustand, Feuchtigkeits- oder Trockenheitsgrad und natürlich auch die Jahreszeit eine entscheidende Rolle bei der Bildung etherischer Öle. Bei JERKOVIC et al. (2001) wurde Erntezeitpunkt und Art der Trocknung als Haupteinflussfaktoren für Komposition und Menge etherischen Öles in Pflanzen gesehen. Nach der Trocknung lagen die Konzentrationen unter denen frischer Pflanzen. Eine Trocknung bei Raumtemperatur beeinflusste den Gehalt an etherischem Öl hierbei nicht. Auch BAGAMBOULA et al. (2004) ebenso wie BURT (2004) erwähnten eine

Abhängigkeit der Ölkonzentration im Zusammenhang mit der Anbauregion, dem Alter der Pflanze, der Trocknungsmethode und der Extraktionsform, sahen aber alle von einer Gewichtung der Einflussfaktoren ab. COSENTINO (1999) zeigte in ihrer Studie, dass verschiedene Thymianarten aus gleichem Anbaugebiet, hier Sardinien, einen erheblichen Unterschied in der Konzentration ihres Hauptbestandteiles Thymol aufwiesen, der zwischen 29% bis 50% schwankte. SIVROPOLOU et al. (1996) testeten 3 Oreganoöle. Die Unterschiede in der Konzentration der Hauptinhaltsstoffe lagen bei Carvacrol zwischen 0,43% und 80%, bei Thymol rangierte die Konzentration zwischen 0,4% und 32%. Dies geht einher mit den Ergebnissen von JERKOVIC et al. (2001), die auch die Schwankungen der Bestandteilkonzentration in Oreganoöl untersuchten. Auch hier zeigten sich deutliche Unterschiede, so lagen die Konzentrationen von Thymol bei 150 – 1130mg, von Carvacrol bei 52 – 520mg und y-Terpinen bei 50 - 218mg. So enthält Oregano etwa 2,42 % bis 5,73 % etherisches Öl (RUSSO et al. 1998). Der Ölgehalt von Thymian schwankt etwa zwischen 0,75 % und 6,3 % (THOMPSON et al. 2003). Aus Rosmarin lässt sich 1 % bis 2,5 %, aus Majoran bis zu 3,5 % etherisches Öl gewinnen (KRAFT 2000). Lorbeer enthält 1 % bis 3 % etherisches Öl (KOVACEVIC et al. 2007). In einer umfassenden Studie von DEANS und RITCHIE (1987) wurden 25 etherische Öle in vitro auf ihre antimikrobiellen Wirkungen getestet. Unter den 10 antimikrobiell wirksamsten befanden sich Nelken- und Muskatöl. Sie gehören neben Oregano und Thymian, auch laut DORMAN und DEANS (2000), zu den wirksamsten Ölen.

Die Schwierigkeit besteht darin, die Ergebnisse verschiedener Studien miteinander zu vergleichen, da neben unterschiedlichen Testmethoden und Bakterienstämmen natürlich auch unterschiedliche Öle verwandt wurden (BAGAMBOULA et al. 2004). Es erschwert die Standardisierung und Vergleichbarkeit der Ergebnisse sehr, wenn sogar Öle des gleichen Anbaugebietes erhebliche Unterschiede in ihrer Zusammensetzung aufweisen. So sind nach Meinung von COSENTINO (1999) mehr Studien über etherische Öle und ihre Fähigkeiten unabdingbar.

Hervorzuheben sind die bereits seit hunderten von Jahren genutzten Eigenschaften vieler etherischer Öle (TEUSCHER 2003). Sie sind entzündungshemmend, helfen

bei Insektenstichen, zeigen immunmodulatorische Effekte, wirken antioxidativ (ZITTERMANN 1994; MORENO et al. 2006), karminativ (SCHILCHER 1986), antiseptisch, verdauungsfördernd, appetitanregend (PLATEL u. SRINIVASAN 1996), antibakteriell (DORMAN u. DEANS 2000) und antifungal (SIVROPOULOU et al. 1996; HOLLEY u. PATEL 2005), antikarzinogen und antitumoral (MARTINEZ et al. 1998; CHUANG et al. 2000). Dies sind nur einige der allerdings nur teilweise nachgewiesenen Eigenschaften etherischer Öle.

2.4.1 Definition

Die International Organization for Standardization (DIN ISO 9235) definiert "etherisches Öl" als ein Produkt, das hergestellt wird aus Pflanzenmaterial (einer einzigen Spezies) entweder durch

- Dampf- oder Hydrodestillation (DORMAN u. DEANS 2000),
- durch mechanische Behandlung des Epicarps von Zitrusfrüchten bei Zimmertemperatur = kaltgepresstes etherisches Öl (z.B. Orangenöl, Zitronenöl) oder
- durch trockene Destillation.

Das Hauptverfahren zur Gewinnung etherischer Öle ist die Wasserdampfdestillation. Die trockene Destillation eignet sich nur für wenige Pflanzen. Die ISO-Norm verdeutlicht, dass ein etherisches Öl ein reines Naturkonzentrat ist. Es darf nicht mit anderen Stoffen vermischt werden, sei es mit synthetischen oder mit natürlichen Stoffen, z.B. Terpenen. Auch "Anreicherungen" mit natürlichen Komponenten aus der gleichen Pflanzenspezies (chemisch definierte Inhaltsstoffe) stehen der ISO-Norm entgegen. Der ISO-Standard 9235 hat auch Derivate von etherischen Ölen definiert. Er unterscheidet dabei

- etherische Öle ohne signifikante Veränderungen in ihrer Zusammensetzung (rektifizierte etherische Öle) und
- etherische Öle mit signifikanten Veränderungen in ihrer Zusammensetzung ("Terpenfreies" etherisches Öl, "Terpen- und sesquiterpenfreies etherisches Öl, "X-freies" etherisches Öl, konzentriertes etherisches Öl und trockendestilliertes etherisches Öl).

Da etherische Öle nicht direkt bei der Assimilation gebildet werden, sondern erst durch Umwandlung aus primären Assimilaten entstehen, gehören sie zu den *sekundären* Pflanzeninhaltsstoffen. Insgesamt kann man die Bildung von etherischen Ölen als Begleiterscheinung des intensiven Stoffwechsels in der Pflanze ansehen (GERHARDT 1994). In der Pflanze werden etherische Öle abseits der normalen physiologischen Prozesse im Extrazellulärraum oder in Drüsen gespeichert. Dies lässt vermuten, dass sie keine Bedeutung für die notwendigen essentiellen Prozesse in der Pflanze besitzen (DEANS u. WATERMAN 1993).

2.4.2 Mechanismen

Zahlreiche Studien berichten über die größere Sensibilität Gram-positiver Bakterien gegenüber etherischen Ölen im Gegensatz zu Gram-negativen Keimen (COWAN 1999; MANN et al. 2000; DELAQUIS et al. 2002; BURT 2004; HOLLEY u. PATEL 2005). Gram-negative scheinen resistenter zu sein, da sie eine komplexe Doppelmembran besitzen, anders als die Einzelmembran der Gram-positiven Bakterien.

Phenole und aromatische Verbindungen üben ihre antimikrobielle Wirksamkeit aus, indem sie die Zytoplasmamembran in ihrer Struktur und Funktion verändern. Der K^+-Efflux ist ein frühes Zeichen für Zellschaden und führt zur Störung des Protonenantriebes und des Elektronenflusses und so zur Senkung des Membranpotentials (BURT 2004). Ihm folgt der Efflux zytoplasmatischer Bestandteile, hier inklusive ATP (COWAN 1999; COX et al. 2000; ULTEE et al. 2000). Bei HELANDER et al. (1998) fiel der intrazelluläre ATP-Gehalt ab während der extrazelluläre anstieg. Die Autoren vermuteten daher eine zerstörende Funktion an der Zellmembran durch die eingesetzten Phenole Thymol und Carvacrol. In der Studie von ULTEE et al. (2000) kam es zwar ebenfalls zu einem Abfall der intrazellulären ATP-Konzentration, nicht aber zum Anstieg der extrazellulären. Sie gaben dafür eine erhöhte ATP-Hydrolyse oder verminderte Synthese als Grund an.

Nach Meinung von WALSH (2003) kann das nicht der einzige Grund für die antimikrobielle Aktivität etherischer Öle sein. Nach ihrer Ansicht sind die Beeinflussung des pH Gradienten und des elektrischen Potenziales, bedingt durch den Angriff auf die Zellmembran, viel eher Grund für die Zerstörung der Zelle als allein die Dysfunktion und Beschädigung der Membran (HOLLEY u. PATEL 2005). Mehrere Autoren

(HELANDER et al. 1998; COX et al. 2000; LAMBERT et al. 2001) sind sich einig, dass die Zerstörung der Zelle entweder durch Veränderungen im Ionentransport oder durch Depolarisation einhergehend mit strukturellen Veränderungen der Membran und Interferenzen im ATP-Bildungssystem der Zelle oder aber durch Enzyminhibierung, um die Substratnutzung zur Energiegewinnung zu verhindern, bedingt ist.
Cox et al. (2000) erkannten, das Terpinol in Teebaumöl zum Anschwellen der Membran führt und so die Durchlässigkeit erhöht. Studien mit fluoreszierenden Stoffen, wie bei LAMBERT et al. (2001), zeigten die Erhöhung der Membranpermeabilität durch Öle, die letztlich im Anschwellen der Membran und der Reduktion ihrer Funktion endete. Die lipophilen Öle diffundieren durch die bakterielle Zellmembran in die Mitochondrien, zerstören dort die zellulären Strukturen und erhöhen so die Permeabilität (KNOBLOCH et al. 1989; NYCHAS u. TASSOU 2000). Genauer beschrieben wird dies von BURT (2004) und MANN et al. (2000). Die Hydrophobie der Öle ermöglicht es ihnen, in die Lipide der lipopolysaccharidenthaltenden Zellmembran und der Mitochondrien einzudringen, sie strukturell zu verändern und sie so permeabler zu machen. So kommt es zum aktiven Abfluss der Ionen.
Das Freisetzen intrazellulärer Bestandteile durch Angriff der Zellmembran und der daraus resultierende Verlust intrazellulärer Verbindungen ist laut NYCHAS und TASSOU (2000) ein generelles Phänomen antimikrobieller Substanzen. MANN et al. (2000) verwendeten in ihrer Studie Polymyxin B Nonapeptid (PMBN), ein Membran permeabilisierendes Polykation, welches keine antibakteriellen Eigenschaften besitzt. Es interagiert mit den Lipopolysacchariden, ohne sie herauszulösen. Durch den Einsatz von PMBN wurde *Pseudomonas aeruginosa*, vorher unanfällig gegen die eingesetzten Öle, sensibel.

Als wirksam gegen Gram-positive und Gram-negative Keime werden bei OUTTARA et al. (1997) Nelke, Zimt, Piment und Rosmarin erwähnt. Nelkenöl inhibierte das Wachstum von *Pseudomonas* spp. und *Brochothrix* spp. für circa 48 Stunden. Die Vermehrung von *Lactobacillus sakei* wurde vollständig unterbrochen. GROHS und KUNZ (1999) beschreiben Nelken als einziges Einzelgewürz, welches in 3%iger Konzentration das Wachstum von Gram-positiven und –negativen unterdrückte.

Auch FARAG et al. (1989) und PRABUSEENIVASAN et al. (2006) nennen Nelkenöl als wirksam gegen beide Gruppen.
Basilikumöl wurde von WAN et al. (1998) gegen Bakterien getestet. Abhängig von der angewandten Testmethode (in vitro oder in Lebensmitteln) zeigte sich das Öl als antimikrobiell wirksam oder nicht. So war in vitro eine Wirksamkeit gegen *Pseudomonas* spp. zu erkennen, nicht aber im Lebensmittel. Yin und Cheng (2003) fanden heraus, dass Knoblauchöl gut wirksam gegen Gram-negative Keime ist. Auch das α-Pinen, in hoher Konzentration, zu finden in Muskatöl, zeigt eine deutliche antimikrobielle Wirkung (GILL u. HOLLEY 2004; HOLLEY u. PATEL 2005).
Thiocyanate, wie sie in Senf-, Zwiebel- und Knoblauchöl vorkommen, wirken laut DELAQUIS und MAZZA (1995) durch die Spaltung von Disulfidbrücken und führen so zur Inaktivierung intrazellulärer Enzyme. Eugenol und Cinnamaldehyd wirken gegen Gram-positive und –negative Keime, hier getestet *Listeria monocytogenes* und *Lactobacillus sakei*. Der Mechanismus von Eugenol und Cinnamaldehyd ist laut GILL und HOLLEY (2004) noch ungeklärt. Sie zeigten auch eine bessere Wirkung von Eugenol im alleinigen Einsatz als bei Cinnamaldehyd. Dieses war erst in 6 fach höherer Konzentration im gleichen Maße wie Eugenol gegen *Listeria monocytogenes* wirksam.
Laktobazillen sind im Allgemeinen widerstandsfähiger als andere Gram-positive Bakterien, sie können besser mit osmotischem Stress umgehen. Als mögliche Erklärungen für die Widerstandsfähigkeit von *Lactobacillus* spp. gaben GILL und HOLLEY (2004) folgende Gründe an:

- Laktobazillen haben eine weniger permeable Zellhülle als Listerien.
- Laktobazillen besitzen Verteidigungsmechanismen, die es ihnen erlauben, Cinnamaldehyd zu exportieren oder zu inaktivieren.

2005 fanden GILL und HOLLEY heraus, dass Eugenol und Carvacrol eine ATPase inhibierende Aktivität besitzen, in diesem Zuge betrachteten sie die Membranschädigung nur als sekundär. Auch in dieser Studie zeigte Cinnamaldehyd kaum eine Wirkung gegen *Lactobacillus sakei*. Allerdings nannten THOROSKI et al. (1989) und BURT (2004) die Schädigung der Zellwand und die Zelllyse durch Inhibierung der Amylasen- und Proteasenproduktion als Grund für die Wirksamkeit.

Nelken- und Lorbeeröl enthalten viel Eugenol. Es behindert laut THOROSKI et al. (1989) die Bildung von Amylasen und Proteasen. Im Gegensatz zu den Listerien hemmt Cinnamaldehyd *E. coli* O157:H7 und *Salmonella* Thyphimurium fast so gut wie Carvacrol und Thymol. Es zerstört aber weder die Zellwand, noch senkt es den intrazellulären ATP-Gehalt. WENDAKOON und SAKAGUCHI (1993) führten die Wirkung auf die Hemmung einer Aminosäuren spaltenden Decarboxylase zurück.
Anisöl zeigte keinen Effekt gegen *Saccharomyces cerevisiae*. Anders seine beiden Hauptkomponenten Linalool und Methylchavicol, sie inhibierten das Wachstum vollständig (LACHOWICZ et al. 1998). Auch DELAQUIS (2002) beschrieb einzelne Dillölfraktionen als effektiver als das gesamte Öl. Im Dillöl sind keine Phenole vorhanden, dafür aber lange C-Ketten (C_6-C_{10}), diese sind laut DELAQUIS (2002) auch wirksam gegen Gram-positive Bakterien. Er fand auch Eukalyptusölfraktionen, die wirksam gegen Gram-negative Keime sind. Demgegenüber stehen die Ergebnisse von VARDAR-UNLU et al. (2003), sie beschreiben Thymianöl als wirksamer als seine Einzelkomponenten. Es gilt zu beachten, dass über die Interaktion der Komponenten etherischer Öle noch zu wenige Informationen vorliegen (HOLLEY u. PATEL 2005).

2.4.3 Nutzung in Lebensmitteln

Der Einsatz von etherischen Ölen in Lebensmitteln wird seit einigen Jahren verfolgt. Häufig findet die Tatsache Erwähnung, dass das Vorhandensein von Fetten, Kohlenhydraten, Proteinen, Wasser und Salz die Effektivität der Öle im Vergleich zu in vitro Versuchen deutlich senkt (SHELEF 1984; BURT 2004; HOLLEY u. PATEL 2005). Bedingungen, ihre Wirksamkeit zu verbessern, sind laut BURT und REINDERS (2003) ein niedriger pH-Wert, wenig Sauerstoff und niedrige Temperaturen. Viel Fett mindert die Aktivität des Öles. Vermutet wird die Bildung einer protektiven Fettschicht um die Bakterien oder aber die Lipidfraktion absorbiert die antimikrobiellen Ölkomponenten und senkt so ihre Konzentration in der wässrigen Phase (SMITH-PALMER et al. 2001). So war bei SHELEF et al. (1984) Rosmarinöl in vitro wirksam ab einer Konzentration von 0,1%, in Fleisch allerdings erst ab 5%. Muskatöl reduzierte mit 0,2% und 0,4% das Wachstum von *Listeria innocua* in fleischsimulierendem Medium. Pfeffer- und Rosmarinöl zeigten keinen Effekt (VERLUYTEN et al. 2004).

Cilantroöl ist in vitro wirksam gegen *Listeria monocytogenes*. Auf Schinken braucht es allerdings ein Vielfaches der verwendeten Konzentration, um das Wachstum zu beeinflussen (STECCHINI et al. 1993). SMITH-PALMER et al. (1998) fanden heraus, dass Zimt-, Thymian- und Nelkenöl in Konzentrationen ab 0,03% effektiv das Wachstum von *Listeria monocytogenes* in TSB-Bouillon hemmten. Bei einer Konzentration von 1% war Nelkenöl sogar erfolgreich in Käse mit einem 30%igen Fettgehalt einsetzbar. SMITH-PALMER et al. (2001) gaben als Grund eine höhere Komplexität des Lebensmittels an.

LACHOWICZ et al. (1998) hemmten das Wachstum von *Lactobacillus curvatus* in Tomatensaft durch Zugabe von Anis- und Basilikumöl in 1%iger Konzentration. In Gemüse wirkt Basilikumöl auch gegen psychrotrophe Bakterien wie *Aeromonas hydrophila* und *Pseudomonas fluorescens* (WAN et al. 1998). Auch STECCHINI et al. (1993) untersuchten die Reaktion von *Aeromonas hydrophila* auf verschiedene Öle (Koriander-, Nelken-, Muskat- und Pfefferöl). Da Nelken- und Korianderöl in vitro die höchste Wirksamkeit zeigten, brachten sie das jeweilige Öl mit *Aeromonas hydrophila* angereichertem Fleisch zusammen, und lagerten es bei 2 und 10 °C. Bei beiden Temperaturen hemmte Nelkenöl das Wachstum stärker als Korianderöl. Eine 1%ige Nelkenöllösung hemmte in Rindfleisch das Wachstum von *Listeria monocytogenes* (TING u. DEIBEL 1992). Ein Jahr später erkannten STECCHINI et al. (1993) eine negative Auswirkung von Nelkenöl auf *Aeromonas hydrophila* in Schweinefleisch.

2.4.4 Etherische Öle und MAP eingesetzt in Lebensmitteln

MEIJHOLM und DALGAARD (2002) setzten etherische Öle und MAP bei Dorschfilet ein. Die von ihnen eingesetzte Schutzgasatmosphäre entsprach einem Gehalt von 60% CO_2 und 40% N_2. Als am stärksten wirksam zeigten sich Oregano– und Zimtöl. Die frischen Filets wurden enthäutet, anschließend das entsprechende Öl dazugegeben, verpackt und mikrobiologisch sowie sensorisch während der Lagerung untersucht. Der Einsatz einer 0,5%igen Oreganoöllösung verlängerte die Haltbarkeit von ursprünglich 12 Tagen auf 21-26Tage. Der Kräutergeschmack nahm während der Lagerung ab.

SALLAM et al. (2004) testeten Knoblauch in verschiedenen Konfektionierungen, um die unterschiedliche Wirksamkeit zu ermitteln. So brachten sie frischen Knoblauch,

Knoblauchöl und Knoblauchpulver in Geflügelrohwurst ein, verpackten diese im Vakuum und schlossen diesem Vorgang eine Lagerung bei 3 °C an. Die initiale aerobe Gesamtkeimzahl wurde ermittelt, sie betrug 4,41 log_{10}KbE/g. Nach 10 Tagen stieg der Wert bei allen Würsten knapp unter log_{10} 7 an. Dieser Wert wurde als obere Akzeptanzgrenze angenommen, so wie es auch vom ICMSF vorgeschlagen wurde (ICMSF 1986). Am letzten Beobachtungstag (Tag 21) wiesen die mit frischem Knoblauch behandelten Würste einen Wert von unter log 7 auf, ebenso diejenigen, zu denen Knoblauchpulver gegeben wurde, sie wiesen Keimzahlen auf, die sich nur knapp über den erstgenannten befanden. Die Keimzahlen der Kontrollen rangierten allesamt in einem Bereich über log 9. Das verwendete Knoblauchöl hatte hier keinen antimikrobiellen Effekt. Sensorisch wies die Lagerungsdauer keinen Einfluss auf die Akzeptanz der Rohwürste auf. Außerdem war ihre Konsistenz unabhängig von der Behandlung gleich. Den stärksten Knoblauchgeschmack, und damit die geringste Akzeptanz, war bei Würsten ermittelbar, die mit einer hohen Konzentration an frischem Knoblauch behandelt wurden.

SALLAM et al. (2004) wiesen ganz explizit darauf hin, dass die Akzeptanz eines Gewürzes stark abhängt von kulturellen und genetischen Einflüssen. So nehmen Menschen in wärmeren Breitengraden Lebensmittel, die stärker gewürzt sind, besser an, als Menschen, die aus kälteren Ländern stammen, da die Zubereitungsweise der Speisen in wärmeren Ländern durchaus ausgeprägter ist. Diese Meinung vertreten auch HAYOUNI et al. (2008). Sie untersuchten die Wirkung von Salbei und Pfefferbaumöl auf Salmonellen, die in Hackfleisch inokuliert wurden. Die Lagerung des Hackfleisches erfolgte für 15 Tage bei 4-7 °C in Polyethylenbeuteln. Die Kontrollen, zu denen statt Öl steriles Wasser gegeben wurde, wiesen nach 2 Wochen eine Keimzahl von etwa 4 log_{10}KbE/g Salmonellen auf. Durch den Einsatz von Salbei -und Pfefferbaumöl sanken diese Zahlen deutlich darunter. Sensorisch wurden beide Öle bis zu einer Konzentration von 3% akzeptiert, allerdings wurde das Hackfleisch vor dem Verzehr dampfgegart, so dass der Ölgeschmack weniger wahrnehmbar war als bei einem frischen Produkt.

Die Wirkung von Thymian-, Bohnenkraut- und Rosmarinöl auf *Listeria monocytogenes* testeten CARRAMINANA et al. (2008) an Hackfleisch. Das frisch gewolfte Hack-

fleisch wurde mit *Listeria monocytogenes* vermischt. Das Öl wurde dazugegeben, im Falle der Kontrollen kam Ethanol dazu, es folgte eine aerobe Lagerung bei 4 °C für 7 Tage. Thymian- und Bohnenkrautöl reduzierten den Keimgehalt um bis zu 3 Logstufen. Im Vergleich zur Ethanolkontrolle, mit Werten wie 8,47 log_{10}KbE/g, zeigten sich, besonders mit dem hier sehr erfolgreichen Thymianöl Werte wie 5,6 log_{10}KbE/g. Der Effekt trat schon früh während der Lagerung ein und hielt sich stabil. Kein signifikanter Effekt war bei Rosmarinöl zu erkennen. Anders als bei PANDIT und SHELEF (1994) sie testeten Rosmarinöl erfolgreich gegen *Listeria monocytogenes* in Schweineleberwurst. Es bleibt aber zu bedenken, dass die Menge des hier eingesetzten Öles (10-50 µl/g), die von CARRAMINANA et al. (2008) deutlich übersteigt. Des Weiteren wurden auch keine sensorischen Tests durchgeführt, so dass anzunehmen ist, dass diese Menge an Öl die Akzeptanz des Verbrauchers übersteigt.

Verschiedene MAP-Varianten und Ölkonzentrationen von Oregano untersuchten CHOULIARA et al. (2007) an frischer Hähnchenbrust. Die von ihnen verwandten MAP-Varianten waren 70% N_2 mit 30% CO_2 und 70% CO_2 mit 30 %N_2. Oreganoöl fand Anwendung in den Konzentrationen 0,1% und 1%. Nach Zugabe des Öles direkt zum Fleisch in Polyethylenbeutel, wurden diese mit der entsprechenden Schutzgasatmosphäre verschweißt und 25 Tage bei 4 °C gelagert. Auch hier wurde als Grenze der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl die vom ICMSF vorgeschlagenen log_{10}7 angewandt. Die Kontrollen erreichten diesen Wert bereits am 5. Tag. Der alleinige Einsatz von Schutzgasatmosphäre verlängerte die Haltbarkeit um 7 und 9 Tage. Der Einsatz von 0,1% Öl verlängerte die Zeit bis zum Erreichen der Obergrenze um 2 Tage, 1% Öl um 20 Tage. Die Kombination von 0,1% Öl mit den MAP Varianten zeigte einen verlängernden Effekt von 9 bis 10 Tagen. Am effektivsten war die Kombination von 1% Oreganoöl und MAP. Mit dieser Variante erzielte man eine Gesamtkeimzahl die bis zum Ende der Lagerung auf unter log_{10} 7 blieb. Bei der Untersuchung auf *Pseudomonas* spp. kam es zu ähnlichen Ergebnissen. So reduzierte der gemeinsame Einsatz von MAP und hoher Ölkonzentration den Keimgehalt um 4,4 bis 5 Logstufen. Der Einsatz von MAP und der niedrigen Konzentration zeigten eine Abnahme von 1 bis 2,4 Logstufen, so auch bei der Zugabe von 0,1% Oreganoöl ohne MAP, was darauf schließen lässt, dass hier das Öl der wirksame Faktor gegen

das Pseudomonadenwachstum ist. Gleiches lässt sich auch auf den Effekt der Behandlungen gegen *Lactobacillus sakei* und *Brochothrix thermosphacta* übertragen.
Tabelle 2 stellt die mikrobiologischen Ergebnisse bezüglich der aeroben Gesamtkeimzahl dar. In der mittleren Spalte ist ersichtlich, an welchem Lagerungstag die vom ICMSF festgelegte Höchstgrenze für die aeroben Keime erreicht wurde. Spalte 3 zeigt, um wie viele Tage sich die Haltbarkeit der Würste durch die jeweils angewandte Behandlung verlängerte. In Tabelle 3 ist dargestellt, wie sich *Brochothrix thermosphacta, Lactobacillus sakei* und *Pseudomonas fragi* am Tag 9 der Lagerung verhielten. Aufgeführt sind die verschiedenen Behandlungen und die Reduktion der Keimzahl.

Tabelle 2: Zusammenhang zwischen der Behandlung und dem Erreichen der festgelegten Höchstgrenze für die aerobe Gesamtkeimzahl und die Verlängerung der Haltbarkeit in Tagen

MAP1: CO_2 30%, N_2 70%
MAP2: CO_2 70%, N_2 30%

Behandlung	**Log_{10} 7 erreicht an Tag**	**Verlängerung der Haltbarkeit in Tagen**
aerob	5	2
MAP1	12	7
MAP2	14	9
0,1% Oreganoöl	7	2
1% Oreganoöl	25	20
0,1% + MAP1	14	9
0,1% + MAP2	15	10
1% + MAP1 oder 2	nicht erreicht	

Tabelle 3: Effekt der Behandlungen auf das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus sakei* und *Pseudomonas fragi* gemessen an Tag 9 der Lagerung

0,1%: Oreganoöl
1%: Oreganoöl
MAP1: CO_2 30%, N_2 70%
MAP2: CO_2 70%, N_2 30%

	Log 10 an Tag 9		
Behandlung	**B. thermosphacta**	**L. sakei**	**P. fragi**
aerob	7,2	7	7,2
MAP1	5,8	6,5	6,2
MAP2	5,2	5,2	5,1
0,10%	6,5	6	5,3
0,10% + MAP1	3,9	<1	5,8
0,10% + MAP2	5	5,3	4,8
1%	<2	5,1	2,3
1% + MAP1	<2	<1	2,8
1% + MAP2	<2	<1	<2

2.4.5 Muskatöl

Die zu den Muskatnussgewächsen (*Myristicaceae*) gehörende Muskatnuss (*Myristica fragrans*) wird von einer fleischigen Hülle umgeben. Der Durchmesser der gesamten Frucht beträgt etwa 4-7 cm, sie ist zweilappig und enthält einen großen eiförmigen Samen, die Muskatnuss, die von einem unregelmäßig geschlitzten Samenmantel umgeben ist. Nach der Entfernung des Fruchtfleisches werden die Samen getrocknet. Ihre Oberfläche ist leicht gefurcht (GERHARDT 1994). Beheimatet ist die Muskatnuss auf den Molukken, auch Gewürzinseln genannt. Hauptanbaugebiete sind beispielsweise Indonesien, Grenada, Südindien, Malaysia und Madagaskar. Angewandt werden die Muskatnüsse ganz, gemahlen oder als Öl.

Gleiches gilt für die Verwendungsformen der Muskatblüte. Ihr Geruch ist kräftig und würzig. Der Geschmack ist leicht brennend und schwach bitter. Die Analyse der Muskatnuss ist festgehalten in der ISO-Norm 6577. Eine Muskatnuss enthält etwa 7% bis 16% etherisches Öl. Hauptkomponenten sind die Monoterpenkohlenwasserstoffe α-Pinen und β-Pinen (LAWRENCE 1990). In kleineren Mengen kommen auch Eugenol und Borneol vor. Des Weiteren enthält das Öl noch geruchsbestimmendes Myristicin und Sabinen, Triterpene, Gerbstoffe und Stärke.

Muskatnuss wirkt appetitanregend, verdauungsfördernd und antimikrobiell (DORMAN u. DEANS 2000). Studien bestätigen auch eine antidiarrhoische Wirkung bei Morbus Crohn Patienten (SHAFRAN 1976), antiphlogistische und analgetische (OLAJIDE et al. 1999) und antithrombotische Wirkungen (JANSSENS 1990). Lokal appliziert wird auch eine antitumorale Effektivität beschrieben (HUSSAIN u. RAO 1991). In Lebensmitteln als Gewürz findet die Muskatnuss Anwendung in verschiedenen Fleischspeisen, Gemüsezubereitungen, Aufläufen, Suppen, Pastagerichten und Süßspeisen. Wegen des durchdringenden Geschmacks ist sie sehr vorsichtig zu dosieren. Bei Einsatz der als Gewürz üblichen Dosen besteht nach bisherigen Erkenntnissen keine Toxizität (HALLSTRÖM 1997).

2.4.6 Nelkenöl

Die Nelke, auch Gewürznelke genannt (*Syzygium aromaticum*), ist ein bis zu 20 m hoher immergrüner Baum und gehört zur Familie der Myrtengewächse (*Myrtaceae*). Die zahlreichen Blütenknospen werden etwa 2,5 cm lang und 1 cm dick. Sie besitzen einen vierkantig gerundeten, stielartigen Fruchtknoten, der über dem oberen Ende zipfelig abstehende vier Kelchblätter mit einem kugeligen Köpfchen (4-5 mm im Durchmesser) aufweist. Die zuerst olivgrünen Knospen der endständigen Trugdolde färben sich in der Reifezeit rötlich, nach dem Trocknen rötlich-braun bis schwarzbraun. Die Ernte erfolgt durch Pflücken oder durch Abschlagen der Knospen (GERHARDT 1994). Beheimatet ist die Nelke auf der Inselgruppe der Molukken. Hauptanbaugebiete und damit auch Hauptlieferanten sind Indonesien, Tansania, Madagaskar, Sri Lanka und La Réunion.

Als Nelkenöl gehandelt werden Nelkenblütenöl, Nelkenstielöl und Nelkenblätteröl. Der Geruch der Nelke ist charakteristisch warm, würzig und süß. Der Geschmack wird als würzig bis brennend beschrieben. Der Gehalt an etherischem Öl macht zwischen 15% und 21% aus. Die Inhaltsstoffe des Öles variieren, wie bereits erwähnt, stark. Hauptinhaltsstoff ist Eugenol, dessen Gehalt schwankt zwischen 70% und 90% des Öls. Aceteugenol macht etwa 17% davon aus, darauf folgt der Gehalt an β-Caryophyllen mit 5% bis 12% im Öl. In sehr geringen Mengen liegen unter anderem noch Gerbstoffe, Flavonoide Triterpene und Phenolcarbonsäuren vor.

Als Qualitätsprobe drückt man die Knospen (TEUSCHER 2003). Bei einwandfreier Ware tritt etherisches Öl aus. Nelken guter Qualität schwimmen senkrecht auf der Wasseroberfläche, weniger gute liegen waagerecht auf. Zur Prüfung liegt außerdem noch die ISO-Norm 2254 vor.

Nelken und ihr Öl gelten als appetitanregend und verdauungsfördernd (PLATEL u. SRINIVASAN 1996). Sie hemmen Spasmen des Darmtraktes, fördern die Schleimproduktion im Magen und senken die Schmerzintensität bei Migränepatienten (ZAIDI u. SINGH 1958). Das Öl wirkt antimikrobiell, antimykotisch und antiphlogistisch (MARTINEZ et al. 1998; CHUANG et al. 2000; DORMAN u. DEANS 2000). Eugenol ist von der FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, USA) als Lebensmittelzusatzstoff zugelassen worden. Der ADI-Wert (acceptable daily intake) wurde mit 2,5

mg Eugenol/kg Körpergewicht festgelegt (DEININGER 1991). Als Gewürz findet die Nelke Anwendung in zahlreichen Speisen, wie Konditorwaren, Süßspeisen, Marinaden, Suppen, Soßen, Fleisch- und Fischprodukten.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Material-Vorversuche

3.1.1 Bakterienstämme

Die für die in vitro Versuche eingesetzten Bakterienstämme wurden bezogen von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ). Verwendet wurden *Brochothrix thermosphacta* (DSM Nr. 20171), *Lactobacillus sakei* (DSM Nr. 6333) und *Pseudomonas fragi* (DSM Nr. 3456).

3.1.2 Etherische Öle

Die etherischen Öle wurden bezogen von der Firma Josefa Dürolf GmbH, Grünberg. Es handelte sich dabei um naturreines Muskatöl (Charge 04, Artikelnummer 741-000) und Nelkenöl (Charge 038, Artikelnummer 741-515). Das Muskatöl wurde durch Wasserdampfdestillation der zerkleinerten Früchte von *Myristica fragrans* gewonnen. Auch das Nelkenöl wurde durch Wasserdampfdestillation vorwiegend aus Blütenstielen und Blättern von *Eugenia caryophyllata* syn. *Syzigium aromaticum* hergestellt.

3.2 Material-Hauptversuche

Etherische Öle siehe **Material-Vorversuche**

3.2.1 Wurst

Die Herstellung der Brühwurst erfolgte im Technikum des Institutes für Lebensmittelqualität und -sicherheit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover unter der Anleitung eines Fleischermeisters. Die Zutaten entsprachen den Leitsätzen für Fleisch- und Fleischerzeugnisse (BMVEL 2003), nämlich grob entsehntem Rindfleisch, grob entfettetem Schweinefleisch, fettgewebsreichem Schweinefleisch und Speck, um eine feinzerkleinerte Brühwurst vom Typ Mortadella der Spitzenqualität herzustellen.

3.3 Methoden-Vorversuche

3.3.1 Anzucht und Aufbewahrung der Bakterienstämme

Die als gefriergetrocknetes Lyophilisat gelieferten Mikroorganismen wurden gemäß der Anleitung der DSMZ angezüchtet, um anschließend in das Mikrobank^{TM}-System

überführt zu werden. Die Mikrobank™-Röhrchen wurden unter sterilen Bedingungen geöffnet und Kolonien aus der Reinkultur in den Kryopuffer inokuliert. Anschließend wurde die Kryoröhrchen verschlossen und der Inhalt durch mehrmaliges Umdrehen vermischt, so dass die Bakterien sich an der porösen Oberfläche der Kügelchen festsetzen konnten. Danach wurde die Röhrchen bei -80 °C eingelagert. Vor jedem Versuchsdurchgang wurde eine neue Arbeitskultur angelegt. Dazu wurde ein Ausstrich mit einem Kügelchen des benötigten Stammes auf Mueller-Hinton-Agar, beziehungsweise für *L. sakei* auf de Man-Rogosa-Sharpe-Agar (MRS-Agar) angefertigt und über 48 Stunden bei der für das Bakterium optimalen Temperatur inkubiert. Diese lag für *Br. thermosphacta* und *Ps. fragi* bei 25 °C, für *L. sakei* bei 30 °C. Danach wurden Kolonien mittels einer Öse für 24 Stunden in BHI-Nährbouillon überführt.

3.3.2 Herstellung von Lösungen der Öle

Ein Liter Nutrient Broth No. 2 (Fa. Oxoid) wurde nach den Angaben der Firma Oxoid hergestellt. Zur Vermeidung von Staubpartikeln in der Nährlösung wurden zunächst 500 ml Aqua dest. durch einen Trichter mit zwei ineinander gesteckten Filtern (Fa. Selecta, Durchmesser 15 cm) in die Flasche mit dem Pulver gegossen und bis zur vollständigen Lösung mit einem Magnetrührstab gerührt.

Der Trichter wird abgenommen. Um die Löslichkeit des Öles zu erhöhen, wurden 5 ml Tween 80 zugefügt und solange gerührt bis die Lösung gelb-klar war. Die Entwicklung einer Schaumkrone ist dabei normal. Die restliche Menge an Aqua dest. wurde dazugeben und nach erneutem Rühren wurde die Lösung gemäß der Herstellerangeben für Nutrient Broth No. 2 autoklaviert. Nach dem Autoklavieren wurde die Lösung, in noch heißem Zustand, 10 min. weitergerührt, damit sich das Tween 80 nicht absetzen und nach Erkalten am Boden festklebt.

Jegliche Gefäße wurden vor Verwendung mit Aqua dest. gespült, um Staubpartikel in den Flüssigkeiten zu verhindern.

Nachdem die Lösung auf etwa Handwärme abkühlte, wurden mittels einer Glaspipette 10 ml abgenommen und in einen sterilen Erlenmeyerkolben gegeben. Das jeweilige Öl wurde ebenfalls in sterile Erlenmeyerkolben gegeben. Nelken- und Muskatöl wurden in 1%iger Konzentration in die Nährlösung gegeben. Zusätzlich wurde eine 1:1 Kombination aus beiden Ölen hergestellt, um sie ebenfalls in die Nährlösung zu

geben. Die Erlenmeyerkolben, in denen sich die Öle befanden, wurden nun mit der vorher abgenommenen Nährlösung gespült und diese Flüssigkeit anschließend zur Nährlösung mit dem Öl dazu pipettiert. Die so entstandene Stammlösung ließ man 10 min mit dem Magnetrührer rühren. Nach 36 Stunden bei einer Temperatur von 37°C waren die Öle gelöst. Während dieser Zeit wurden die Stammlösungen mehrmals für ca. 5 min gerührt.
Nach der vollständigen Lösung wurden je 10 ml Stammlösungen in Rotabilo® Zentrifugenröhrchen abpippetiert und bei – 18 °C eingefroren.

3.3.3 Vorbereitung der Keimsuspension

Die für die Belegung der Mikrotiterplatten nötige Keimsuspension wurde am Vortag hergestellt. Eine Öse voll Koloniematerial wurde in 5 ml BHI-Bouillon gegeben und für 24 Stunden bei 25 °C (*Br. thermosphacta*, *Ps. fragi*) beziehungsweise 30°C (*L. sakei*) inkubiert. Nach Ablauf der 24 Stunden wurde gemäß DIN EN ISO 6887-Teil 1 eine dezimale Verdünnungsreihe bis 10^{-2} angelegt. So enthielt die Keimsuspension ca. 10^6 KbE/ml. Dieses wurde überprüft indem auch hier eine dezimale Verdünnungsreihe im Doppelansatz im Tropfplattenverfahren angelegt wurde.

3.3.4 Belegung der Mikrotiterplatten

Die erste vertikale Reihe der Mikrotiterplatte wurde mit 250 *µl* reiner Stammlösung des jeweiligen etherischen Öles oder der Kombination aus beiden pro Vertiefung belegt. Diese Reihe diente später der Ermittlung einer unerwünschten Verkeimung der Stammlösungen, das heißt als Reinheitskontrolle.
Auf die zweite vertikale Reihe entfielen pro Vertiefung 200 *µl* Nutrient Broth No. 2 Nährlösung und 50 *µl* Keimsuspension. Die Vertiefungen der dritten vertikalen Reihe enthielten statt reiner Nährlösung noch Tween 80 in 0,5%iger Konzentration. Diese beiden Reihen sollten das ungehemmte Wachstum, beziehungsweise das Wachstum unter Einfluss von Tween 80 dokumentieren und waren somit Wachstumskontrollen, beziehungsweise sollten sie eine wachstumshemmende Wirkung von Tween 80 ausschließen. In die Vertiefungen der folgenden Reihen Vier bis Acht der Mikrotiterplatten wurden 200 *µl* Stammlösung und 50 *µl* Keimsuspension pipettiert. Die Konzentration der Öle lag bei 0,125%, 0,25%, 0,5%, 0,75% und 1%. Nach der Belegung wur-

den die Platten luftdicht mit klarer Folie (QPCR-Seal) abgeklebt und kamen für 24 Stunden in den Brutschrank. *B. thermosphacta* und *Ps. fragi* wurden bei 25°C, *L. sakei* bei 30°C inkubiert. Die folgende Abb.3 zeigt eine schematische Darstellung der Plattenbelegung. In Abb.4 ist die Belegung einer Mikrotiterplatte im Detail aufgeführt.

1	2	3	4	5	6	7	8
Reinheitskontrolle	Positivkontrolle	Kontrolle A	0,125%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
Reinheitskontrolle	Positivkontrolle	Kontrolle A	0,125%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
Reinheitskontrolle	Positivkontrolle	Kontrolle A	0,125%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
Reinheitskontrolle	Positivkontrolle	Kontrolle A	0,125%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
Reinheitskontrolle	Positivkontrolle	Kontrolle A	0,125%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
Reinheitskontrolle	Positivkontrolle	Kontrolle A	0,125%	0,25%	0,5%	0,75%	1%

Abbildung 3: Schematische Darstellung der Plattenbelegung

Reinheitskontrolle: Nur Öl
Positivkontrolle: Wachstum ohne hemmenden Einfluss (Bakt. + Nährlösung)
Kontrolle A: Ausschluss einer Wachstumshemmung durch des Lösungsvermittlers Tween 80
Reihe 4-8: unterschiedliche Konzentrationen der Öle

1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
A Öl ohne weitere Zusätze	Bakterien 50 *ul* Nährlösung 200 *ul*	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung + Tween 80	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,125%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,25%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,5%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,75%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 1%
B Öl ohne weitere Zusätze	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung 200 *ul*	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung + Tween 80	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,125%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,25%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,5%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,75%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 1%
C Öl ohne weitere Zusätze	Bakterien 50 *ul,* Nährlösung 200 *ul*	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung + Tween 80	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,125%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,25%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,5%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,75%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 1%
D Öl ohne weitere Zusätze	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung 200 *ul*	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung + Tween 80	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,125%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,25%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,5%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,75%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 1%
E Öl ohne weitere Zusätze	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung 200 *ul*	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung + Tween 80	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,125%	Bakterien 50 *ul,* Stammlösung 0,25%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,5%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,75%	Bakterien 50 *ul,* Stammlösung 1%
F Öl ohne weitere Zusätze	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung 200 *ul*	Bakterien 50 *ul*, Nährlösung + Tween 80	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,125%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,25%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,5%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 0,75%	Bakterien 50 *ul*, Stammlösung 1%

Abbildung 4: Belegung der Mikrotiterplatten im Detail

3.3.5 Ermittlung der Ausangskeimzahl

Nach Beendigung der Inkubation wurden aus jeder vertikalen Reihe der Mirkotiterplatte und somit aus jeder Stammlösungsverdünnungstufe 100 µl aus einem Well heraus pipettiert. Es wurde eine dezimale Verdünnungsreihe angelegt, um anschließend die Keimzahl mittels Tropfplattenverfahren gemäß DIN EN ISO 6887-Teil 1 bestimmen zu können. Es wurde jeweils im Doppelansatz gearbeitet. *Brochothrix thermosphacta* und *Pseudomonas fragi* wurden auf Standard-I-Agar, *Lactobacillus sakei* auf MRS-Agar untersucht. Die Platten wurden in 4 Sektoren unterteilt, auf jeden Sektor wurden 50 µl Suspension aufgetragen.

Br. thermosphacta und *Ps. fragi* wurden bei einer Temperatur von 25°C aerob für 48 Stunden bebrütet. *L. sakei* wurde bei 30°C anaerob für 72 Stunden bebrütet.

Br. thermosphacta wuchs als cremig weiße ca. 1mm große erhabene, gut abgegrenzte Kolonien mit glänzender Oberfläche.

Ps. fragi wuchs als flache und glänzende Kolonien. Sie waren ca. 1mm groß, gelblich und hatten einen glatten Rand.

L. sakei wuchs als weiße ca. 0,5 bis 1mm große, gut abgegrenzte Kolonien.

3.4 Methoden Hauptversuche

3.4.1 Herstellung der Wurst

Zuerst wurde der Speck im Vakuumkutter (Modell K 64, Fa. Seydelmann) mit 3000 Umdrehungen pro Minute vorzerkleinert.

Für die spätere Zugabe wurde der Speck aus dem Kutter entfernt. Das vorher mit einem Gefrierfleischschneider grob zerkleinerte, gefrorene Magerfleisch wurde in den Kutter gegeben und 60 Sekunden mit 1500 Umdrehungen pro Minute weiter zerkleinert. Kutterhilfsmittel auf Phosphatbasis und Umrötehilfsmittel, hier Ascorbat, wurden eingestreut und mit einem Drittel des Eises optimal verteilt. Das Nitritpökelsalz wurde in den Kutter gegeben. Bei Erreichen einer Temperatur von 0 °C wurde der vorzerkleinerte Speck dazugegeben und gekuttert bis er eine Temperatur von 6 °C erreichte. Anschießend kamen ein weiteres Drittel Eis und die Gewürze, in einer, im Vergleich zur herkömmlichen Rezeptur modifizierten Form, dazu. Es folgte wieder das Kuttern bis zu 6 °C, in dieser Zeit konnten sich die einzelnen Komponenten optimal

mischen. Als letzter Schritt wurde das letzte Drittel Eis hinzugegeben und solange bei 3000 Umdrehungen pro Minute gekuttert, bis das Brät 12 °C erreichte (BRAUER 2004). Mit einem Vakuumfüller (Modell VF 612, Fa. Handtmann) wurden die Kunstdarmhüllen Kaliber 60 (Fa. Nanotop) befüllt und mittels poly-clip® (Poly-Clip GmbH & Co KG) verschlossen. Um anschließend in einer Kombikammer (Modell RZ 325 114, Fa. Fessmann) 70 Minuten bis zu einer Kerntemperatur von 70 °C gebrüht zu werden. Nach dem Brühen wurden die Brühwürste bei 7 °C gelagert.

3.4.2 Verpacken der Wurstscheiben gemeinsam mit etherischem Öl

Unmittelbar vor dem Verpacken wurden die Brühwürste in ca. 1 cm dicke Scheiben geschnitten und jeweils vier davon gemeinsam in eine herkömmliche Plastikschale, wie sie zum Verpacken von Fleisch und Fleischprodukten genutzt wird, verpackt. Sie wurden auf ein MEATPAD (Fa. McAirlaids) gelegt, welches vorher mit 5 ml der jeweiligen Öllösung bzw. 5ml Kochsalzlösung als Kontrolle beträufelt wurde. Das MEATPAD bestand aus drei Schichten verschiedener Zellstoffe und SAF (superabsorbierende Fasern).

Die Verpackung der Versuchschargen erfolgte mit einer Vakuum-Verpackungsmaschine VC999 (Inauen Maschinen AG, Herisau, Schweiz). So konnte eine praxisnahe Verpackung des hergestellten Brühwurstaufschnittes gewährleistet werden. Die Maschine entzog der Verpackung die Luft, stellte also vorerst ein Vakuum her, begaste sie dann mit der Schutzgasatmosphäre, in diesem Fall 70% N_2, 30% CO_2, eine handelsübliche Schutzgasatmosphäre für Aufschnitt, und verschweißte dann schließlich die Verpackung luftdicht.

3.4.3 Lagerung der Wurstscheiben

Die Lagerung der unter der modifizierten Atmosphäre verpackten Brühwurstscheiben erfolgte in einem Kühlraum unter Gewährleistung einer konstanten Temperatur von 7°C +/- 0,5°C. Die Temperatur wurde täglich mit einem probennah angebrachten Thermometer überprüft. Die Lagerungsdauer umfasste einen Zeitraum von 21 Tagen. Während der gesamten Lagerungszeit wurden die Proben mikrobiologisch, physikalisch und chemisch überprüft.

Auf Überprüfung der Gaskonzentration wurde verzichtet, da keine großen Verluste zu erwarten waren (STROTMANN 2006).

3.4.4 Mikrobiologische Untersuchungen

Die mikrobiologischen Untersuchungen erfolgten auf der Basis der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB.

3.4.4.1 Aerobe mesophile GKZ

Zur Bestimmung der aeroben, mesophilen Gesamtkeimzahl wurde das Verfahren der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, L 06.00-18 herangezogen. Es handelt sich hierbei um ein Referenzverfahren zur Bestimmung der Anzahl vegetativer, aerober Mikroorganismen und ist anwendbar bei Fleisch und Fleischerzeugnissen sowie Erzeugnissen mit einem Zusatz von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Angewandt wurde das Plattengussverfahren. Im Doppelansatz wurden je 1 ml des Homogenisates und jeder Verdünnungstufe in eine leere Petrischale pipettiert und im Anschluss mit 15 bis 20 ml geschmolzenem nicht selektivem Stanard-I-Agar überschichtet. Dieser wurde gründlich mit dem Homogenisat vermischt. Die Bebrütung der Platten erfolgte aerob für 72 Stunden bei 30°C. Anhand der gezählten Kolonien wurde die Anzahl der Koloniebildenden Einheiten pro cm^2 durch die Formel nach FARMILOE, als gewichtetes arithmetisches Mittel berechnet.

Farmiloe`sche Formel:

$$\overline{c} = \frac{\Sigma c}{n1 \times 1 + n2 \times 0{,}1} \times d$$

$\overline{c}$ gewogener arithmetischer Mittelwert der Koloniezahlen

$\sum c$ Summe der Kolonien aller Platten, die zur Berechnung herangezogen werden (niedrigste und nächsthöhere auswertbare Verdünnungsstufe)

$n1$ Anzahl der Platten der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe

$n2$ Anzahl der Platten der nächsthöheren auswertbaren Verdünnungsstufe

d Verdünnungsfaktor der niedrigsten ausgewerteten Verdünnungsstufe

3.4.4.2 *Brochothrix thermosphacta*

Die amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB beschreibt kein Verfahren für die Bestimmung von *Brochothrix thermosphacta.* Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an HECHELMANN (1981).

Im Doppelansatz wurden jeweils 0,1 ml der verdünnten Probe im Spatelverfahren auf Streptomycin-Inostit-Neutralrot-Agar (SIN-Agar) gegeben. Die Bebrütung erfolgte 48 Stunden bei 25 °C. Ausgezählt wurden rotviolette Kolonien.

3.4.4.3 *Lactobacillus sakei*

Zur Bestimmung der Laktobazillen wurde das Verfahren der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, L 06. 0031 herangezogen. Es handelt sich hierbei um ein Referenzverfahren, welches anwendbar ist auf Fleisch, Fleischerzeugnisse sowie Erzeugnissen mit Zusatz von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Es wurde das Spatelverfahren angewandt. Dabei werden im Doppelansatz 0,1 ml der dezimalen Verdünnungsreihe auf die Agarplatten mit dem selektiven Nährboden pipettiert.

Unter anaeroben Bedingungen wurden die Platten bei einer Temperatur von 30 °C für 72 Stunden bebrütet. Anhand der gewachsenen Kolonien wurden die Anzahl der Laktobazillen pro cm^2 nach der oben beschriebenen Formel berechnet.

3.4.4.4 *Pseudomonas fragi*

Für den Nachweis von *Pseudomonas fragi* wurde GSP-Agar eingesetzt. Diese Methode wurde von PICHARDT (1998) sowie BOHNSACK und HÖPKE (1990) beschrieben.

Im Doppelansatz wurden jeweils 0,1 ml der verdünnten Probe im Spatelverfahren auf Glutaminat-Stärke-Phenolrot-Agar (GSP-Agar nach KIELWEIN) gegeben. Die Bebrütung erfolgte 48 Stunden bei 25 °C. Ausgezählt wurden rotviolette Kolonien.

Die Keimzahl je g bzw. ml der Probe wurde durch Multiplikation des c -Wertes mit den Verdünnungsfaktoren (Verdünnung und Plattenverdünnung) ermittelt. Das Ergebnis wurde auf eine Dezimalstelle nach dem Komma gerundet und als eine Zahl zwischen 1,0 und 9,9 multipliziert mit der entsprechenden Zehnerpotenz angegeben.

Alle ermittelten Keimzahlen (KbE/ml bzw. KbE/g) wurden für die Darstellung der Ergebnisse zur Basis Zehn logarithmiert (lg KbE/ml bzw. lg KbE/g) und auf zwei Dezimalstellen nach dem Komma gerundet. Die niedrigste Verdünnungsstufe lag bei 1,00 x 10^{-1}. Dies entsprach beim Tropfplattenverfahren einer niedrigsten Plattenverdünnungsstufe von 5,00 x 10^{-3} (0,05 ml pro Plattensektor). Damit ergab sich durch Kehrwertbildung (1 / [5,00 x 10^{-3}]) eine Nachweisgrenze von 2,00 x 10^{2} KbE/ml = 2,30 lg KbE/ml. Für Proben, bei denen die Keimzahl unterhalb dieser Nachweisgrenze lag, wurde als absoluter Wert die Hälfte von 2,00 x 10^{2} KbE/ml, also 1,00 x 10^{2} KbE/ml, angenommen. 1,00 x 10^{2} KbE/ml wurde zur Basis Zehn logarithmiert, womit sich ein Wert von 2,00 lg KbE/ml ergab. Beim Spatelverfahren lag die Nachweisgrenze bei 1,00 x 10^{2} KbE/ml = 2,00 lg KbE/ml. Für Keimzahlen kleiner als die Nachweisgrenze wurde mit 5,00 x 10^{1} KbE/ml = 1,70 lg KbE/ml die halbe Nachweisgrenze festgelegt. Die Nachweisgrenze im Gussplattenverfahren lag bei 1,00 x 10^{1} KbE/ml = 1,0^{0} lg KbE/ml. Werte, die unterhalb der Nachweisgrenze lagen, wurden mit dem halben Wert, also 5,00 x 10^{0} KbE/ml = 0,70 lg KbE/ml, angegeben.

3.4.5 Physikalische Untersuchungen

Die Bestimmung der Werte erfolgte gemäß der Vorgaben der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, L06.00-2 (ANONYM 2006a).

3.4.5.1 pH

Vor jedem Messdurchlauf wurde die Eichung des Gerätes (pH-Meter, Portamess®651-2, Fa. Knick, Berlin) mit zwei Eichlösungen von pH 7 und pH 4 vorgenommen. Die Messung erfolgte durch das Einstechen der Glaselektrode in das Probenmaterial. Untersucht wurden 2 Proben jeder Behandlungsvariante. Eine Messung erfolgte am Herstellungstag sowie an den Lagerungstagen 2, 7, 10, 14 und 21.

3.4.5.2 L*a*b

Die L*a*b-Farbmessung erfolgte nach der Methode der CIE (Comission Internationale de l`Eclairage) unter Verwendung des Spektrophotometers CM-2002, Fa. Minolta Camera Co. Ltd., Osaka/Japan im Dreiviertelverfahren. Hierbei entspricht L* der Farbhelligkeit, a* dem Rotwert bzw. Grünwert und b* dem Gelbwert bzw. Blauwert. Die photometrische Messung der Probe erfolgte unmittelbar nach Öffnen der unter

Schutzgas verpackten Probe. Vor jeder Messung wurde das Gerät mit einem Weißstandard kalibriert. Die Farbemission der Proben wurde photometrisch durch das Messgerät bei standardisierter Beleuchtung gemessen (Normlicht D 65, Betrachtungswinkel 10°). Es wurden pro Probe fünf Messpunkte erfasst und ein Mittelwert gebildet. Die Messung erfolgte unter Glanzeinschluss in einem Wellenbereich von 400-700 nm mittels Xenon-Blitzröhre. Gemessen wurden die Probenvarianten im Doppelansatz an den Lagerungstagen 1, 8 und 15.

3.4.5.3 a_W-Wert

Der a_w-Wert (= Wasseraktivität) ist das Maß für das frei verfügbare Wasser in einem Lebensmittel. Er ist definiert als der Quotient des Wasserdampfdruckes über einem Material (p) zu dem Wasserdampfdruck über reinem Wasser (p0) bei einer bestimmten Temperatur.

Der Wert wurde gemessen mit einem a_w-Kryometer (Fa. Nagy Messsysteme Gmbh, Gäufelden, Typ AWK-10). Als Kühlmittel wurde Ethanol 99,8% (Art. Nr. 5054.1, Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe) verwendet. Vor jeder Messung erfolgte die Kalibrierung mit 5%iger NaCl-Lösung (Art. Nr. 9265, Fa. Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe). Die Messung erfolgte im Doppelansatz an den Lagerungstagen 1, 8 und 15.

3.4.6 Chemische Untersuchungen

In der vorliegenden Untersuchung wurde eine chemische Vollanalyse gemäß LFGB § 64 amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren von zwei Proben pro Versuchsdurchgang am Herstellungstag durchgeführt. Die einzelnen Bestandteile der chemischen Vollanalyse sind im Folgenden in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Darstellung der Untersuchungsverfahren im Rahmen der chemischen Vollanalyse und der Stelle in der amtlichen Sammlung, an dem das jeweilige Verfahren festgehalten ist

Untersuchungsverfahren	Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren § 64
Trockensubstanz	L 06.00 3
Asche	L 06.00 4
Gesamtfett	L 06.00 6
Gesamtweiß (= Rohprotein)	L 06.00 7
Hydroxyprolin	L 06.00 8

3.4.7 Sensorische Untersuchungen

Die sensorischen Untersuchungen der Produkteigenschaften Geruch und Geschmack wurden gemäß DIN ISO Norm 6564 durchgeführt. Die Proben wurden an den jeweiligen Untersuchungstagen von 10 geschulten Panelisten geprüft. Dabei wurden alle Proben mit für den Prüfer unbekannten Ölkonzentrationen gegen den bekannten Standard verglichen. Auf einer Skala von 1 – 5 bewerteten sie die Intensität des Unterschiedes der Merkmale. Eine sensorische Untersuchung erfolgte an den Tagen 2, 6, 9 und 14.

3.4.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe des SAS (Statistical-Analysis-System) Programms für Windows, Version 8 (SAS Institute INC., Cary NC, USA), im Institut für Biometrie und Epidemiologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover.

Für die statistische Auswertung wurden die Daten auf Normalverteilung überprüft. Daraufhin wurde für die Vorversuche eine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt (PROC GLM, Tuckey Test) und dabei über die Stufen des jeweiligen Faktors summiert. Für die Hauptversuche wurde eine dreifaktorielle Varianzanalyse (PROC SORT, PROC GLM, CLASS) für die mikrobiologischen Untersuchungen und eine einfaktorielle Varianzanalyse für die sensorischen Untersuchungen (PROC GLM, TUKEY-Test) angewandt. Die in dieser Arbeit berücksichtigten Faktoren waren die entsprechenden Chargen aus Vor- und Hauptversuchen an den Untersuchungsta-

gen. Zur Bestimmung eventueller Signifikanzen innerhalb der Faktoren wurden T-Tests zur Berechnung verwendet (LSMEANS/TUKEY-Test). Es wurde ein vergleichsbezogenes Signifikanzniveau herangezogen. Dabei wurden Differenzen mit $p \leq 0{,}05$ als signifikant angesehen. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte in Form von Mittelwerten (MW) der Einzelwerte.

4 Ergebnisse

In den Vorversuchen wurden zwei verschiedene etherische Öle (Muskat- und Nelkenöl) und eine Kombination beider Öle, sowie eine Positivkontrolle und eine Kontrolle mit Tween 80 bezüglich ihres Einflusses auf das Wachstum der drei verschiedenen Verderbniserreger *Brochothrix thermosphacta, Lactobacillus sakei* und *Pseudomonas fragi* untersucht. Tween 80 fungierte hierbei als Lösungsvermittler, um die etherischen Öle in wässrigem Medium in Lösung bringen zu können. Bei den Reinheitskontrollen der Öle konnte kein Wachstum von Keimen aufgrund von Verunreinigungen festgestellt werden. Bei allen Vorversuchen zeigte sich der Einfluss der Konzentration als höchst signifikant ($p<0,001$).
Im Lagerungsversuch wurde der Einfluss verschiedener Ölkonzentrationen und einer Kochsalzkontrolle bei einer Lagerungstemperatur von 6°C +/- 0,5°C auf die Bakterien untersucht. Dabei wurden die Wurstproben mit den Ölen unter Schutzgasatmosphäre verpackt und verschweißt. Bevor die Proben in die Verpackung hineingelegt wurden, wurde ein Fließ auf den Boden der Verpackungsschalen gelegt und mit entsprechender Öl- oder Kochsalzlösung beträufelt. Ist im Text eine Reduktion oder Hemmung der Keimzahl erwähnt, so handelt es sich bei dieser immer um eine Senkung des Keimwachstums im Vergleich zur Kontrolle/zum Standard. Ein signifikanter Einfluss der Konzentrationen zeigte sich in den seltensten Fällen.

4.1 Vorversuche

4.1.1 Brochothrix thermosphacta

Abbildung 5 zeigt die Ergebnisse des Wachstums von *Brochothrix thermosphacta* unter Einfluss der verschiedenen Ölkonzentrationen sowie der Positivkontrollen mit und ohne Zusatz von Tween 80 (Mittelwert +SD). Auf der x-Achse sind die Behandlungsvarianten als Buchstaben angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml) als Mittelwert aus n=6 untersuchten Proben dar.

Durchgehend zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Wachstum des Keimes mit Nährlösung (lg 9,2) und mit der mit Tween 80 angereicherten Nähr-

lösung (lg 8,8). Tween 80 hatte folglich keinen Effekt auf das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta*. Bei der Verwendung von Nelkenöl war bei der 0,125%igen und der 0,25%igen Konzentration keine signifikante Reduktion zu erkennen die Keimzahl betrug in diesen beiden Fällen lg 8,8 und 8,6. Eine 0,5% Nelkenöllösung zeigte eine signifikante Reduktion im Vergleich zu den anderen Konzentrationen; hier reduzierte das Öl um lg 6,5 im Vergleich zur Positivkontrolle. Die Reduktionen durch die Konzentrationen 0,75% und 1% waren nicht signifikant voneinander unterschiedlich. Sie reduzierten die Keimzahl zur Kontrolle um lg 7,2.

Das Anwenden von Muskatöl zeigte sowohl in der Positivkontrolle (lg 8,8), der Kontrolle mit Tween 80 (lg 8,8), als auch den Konzentrationen von 0,125% (lg 8,8) und 0,25% (lg 8,6) ein gleich bleibendes Wachstum. Hier war keine signifikante Reduktion zu beobachten. Anders bei den Konzentrationen von 0,5% und 0,75% Muskatöl, wo die Reduktion im Mittel bei einer Logstufe und lg 1,7 lag. Allein die 1%ige Lösung schaffte eine signifikant höhere Reduktion als die anderen um lg 2,8.

Die Kombination der Öle zeigte bereits bei einer Konzentration von 0,125% eine signifikante Reduktion von 1,6 Logstufen im Vergleich zur Positivkontrolle (lg 8,7). Kombilösung 0,5% sorgten für eine signifikante Reduktion der Keimzahl um den Faktor lg 4,5. Die Reduktion durch 0,75% und 1% unterschied sich nicht signifikant voneinander. Hier ergab sich je eine Reduktion um den Faktor lg 6,7. Nelkenöl schien das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta* effektiver einzudämmen, denn auch seine Kombination mit Muskatöl zeigte ähnliche Reduktionen, während die Werte bei alleiniger Anwendung von Muskatöl weniger hoch lagen.

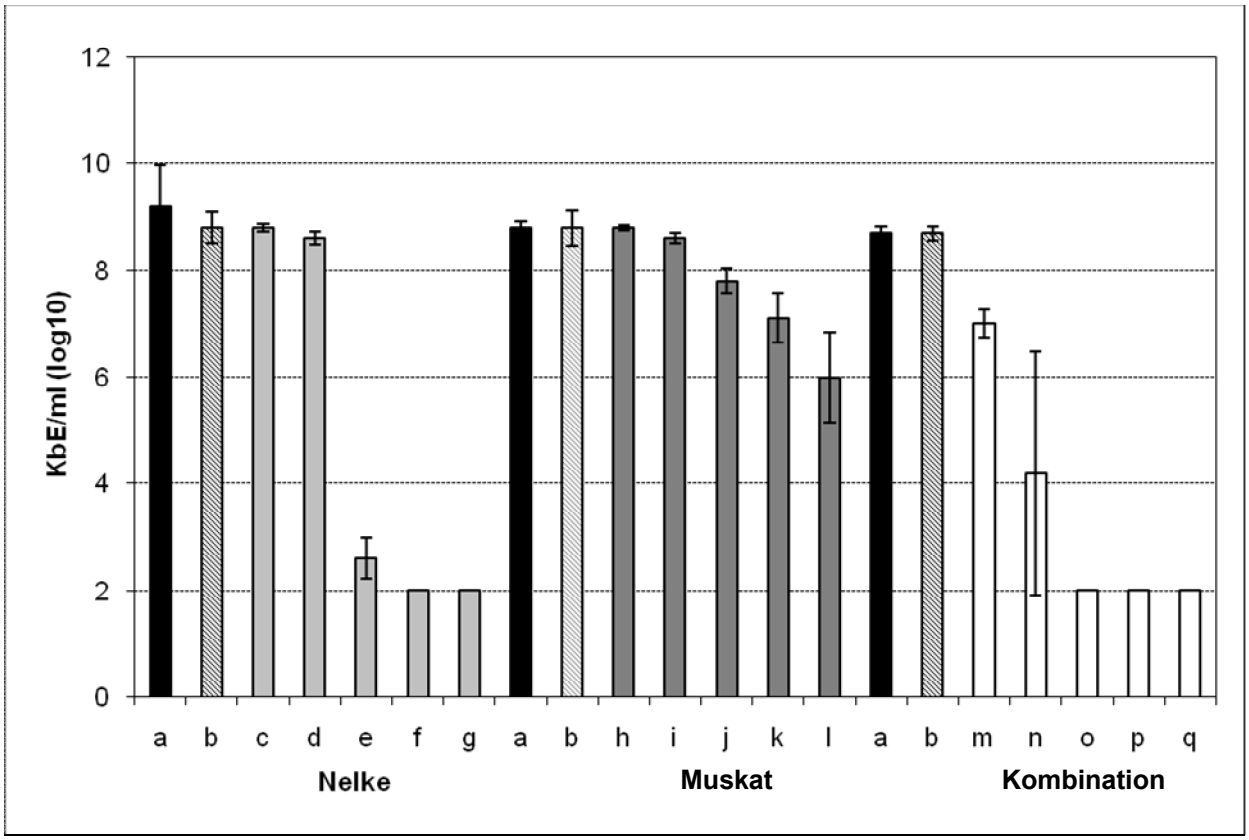

Abbildung 5: Wachstum von *Brochothrix thermosphacta* bei den verschiedenen Behandlungen, gemittelt über alle Chargen (n=6)

Behandlung: a= Positivkontrolle, b= Positivkontrolle mit Tween 80, c= Nelke 0,125%, d= Nelke 0,25%, e= Nelke 0,5%, f= Nelke 0,75%, g= Nelke 1%, h= Muskat 0,125%, i= Muskat 0,25%, j= Muskat 0,5%, k= Muskat 0,75%, l= Muskat 1%, m= Kombi 0,125%, n= Kombi 0,25%, o= Kombi 0,5%, p= Kombi 0,75%, q= Kombi 1%

Auf die Darstellung der signifikanten Unterschiede wurde hier aus Übersichtsgründen verzichtet. Sie sind in Abbildung 8 aufgeführt.

4.1.2 Lactobacillus sakei

Abbildung 6 zeigt die Ergebnisse des Wachstums von *Lactobacillus sakei* unter Einfluss der verschiedenen Ölkonzentrationen sowie der Positivkontrollen mit und ohne Einfluss von Tween 80 (Mittelwert +SD). Auf der x-Achse sind die Behandlungsvarianten als Buchstaben angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml) als Mittelwert aus n=6 untersuchten Proben dar.

Lactobacillus sakei wuchs in allen Chargen mit Tween 80 stärker als in der Positivkontrolle, wobei sich hier keine Signifikanz einstellte. Unter Einfluss von 0,125% Nelkenöl wuchs die Keimzahl im Mittel um den Faktor lg 0,16 weiter an. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der 0,25%igen Lösung, die das Wachstum um den Faktor lg 0,08 hemmte, zu den höheren Konzentrationen von 0,5% und 0,75%. Die Konzentrationen 0,5% und 0,75% zeigten im Mittel eine Reduktion der Keimzahl um 2,3 und 2,4 Logstufen im Vergleich zur Positivkontrolle, unterschieden sich also von den anderen Konzentrationen, nicht aber untereinander. Die zu den anderen Nelkenölkonzentrationen signifikant unterschiedliche 1%ige Lösung verursachte eine Reduktion um 5,3 Logstufen.

Auch bei den Versuchsdurchgängen mit Muskatöl stieg die Keimzahl bei den Kontrollen mit Tween 80 geringfügig um lg 0,1 mehr an als bei der Positivkontrolle. So hatte Tween 80 also auch hier keinen negativen Effekt auf das Keimwachstum. Im Mittel zeigte die Anwendung von 0,125%iger Muskatlösung eine Reduktion um lg 0,9, die sich signifikant von den weiteren Konzentrationen unterschied. Die Anwendung von 0,25% und 0,5% Muskatlösung führten zwar zu einer Reduktion der Keimzahl (lg 1,4 und 1,7), beide waren aber nicht signifikant unterschiedlich zueinander. Eine ebenfalls nicht zueinander signifikant unterschiedliche Reduktion (lg 2,4 und 2,6), wohl aber signifikant unterschiedlich zu den anderen Konzentrationen von Muskatöl, zeigten die 0,75- und 1%igen Lösungen.

Die Kombination beider Öle sorgte in einer Konzentration von bereits 0,125% für eine signifikante Reduktion der Keimzahl um den Faktor lg 1,5. Deutlich signifikant davon unterschied sich die Reduktion durch 0,25%, die sich im Bereich um Logstufe 3,5 im Vergleich zum Standard war. Die Reduktionen durch 0,5%, 0,75% und 1% (alle lg 5,3) unterschieden sich nicht untereinander, jedoch von den niedrigeren.

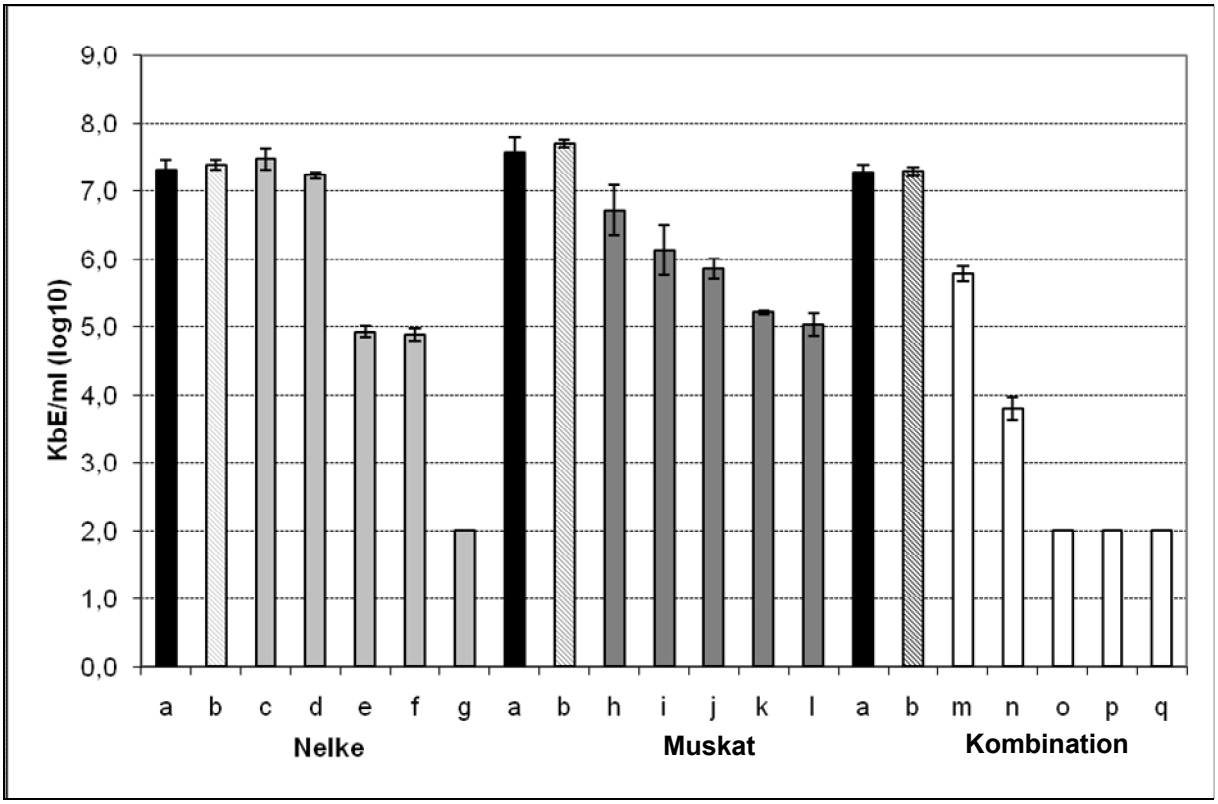

Abbildung 6: Wachstum von *Lactobacillus sakei* bei den verschiedenen Behandlungen, gemittelt über alle Chargen (n=6)

Behandlung: a= Positivkontrolle, b= Positivkontrolle mit Tween 80, c= Nelke 0,125%, d= Nelke 0,25%, e= Nelke 0,5%, f= Nelke 0,75%, g= Nelke 1%, h= Muskat 0,125%, i= Muskat 0,25%, j= Muskat 0,5%, k= Muskat 0,75%, l= Muskat 1%, m= Kombi 0,125%, n= Kombi 0,25%, o= Kombi 0,5%, p= Kombi 0,75%, q= Kombi 1%

Auf die Darstellung der signifikanten Unterschiede wurde hier aus Übersichtsgründen verzichtet. Sie sind in Abbildung 9 aufgeführt.

4.1.3 Pseudomonas fragi

Abbildung 7 zeigt die Ergebnisse des Wachstums von *Pseudomonas fragi* unter Einfluss der verschiedenen Ölkonzentrationen sowie der Positivkontrollen mit und ohne Einfluss von Tween 80 (Mittelwert, ±SD). Auf der x-Achse sind die Behandlungsvarianten als Buchstaben angegeben, die y-Achse stellt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml) als Mittelwert aus n=6 untersuchten Proben dar.

Der Einsatz von 0,125%iger Nelkenöllösung brachte keine signifikante Reduktion im Vergleich zur Positivkontrolle, ebenso wenig die Konzentration von 0,25%. Erstmals die Konzentration von 0,5%iger Nelkenlösung erzielte einen signifikanten Unterschied, sie reduzierte die Keimzahl auf einen Wert von lg 2, senkte diese also um 7,3 Logstufen im Vergleich zur Positivkontrolle. Diese unterschied sich allerdings nicht von 0,75% und 1%. Hier lag die Reduktion im Mittel ebenfalls bei lg 7,3.

Die Anwendung von Muskatöl zeigte bei *Pseudomonas fragi* die geringsten Reduktionswerte. Hier kam es zu einer geringen, wenn auch signifikant unterschiedlichen Reduktion der Keimzahl von lg 1 bei einer 0,125% Lösung. Davon signifikant unterschiedlich war die Reduktion von 0,25%, 0,5% und 0,75%iger Lösung (je lg 1,5 und 1,8). Die Reduktion durch 0,5%, 0,75% und 1%ige Lösung, sie lagen zwischen lg 1,5 und lg 1,9, unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Ein klareres Bild stellte sich bei Anwendung der Kombination ein. Hier reduzierten 0,125% Lösung die Keimzahl signifikant unterschiedlich um den Faktor lg 1,3, die 0,25%ige Lösung reduzierte um 4,7 Logstufen im Vergleich zum Standard. Ebenfalls signifikant unterschiedlich zum Standard waren die Konzentrationen 0,5%, 0,75% und 1%. Sie reduzierten die Anzahl koloniebildender Einheiten um 7,1 Logstufen.

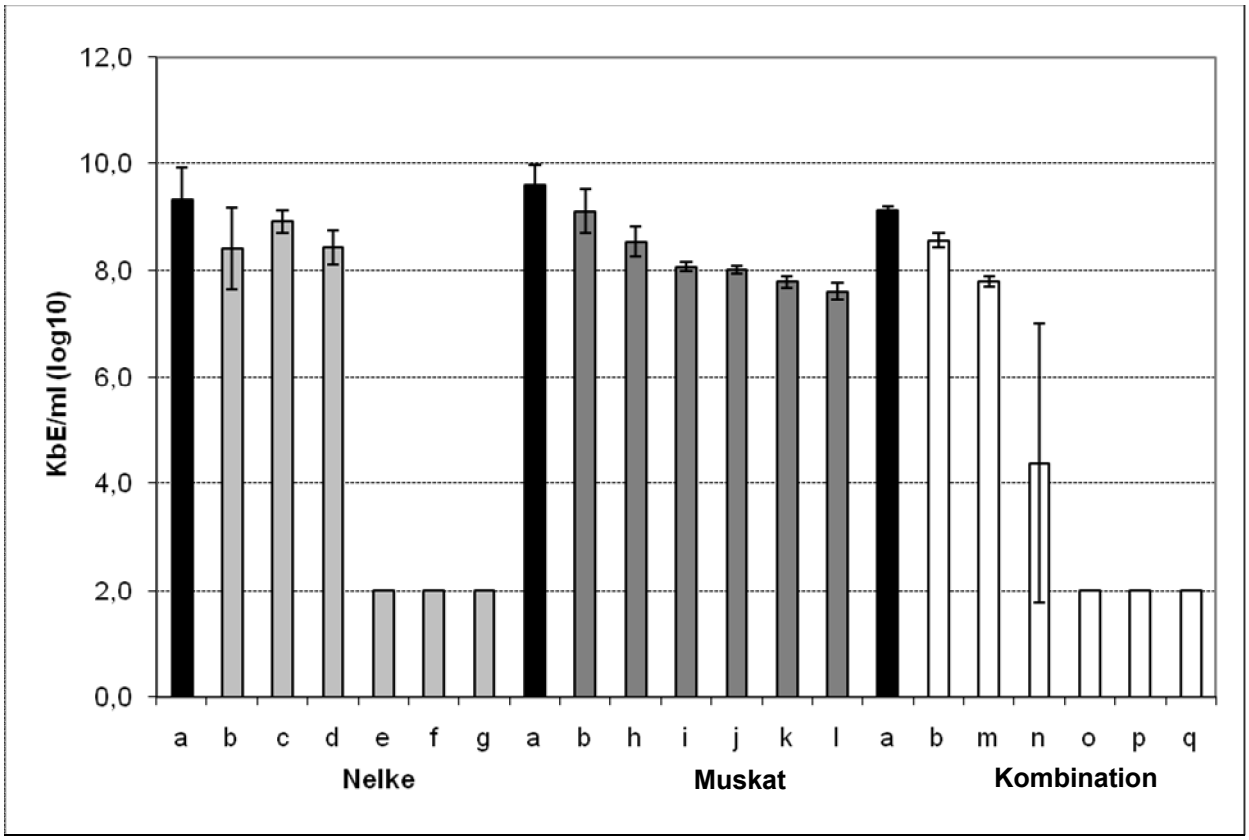

Abbildung 7: Wachstum von *Pseudomonas fragi* bei den verschiedenen Behandlungen, gemittelt über alle Chargen (n=6)

Behandlung: a= Positivkontrolle, b= Positivkontrolle mit Tween 80, c= Nelke 0,125%, d= Nelke 0,25%, e= Nelke 0,5%, f= Nelke 0,75%, g= Nelke 1%, h= Muskat 0,125%, i= Muskat 0,25%, j= Muskat 0,5%, k= Muskat 0,75%, l= Muskat 1%, m= Kombi 0,125%, n= Kombi 0,25%, o= Kombi 0,5%, p= Kombi 0,75%, q= Kombi 1%

Auf die Darstellung der signifikanten Unterschiede wurde hier aus Übersichtsgründen verzichtet. Sie sind in Abbildung 10 aufgeführt.

Abbildung 8-Abbildung 10 stellen den Einfluss der verschiedenen Öle sowie der unterschiedlichen Konzentrationen auf das Wachstum des jeweils verwendeten Keims in Form eines Balkendiagramms dar. Die grauen nach unten zeigenden Balken stellen eine Reduktion, die schwarzen nach oben gerichteten Balken Wachstum des Keims unter Zugabe verschiedener Zusätze dar. Die x-Achse beschreibt die einzelnen Kombinationen, auf der y-Achse ist der Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml) als Mittelwert aus n=6 untersuchten Proben festgehalten.

Die Nulllinie ist als der Wert der Positivkontrolle anzusehen. Bei dieser wuchs der Keim ohne hemmende Einflüsse bei für ihn optimalen Bedingungen, das heißt, ob das Wachstum des Keims gehemmt oder gefördert wurde, wurde immer an diesem Wert festgemacht.

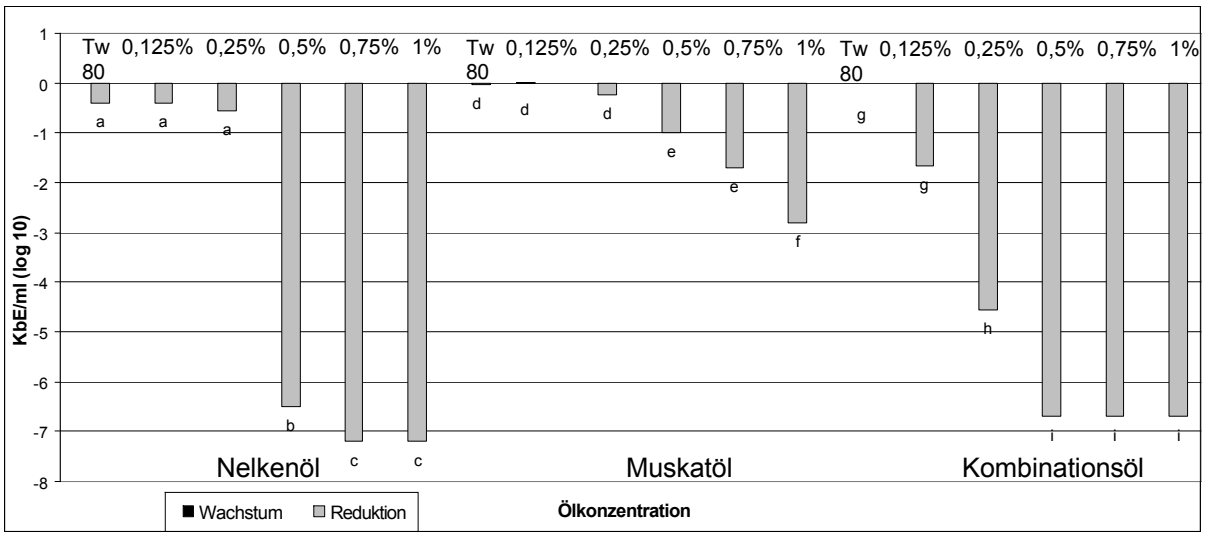

Abbildung 8: Wachstum und Reduktion von *Brochothrix thermosphacta* unter dem Einfluss der verschiedenen Behandlungsvarianten gemittelt über alle Chargen (n=6)

Behandlungen: Tw 80= Positivkontrolle mit Tween 80, angewandte Konzentrationen der Öle waren 0,125%, 0,25%, 0,5%,0,75% und 1%; unterschiedliche Buchstaben unterhalb der Balken zeigen signifikante Unterschiede der Wachstumsintensität bezogen auf die Konzentrationen eines Öls

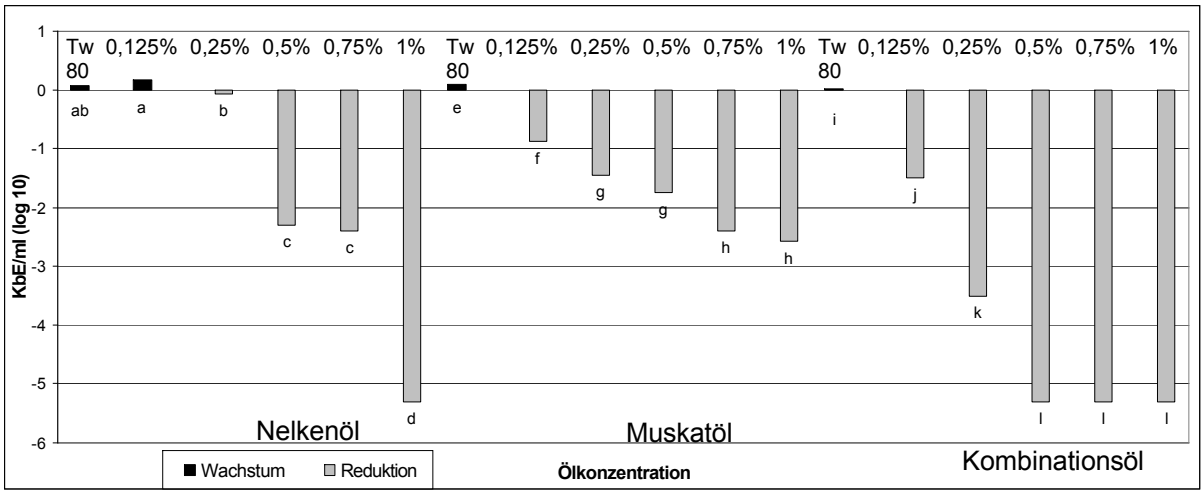

Abbildung 9: Wachstum und Reduktion von *Lactobacillus sakei* unter dem Einfluss der verschiedenen Behandlungsvarianten gemittelt über alle Chargen (n=6)

Behandlungen: Tw 80= Positivkontrolle mit Tween 80, angewandte Konzentrationen der Öle waren 0,125%, 0,25%, 0,5%,0,75% und 1%; unterschiedliche Buchstaben unterhalb der Balken zeigen signifikante Unterschiede der Wachstumsintensität bezogen auf die Konzentrationen eines Öls

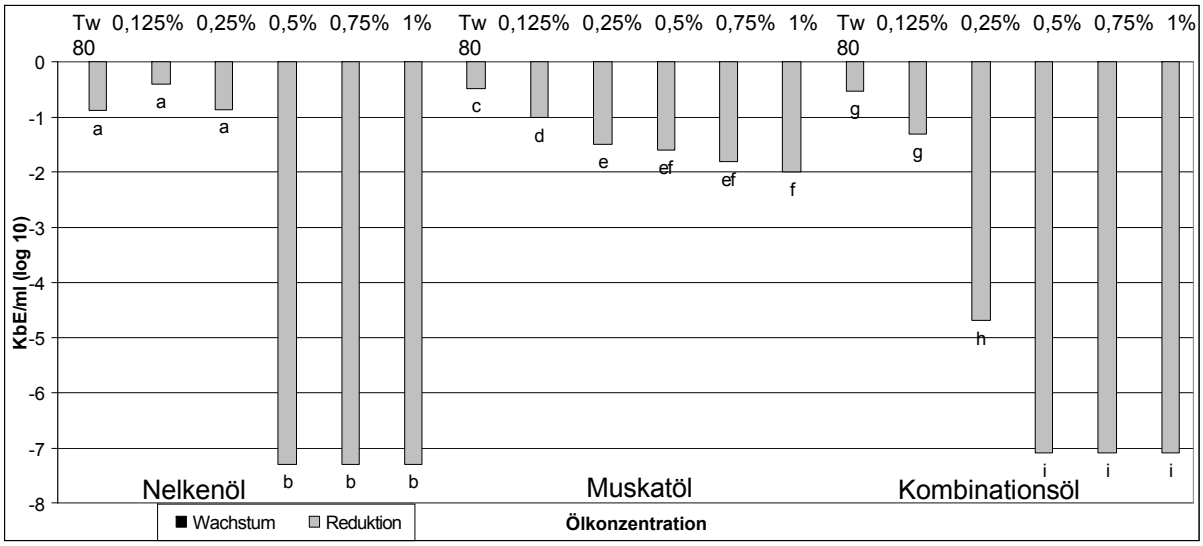

Abbildung 10: Wachstum und Reduktion von *Pseudomonas fragi* unter dem Einfluss der verschiedenen Behandlungsvarianten gemittelt über alle Chargen (n=6)

Behandlungen: Tw 80 = Positivkontrolle mit Tween 80, angewandte Konzentrationen der Öle waren 0,125%, 0,25%, 0,5%,0,75% und 1%; unterschiedliche Buchstaben unterhalb der Balken zeigen signifikante Unterschiede der Wachstumsintensität bezogen auf die Konzentrationen eines Öls

4.2 Hauptversuche - Lagerungsversuche

4.2.1 Mikrobiologische Untersuchungen

In den folgenden Texten beschreiben die genannten Zahlen eine Hemmung bzw. ein Wachstum der Keimzahl im Vergleich zur Positivkontrolle/ zum Standard.

4.2.1.1 Brochothrix thermosphacta

In der folgenden Tabelle 5 sind die Keimzahlen von *Brochothrix thermosphacta* der behandelten und verpackten Wurstscheiben über die gesamte Lagerung an bestimmten Untersuchungstagen als geometrische Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt.

An Tag 0, also dem Tag der Herstellung, waren keine Keime oberhalb der Nachweisgrenze zu finden. Gleiches galt für Lagerungstag 2 bei der Anwendung von Nelkenöl. Während der ersten beiden Chargen lag die Keimzahl bei Anwendung von Muskatöl konstant unterhalb der Nachweisgrenze, jedoch kam es in Charge 3 bei Nutzung von 0,5 und 0,75%iger Muskatöllösung zu einem sehr geringen Wachstum von lg 0,03 und 0,27 (SD 0,25). Ebenfalls in Charge 3 kam es zu einem minimalen Anstieg der Keimzahl mit dem Kombinationsöl bei 0,25% um log 0,2 (SD 0,17). An Tag 5 stieg die Zahl bei 0,25% Nelkenöl in Charge 2 etwas an, im Mittel um lg 0,25. Bei den Konzentrationen 0,5 und 0,75% kam es jeweils zur Hemmung um lg 0,15 (SD 0,32). Muskatöl und die Kombination der Öle sorgte an diesem Tag durchweg bei allen getesteten Konzentrationen für eine Hemmung um lg 0,15 (SD 0). Nelkenöl 0,25%ig führte an Tag 7 in Charge 1 durchweg zur Hemmung der Keimzahl um lg 0,2, in Charge 2 kam es zum Wachstum im Mittel von lg 0,6, in Charge 3 zur Hemmung. Insgesamt gemittelt über alle drei Chargen war hier also ein leichtes Wachstum zu verzeichnen (SD 0,24). Nelkenöl in 0,5%iger Konzentration zeigte ein ähnliches Bild, so kam es in Charge 1 zur Reduktion um lg 0,2, in Charge 2 zu einem leichten Wachstum von 0,2 ebenso wie in Charge 3. 0,75%iges Nelkenlösung senkte

in Charge 1 und 3 die Keimzahl. Charge 2 blieb konstant unterhalb der Nachweisgrenze. Insgesamt zeigte sich im Mittel nur eine Hemmung durch die höchste angewandte Konzentration des Nelkenöls. Die Unterschiede in den Keimzahlen blieben dabei aber so gering, dass sich keine Signifikanzen aufzeigen ließen. Muskatöl führte in den Konzentrationen 0,5% und 0,75% zu einer Hemmung der Keimzahl von lg 0,13 und 0,17. Die 0,25%ige Muskatlösung führte zu geringem Wachstum von lg 0,12 (SD 0,1). Stärker war der Anstieg der Keimzahl an diesem Tag beim Kombiöl in der geringsten Konzentration (lg 0,38). Die beiden höher konzentrierten Lösungen senkten die Zahl um jeweils lg 0,1 (SD 0,31). An Tag 10 war bei der Konzentration 0,75% Nelkenöl einmalig in Charge 3 eine Hemmung um lg 0,4 zu verzeichnen. Bei Anwendung von 0,5%igem Nelkenöl blieb die Keimzahl in Charge 1 konstant bei lg 1,7, in Charge 2 und 3 wuchs sie um lg 0,5 und lg 0,2. Bei 0,25%igem Nelkenöl kam es in allen drei Chargen zu keinem Wachstum, sondern im Mittel zur Hemmung um lg 0,2 (SD 0,58). Beim Muskatöl sorgte es an diesem Tag für eine Hemmung der Keimzahl bei der niedrigsten Konzentration um lg 0,17, allerdings stieg die Zahl der Keime bei den höheren Konzentrationen um bis zu lg 0,8 (SD 0,99). Die Anwendung von Kombiöl sorgte bei 0,25% und 0,5% für eine Hemmung von rund lg 0,2. Bei 0,75% ergab es im Mittel ein Wachstum um lg 0,02 (SD 0,24), da es in Charge 1 und 2 zur Hemmung, in Charge 3 allerdings zum einmaligen Wachstum kam. An Tag 14 kam es bei allen Nelkenöllösungen zu einem Wachstum von bis zu lg 0,4 (SD 0,26). Beim Muskatöl kam es bei 0,25% zu einer Senkung der Keimzahl von lg 0,3, während 0,75% nur um lg 0,2 hemmten (SD 0,48). Die mittlere Konzentration von 0,5% ließ ein geringes Wachstum des Keims zu. Gleiches vollzog sich bei der Ölkombination, bei der an diesem Tag 0,25% die Keimzahl um lg 0,11 senkte, die Konzentrationen 0,5% und 0,75% ein Wachstum von lg 0,39 und 0,02 zuließen (SD 0,55). Auch an Tag 21 der Lagerung konnte das Nelkenöl das Wachstum von *Brochothrix* nicht verhindern, während Muskatöl noch zu leichter Hemmung der Keimzahl führte. Auch bei 0,25% und 0,5% des Kombiöls kam es zu geringem Wachstum (unter lg 0,1). Einzig 0,75% Kombiöl waren in der Lage die Keimzahl im Mittel um lg 0,83 (SD 0,72) zu senken.

Die Differenzen zwischen der Hemmung und dem Wachstum der Keimzahl waren so gering, dass sich während der drei Chargen an allen Untersuchungstagen kein signifikanter Unterschied zur Kontrollkeimzahl einstellte.
Weder Öle noch die eingesetzten Konzentrationen zeigten während der Lagerungsversuche einen signifikanten Einfluss auf die Keimzahl, bis auf eine Ausnahme. An Lagerungstag 10 wiesen die Konzentration 0,25% und 0,5% des Nelkenöls einen signifikanten Unterschied zur 0,75% Nelkenöllösung auf. Hier kam es zum Anstieg der Keimzahl um lg 0,57, während die beiden niedrigeren Konzentrationen zur leichten Senkung der Keimzahl führten (lg 0,18). An Tag 2 stieg die Keimzahl durchweg etwas an, an Tag 5 kam es dann gemittelt bei allen Ölen zu einem geringen Abfall der Keimzahl (lg 0,15). An Tag 7 war eine minimale Hemmung um lg 0,02 bis 0,05 zu verzeichnen. An Tag 14 zeigte sich ein höchst signifikanter Einfluss der Chargen ($p<0,001$), da in Charge 1 die Keimzahl konstant unterhalb der Nachweisgrenze blieb, in den folgenden Chargen allerdings Wachstum zu verzeichnen war. Insgesamt sorgte Muskatöl als einziges Öl an diesem Tag für eine, wenn gleich sehr geringe Hemmung der Keimzahl (lg 0,1). An Tag 21 zeigten sowohl Muskat-, als auch das Kombiöl eine leichte Hemmung um lg 0,08 und lg 0,24.

Tabelle 5: Keimzahlen von *Brochothrix thermosphacta* während der Lagerung unter dem Einfluss etherischer Öle der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze

	Tag 2 KbE/ml (log10)	SD von Tag 2	Tag 5 KbE/ml (log10)	SD von Tag 5	Tag 7 KbE/ml (log10)	SD von Tag 7	Tag 10 KbE/ml (log10)	SD von Tag 10	Tag 14 KbE/ml (log10)	SD von Tag 14	Tag 21 KbE/ml (log10)	SD von Tag 21
Referenz	1,7	0,10	1,8	0,20	1,9	0,30	1,9	0,40	2,0	0,90	2,8	1,60
Ne 0,25%	1,7	0,00	1,7	0,00	2,0	0,60	1,7	0,10	2,4	1,50	2,8	1,80
Ne 0,5%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,9	0,30	2,1	0,90	2,0	0,80	3,3	2,10
Ne 0,75%	1,7	0,00	2,1	0,60	1,8	0,30	2,8	1,70	2,2	0,80	3,4	1,80
Mu 0,25%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,8	0,20	1,8	0,10	1,7	0,00	2,6	1,00
Mu 0,5%	1,7	0,10	1,7	0,00	1,8	0,20	2,2	1,00	2,2	1,40	2,9	1,90
Mu 0,75%	2,0	0,70	1,7	0,00	2,1	0,60	2,7	1,60	1,8	0,30	3,1	1,40
Kombi 0,25%	1,9	0,60	1,0	0,00	2,3	1,00	1,8	0,20	1,9	0,40	3,2	2,00
Kombi 0,5%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,8	0,20	1,7	0,10	2,4	1,10	3,1	1,50
Kombi 0,75%	1,8	0,20	1,7	0,00	1,9	0,20	2,0	0,60	2,0	0,60	2,1	0,80

Ne = Nelkenöl; Mu = Muskatöl; Kombi = Kombinationsöl

Abbildung 11 - Abbildung 16 stellen die Hemmung und das Wachstum in Bezug auf die Kontrolle von *Brochothrix thermosphacta* in den behandelten Wurstscheiben als gemittelte Werte (n=9) für jeden Untersuchungstag in Form eines Balkendiagramms gesondert dar. Die Nulllinie ist hierbei der Standard. Graue Balken zeigen eine Hemmung der Keimzahl, schwarze ein Wachstum des Keimes. Die x-Achse stellt die verschiedenen Kombinationen aus Ölen und ihren Konzentrationen dar, die y-Achse zeigt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml).

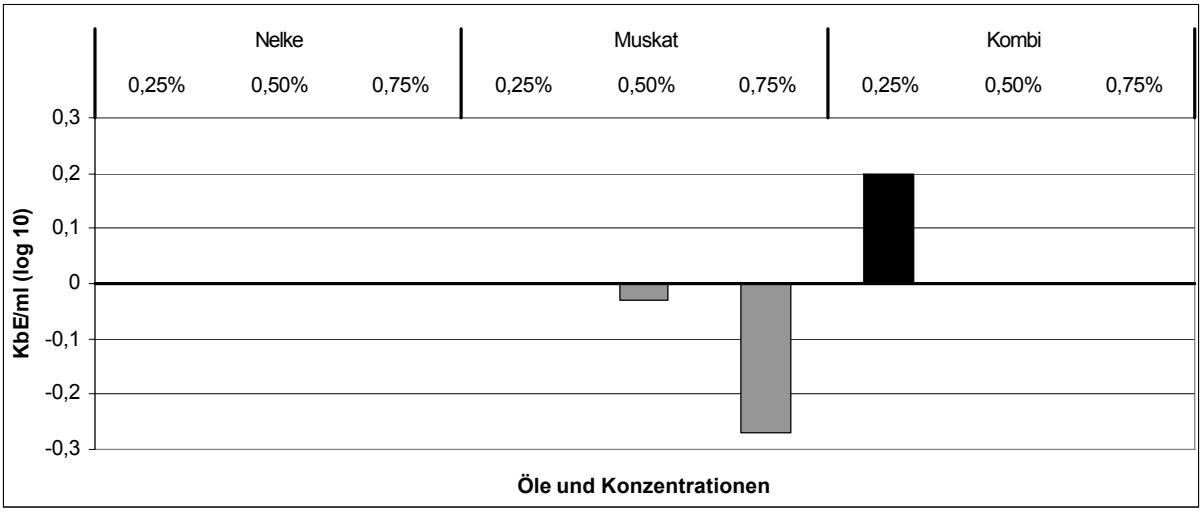

Abbildung 11: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 2 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

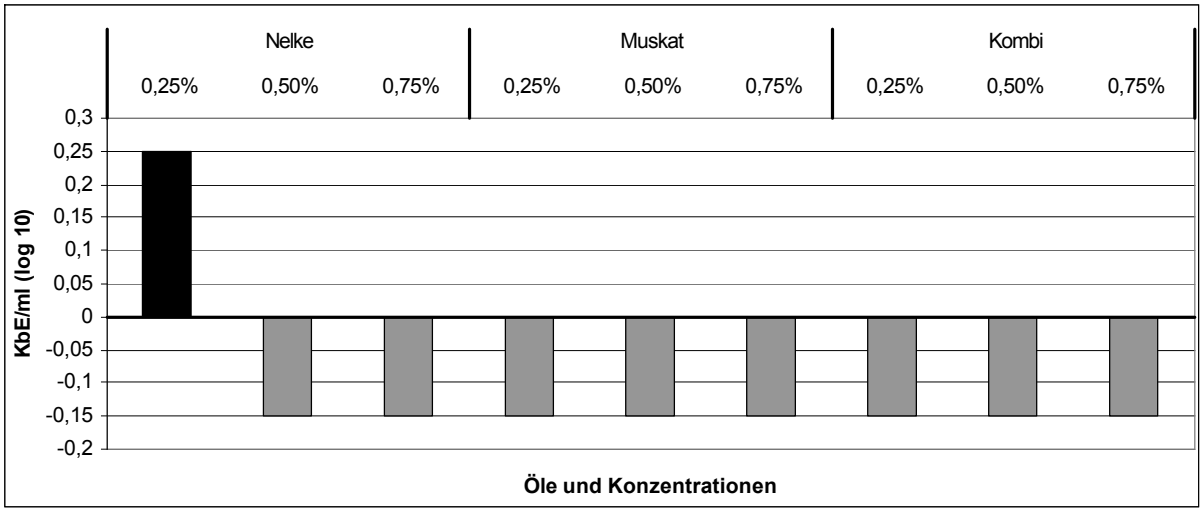

Abbildung 12: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 5 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

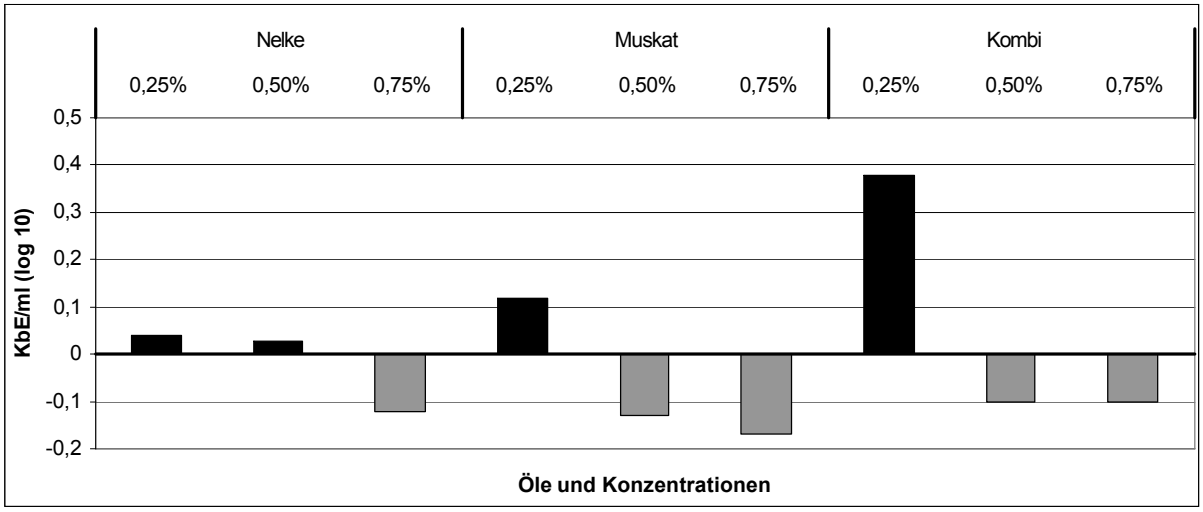

Abbildung 13: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 7 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

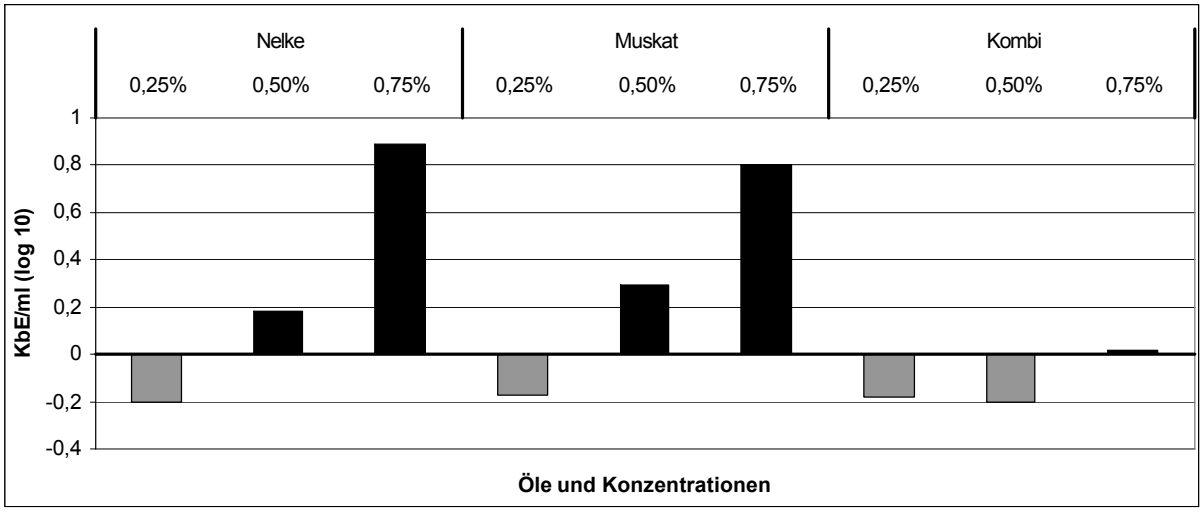

Abbildung 14: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 10 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

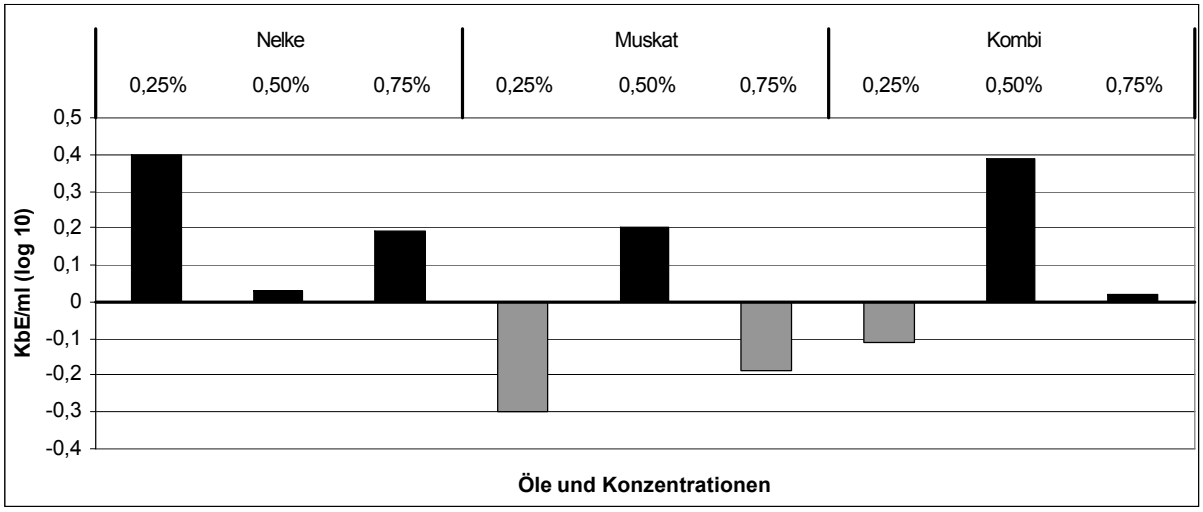

Abbildung 15: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 14 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

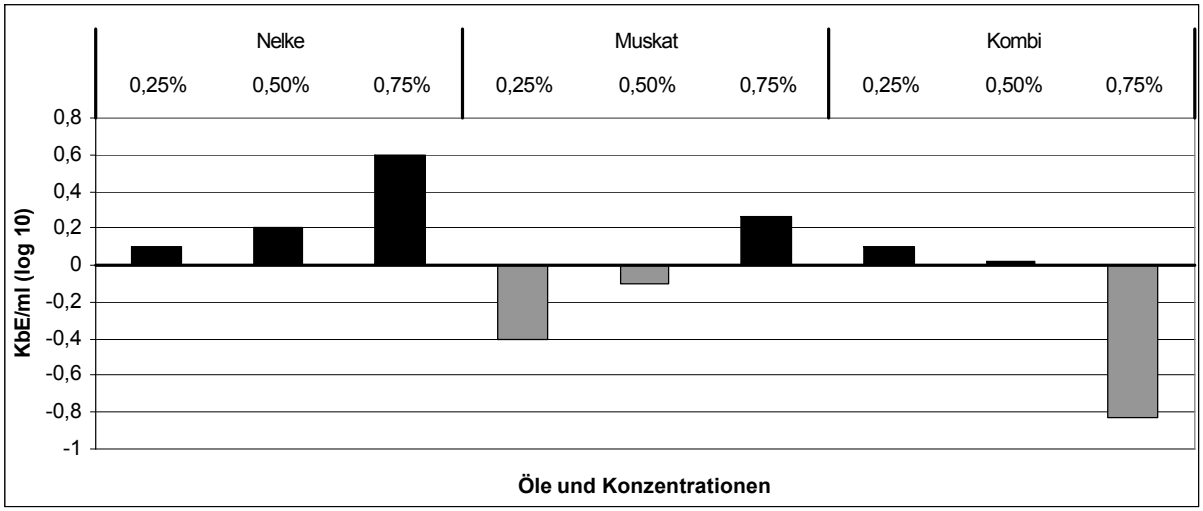

Abbildung 16: Verhalten von *Brochothrix thermosphacta* am Untersuchungstag 21 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

4.2.1.2 Lactobacillus sakei

In der folgenden Tabelle 6 sind die Keimzahlen von *Lactobacillus sakei* der behandelten und verpackten Wurstscheiben über die gesamte Lagerung an bestimmten Untersuchungstagen als geometrische Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt.

Bis einschließlich Lagerungstag 2 wuchsen bei allen Behandlungen, auch der Kontrolle, keine Laktobazillen. Erstes Wachstum zeigte sich an Tag 5 bei Nutzung des Kombiöls in einer Konzentration von 0,5%. Hier wuchsen Laktobazillen einmalig um lg 0,72 (SD 0,59). Ab Tag 7 war ein signifikanter Einfluss der Charge ($p<0,001$) sowohl bei Nelken-, Muskat- und Kombiöl zu erkennen. In Charge 1 und 3 kam es bei allen Nelkenölkonzentrationen durchweg zur Hemmung der Keimzahl um lg 0,47 (0,25%), lg 0,49 (0,5) und lg 0,5 (0,75%) (SD 0,03). In Charge 2 hielt sich die Keimzahl konstant unterhalb der Nachweisgrenze von lg 1,7. Muskatöl hemmte an diesem Tag bei 0,25% um lg 0,34, bei 0,5% Öl um lg 0,43 und mit einer 0,75%igen Konzentration um lg 0,11 (SD 0,28). Das Kombiöl sorgte in Charge 1 für eine Hemmung der Laktobazillen, dagegen wuchsen sie in Charge 2 trotz des Öles. In Charge 3 war ein durchwachsenes Bild vorherrschend. Im Mittel kam es dann bei 0,25%iger Lösung zu einer Reduktion um lg 0,29, bei 0,5% stieg die Keimzahl um lg 0,32 und bei 0,75% um lg 0,08 (SD 0,81). Nelkenöl konnte an Tag 10 in seiner niedrigsten Konzentration das Wachstum von *Lactobacillus sakei* nicht verhindern. Die Zahl des Keimes stieg um log 0,58. Auch bei 0,5%iger Nelkenöllösung kam es zum Anstieg um lg 0,43 der Keimzahl. Einzig die höchste Konzentration (0,75%) konnte die Zahl hemmen und zwar um lg 0,13 (SD 0,45). Ein anderes Bild stellte sich beim Muskatöl dar. Hier wurden die Laktobazillen durchweg gehemmt um lg 0,1, lg 0,18 und lg 0,23 in aufsteigender Muskatölkonzentration (SD 0,12). Das Gegenteil ereignete sich mit der Kombination beider Öle. Hier stieg die Zahl der Keime im Vergleich zur Kontrolle um lg 1,3 bei 0,25% Öl, um lg 1 bei 0,5% und um lg 0,12 bei 0,75% Öl. Auch an Tag 14 war die Charge signifikant für die Hemmung der Keimzahl bei allen eingesetzten Ölen. So wuchs beim Nelkenöl die Zahl der Laktobazillen in Charge 1 und 2. In Charge 3 dagegen kam es zur deutlichen Hemmung. Es ergaben sich daraus folgende Ergebnisse: ein Wachstum von lg 0,02 bei 0,25% und eine Hemmung von lg

0,14 bei 0,5% und von lg 0,8 bei 0,75% (SD 1,07). Bei Muskatöl stellte sich an diesem Tag der erste und einzige signifikante Unterschied zwischen den Konzentrationen ein. Das 0,25%ige Muskatöl ließ noch ein Wachstum um lg 0,06 zu, wohingegen die anderen beiden Konzentrationen um jeweils lg 1 hemmten (SD 0,24). Diese Konzentration unterschied sich hiermit signifikant von 0,5%- und 0,75%iger Muskatöllösung. Bei Verwendung des Kombiöls senkte allein die höchste Konzentration die Keimzahl um lg 0,6. 0,25% und 0,5% ließ die Keimzahl von *L. sakei* um je lg 1,7 ansteigen (SD 0,96). Wie schon an Tag 14 war auch an Tag 21 die Charge signifikant ($p<0,05$). Im Mittel führten alle Konzentrationen des Nelkenöls zur Hemmung der Keimzahl. Nelkenöl als 0,25%ige Ausführung senkte die Keimzahl um lg 0,14, 0,5% um lg 1,17 und 0,75% um lg 1,6 (SD 0,51), trotzdem waren die Abstände so gering, dass sich keine Signifikanzen einstellten. Muskatöl 0,25%ig führte zu leichtem Anstieg der Zahl um lg 0,19. Dagegen hemmten 0,5% um lg 0,9 und 0,75% Muskatöl um lg 1,4 (SD 0,37). Wie bereits an Tag 14 schaffte es nur die höchste Konzentration des Kombiöls die Zahl zu senken, um den Faktor lg 0,2. Die Keimzahl bei 0,25% Kombiöl stieg um lg 1,48 und bei 0,5% um lg 1,46 (SD 0,42).
Die genutzten Öle zeigten einzig zur Kontrolle (NaCl) durchgehend einen signifikanten Unterschied, nicht aber zueinander. An Tag 7 gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Ölen. Einzig die Charge hatte einen signifikanten Einfluss ($p<0,001$) auf die Hemmung der Keimzahl. Das Kombiöl zeigte an Tag 10 einen signifikanten Unterschied zu Nelken- und Muskatöl ($p<0,05$). Hier kam es insgesamt zu einem Anstieg der Keimzahl von lg 0,81, während Nelke und Muskat nicht signifikant unterschiedlich untereinander waren. Es ergab sich bei Nelke ein Anstieg von lg 0,3 und bei Muskat ein leichter Abfall der Zahl um lg 0,81. Sowohl Öl und Charge ($p<0,001$) zeigten einen signifikanten Einfluss an Tag 14. Wie an Tag 10 war das Kombiöl wieder signifikant unterschiedlich zu den anderen ($p<0,01$). Insgesamt konnte hier ein Wachstum um lg 0,92 verzeichnet werden. Die beiden nicht signifikant unterschiedlichen Öle führten im Falle von Nelke zur Hemmung von lg 0,31 und bei Muskat um lg 0,66 (SD 0,97). Das gleiche Bild wiederholte sich an Tag 21 mit signifikantem Einfluss der Charge ($p<0,001$) und einem signifikanten Unterschied des

Kombiöls zu den anderen beiden. Das Kombiöl ließ ein Wachstum um lg 0,91 zu, die anderen beiden hemmten um lg 0,97 bei Nelke und 0,71 bei Muskat (SD 0,88).

Tabelle 6: Keimzahlen von *Lactobacillus sakei* während der Lagerung unter dem Einfluss etherischer Öle der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze

	Tag 2 KbE/ml (log10)	SD von Tag 2	Tag 5 KbE/ml (log10)	SD von Tag 5	Tag 7 KbE/ml (log10)	SD von Tag 7	Tag 10 KbE/ml (log10)	SD von Tag 10	Tag 14 KbE/ml (log10)	SD von Tag14	KbE/ml (log10)	SD von Tag 21
Referenz	1,7	0,0	1,7	0,0	2,2	0,80	1,9	0,70	2,8	1,60	3,7	1,90
Ne 0,25%	1,7	0,0	1,7	0,0	1,7	0,00	1,8	0,30	2	0,80	2,3	1,10
Ne 0,5%	1,7	0,0	1,7	0,0	1,7	0,10	2,5	1,70	2,8	2,00	1,8	0,30
Ne 0,75%	1,7	0,0	1,7	0,0	1,7	0,00	2,4	1,60	2,6	1,90	3,4	1,70
Mu 0,25%	1,7	0,0	1,7	0,0	1,9	0,50	1,7	0,00	1,8	0,10	3,7	1,60
Mu 0,5%	1,7	0,0	1,7	0,0	1,8	0,20	1,8	0,20	2,8	1,80	2,7	1,50
Mu 0,75%	1,7	0,0	1,7	0,0	2,1	0,70	1,8	0,40	1,7	0,00	2	0,70
Kombi 0,25%	1,7	0,0	1,7	0,0	1,9	0,60	2,1	0,80	2,2	1,00	3,4	1,70
Kombi 0,5%	1,7	0,0	2,4	1,0	2,5	1,20	3	1,60	4,5	1,70	4,9	0,60
Kombi 0,75%	1,7	0,0	1,7	0,0	2,3	0,60	3,2	1,30	4,4	1,70	4,9	0,70

Ne = Nelkenöl; Mu = Muskatöl; Kombi = Kombinationsöl

Abbildung 17- Abbildung 20 stellen die Hemmung und das Wachstum in Bezug auf die Kontrolle *Lactobacillus sakei* in den behandelten Wurstscheiben als gemittelte Werte (n=9) für jeden Untersuchungstag in Form eines Balkendiagramms gesondert dar. Die Nulllinie ist hierbei der Standard. Graue Balken zeigen eine Hemmung der Keimzahl, schwarze ein Wachstum des Keimes. Die x-Achse stellt die verschiedenen Kombinationen aus Ölen und ihren Konzentrationen dar, die y-Achse zeigt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml). Auf die Darstellung des Keimverhaltens an Untersuchungstag 2 wurde verzichtet, da sich hier kein Wachstum oberhalb der Nachweisgrenze von 1,7 lg KbE/ml zu beobachten war. Auch auf die Darstellung des 5. Untersuchungstages wurde verzichtet, das sich hier nur ein Wach-

stum bei dem Kombinationsöl und einer Konzentration von 0,5% von lg 0,71 zeigte. Ansonsten blieb auch an diesem Tag alles unterhalb der Wachstumsgrenze.

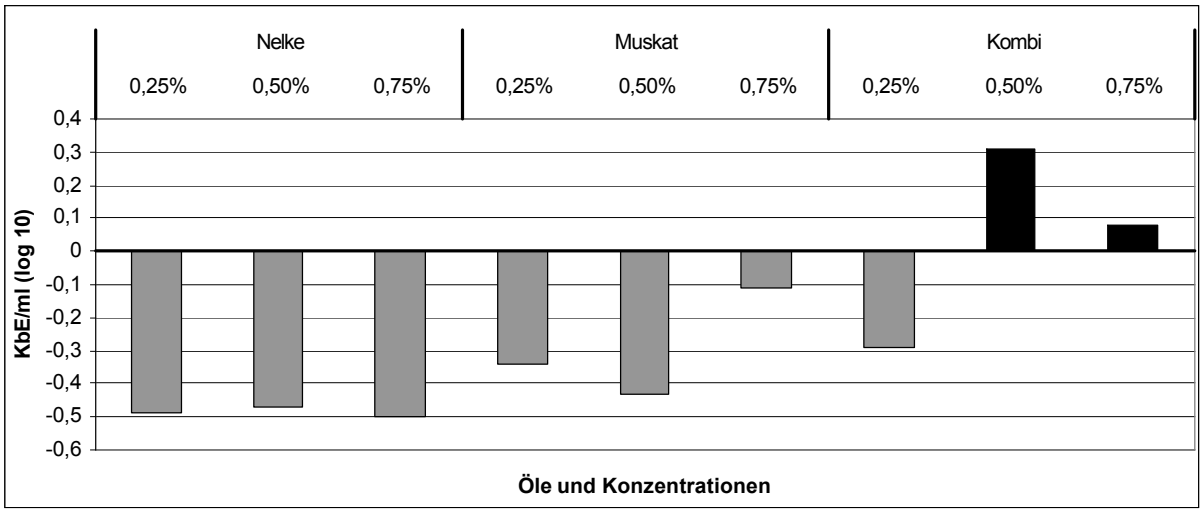

Abbildung 17: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 7 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

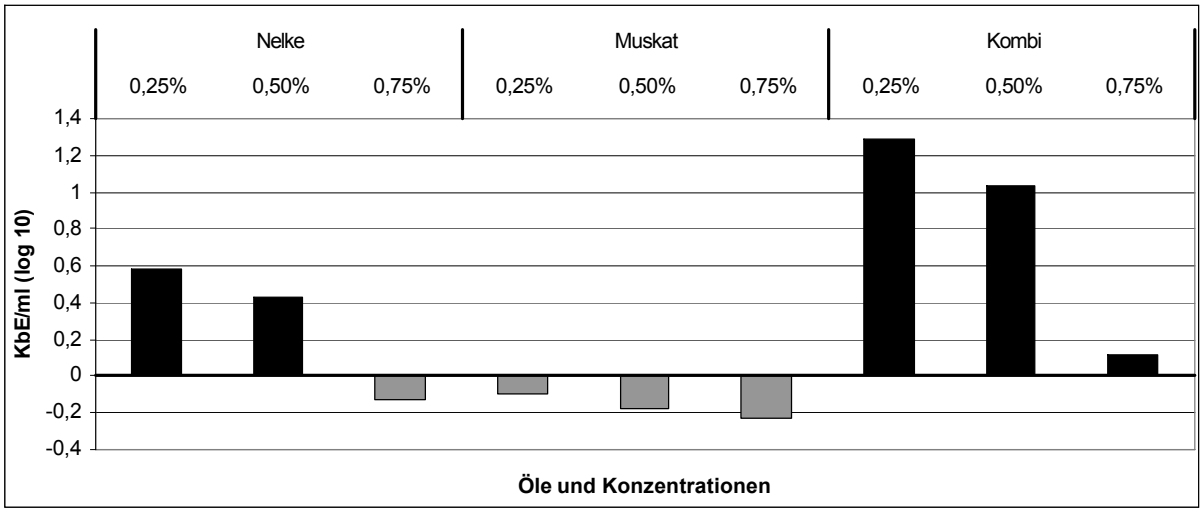

Abbildung 18: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 10 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

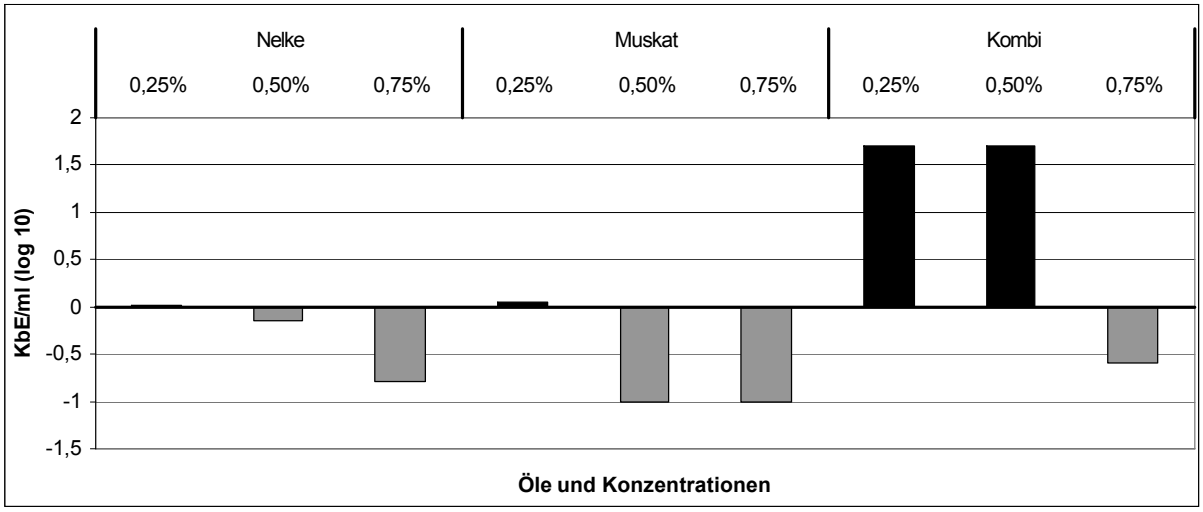

Abbildung 19: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 14 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

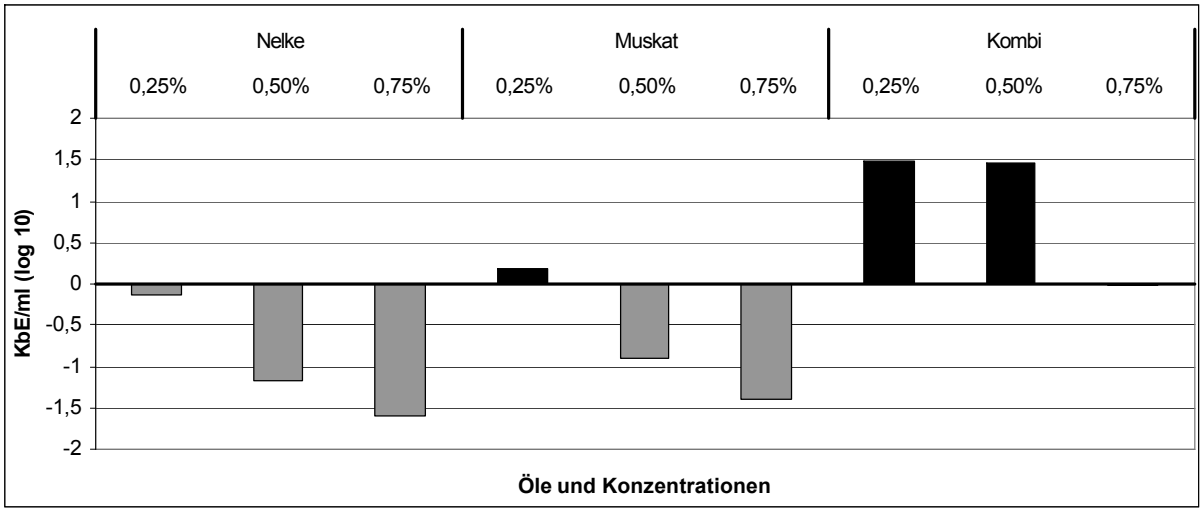

Abbildung 20: Verhalten von *Lactobacillus sakei* am Untersuchungstag 21 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

4.2.1.3 Pseudomonas fragi

In der folgenden Tabelle 7 sind die Keimzahlen von *Pseudomonas fragi* der behandelten und verpackten Wurstscheiben über die gesamte Lagerung an bestimmten Untersuchungstagen als geometrische Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt.

Ein feststellbares Wachstum gab es erst ab Tag 7. In Charge 2 und 3 konnte bei der Behandlung mit den Ölen kein Wachstum oberhalb der Nachweisgrenze festgestellt werden. Charge 1 allerdings zeigte durchweg eine Hemmung bei allen angewandten Konzentrationen. Nelkenöl 0,75%ig und 0,5%ig hemmten um lg 0,43, 0,25% um lg 0,26 (SD 0,17). Muskatöl senkte die Keimzahl in Charge 1 um ebenfalls lg 0,43 (SD 0) bei allen Konzentrationen. Das Kombiöl hemmte in seiner geringsten Konzentration nur um lg 0,3, während die anderen beiden, wie bei Muskatöl zuvor, um lg 0,43 hemmten (SD 0,12). Bei der Anwendung von Nelkenöl konnte erst wieder an Tag 21 ein Wachstum von *Pseudomonas fragi* festgestellt werden. Es kam zu einem Wachstum von lg 0,71 bei 0,5%iger Lösung (SD 0,58). Die Anwendung von Muskatöl hatte zur Folge, dass an Tag 10 lediglich bei der niedrigsten Konzentration von Öl ein Wachstum von lg 0,27 (SD 0,27) stattfand. Am 14. Tag der Lagerung wurde kein Wachstum von Pseudomonaden festgestellt. Auch an Tag 21 kam es nur bei der geringsten Konzentration zu Wachstum von lg 0,68 (SD 0,55). Bei den mit Kombiöl behandelten Wurstscheiben konnte kein Wachstum an Tag 10 festgestellt werden. An Tag 14 war ein Wachstum bei Konzentration 0,5% von lg 0,19 (SD 0,18) zu beobachten. Bei den Konzentrationen 0,25% und 0,75% zeigte sich kein Keimwachstum. Am letzten Tag der Untersuchung blieb bei 0,75%igem Kombiöl das Wachstum aus, 0,5% ließen einen Anstieg der Pseudomonaden von lg 0,62 und 0,25% von lg 0,68 (SD 0,53) im Vergleich zum Standard zu.

Es waren durchweg keine signifikanten Unterschiede der Öle bzw. Ölkonzentrationen zu erkennen. An Tag 7 zeigte die Charge einen signifikanten Einfluss. Insgesamt führten die Öle alle zur Senkung der Keimzahl im Vergleich zum Standard. Nelke senkte die Zahl um den Faktor lg 0,38, Muskat um lg 0,43 und Kombiöl um lg 0,39 (SD 0,11). Doch auch hier waren die Differenzen zwischen den Werten zu gering um signifikante Unterschiede heraus zu stellen. Anders als am vorhergehenden Lage-

rungstag kam es an Tag 10 lediglich zu einem Wachstum und zwar bei Muskatöl 0,75% um den Faktor lg 0,1 (SD 0,15). Tag 21 zeigte dann wieder einen signifikanten Einfluss der Charge ($p<0,05$). Das stärkste Pseudomonaden-Wachstum lag beim Kombiöl mit lg 0,44, darauf folgte Nelke mit lg 0,24 und Muskat mit lg 0,23 (SD 0,5).

Tabelle 7: Keimzahlen von *Pseudomonas fragi* während der Lagerung unter dem Einfluss etherischer Öle der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze

	Tag 2 KbE/ml (log10)	SD von Tag 2	KbE/ml (log10)	SD von Tg 5	Tag 7 KbE/ml (log10)	SD von Tg 7	Tag 10 KbE/ml (log10)	SD von Tg 10	Tag 14 KbE/ml (log10)	SD von TG14	Tag 21 KbE/ml (log10)	SD von Tg 21
Referenz	1,7	0,00	1,7	0,00	2,1	0,85	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00
Ne 0,25%	1,7	0,00	1,9	0,00	1,7	0,50	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00
Ne 0,5%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	2,6	1,92
Ne 0,75%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00
Mu 0,25%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	2,5	1,82
Mu 0,5%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00
Mu 0,75%	1,7	0,00	1,7	0,00	2	0,00	1,7	0,82	1,7	0,00	1,7	0,00
Kombi 0,25%	1,7	0,00	1,8	0,00	1,7	0,26	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00
Kombi 0,5%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,9	0,56	2,4	1,68
Kombi 0,75%	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	1,7	0,00	2,5	1,84

Ne = Nelkenöl; Mu = Muskatöl; Kombi = Kombinationsöl

Abbildung 21 - Abbildung 22 stellen die Hemmung und das Wachstum in Bezug auf die Kontrolle von *Pseudomonas fragi* in den behandelten Wurstscheiben als gemittelte Werte (n=9) für jeden Untersuchungstag in Form eines Balkendiagramms gesondert dar. Die Nulllinie ist hierbei der Standard. Graue Balken zeigen eine Hemmung, schwarze ein Wachstum des Keimes. Die x-Achse stellt die verschiedenen Kombinationen aus Ölen und ihren Konzentrationen dar, die y-Achse zeigt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml). An den Untersuchungstagen 2 und 5 wurde kein Keimwachstum festgestellt. An Tag 10 zeigte sich lediglich ein Wachstum bei Muskatöl 0,25%ig von lg 0,27, an Tag 14 war nur ein Wachstum beim Kombination-

söl in 0,5%iger Konzentration von lg 0,19 zu sehen. Aus Übersichtsgründen wurde daher hier auf die Darstellung dieser Tage verzichtet.

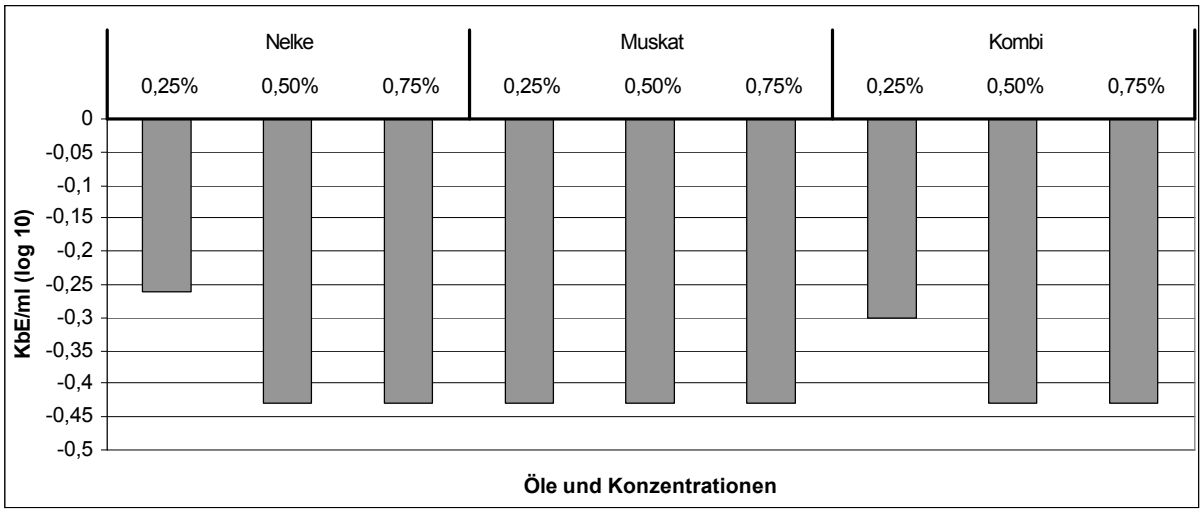

Abbildung 21: Verhalten von *Pseudomonas fragi* am Untersuchungstag 7 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

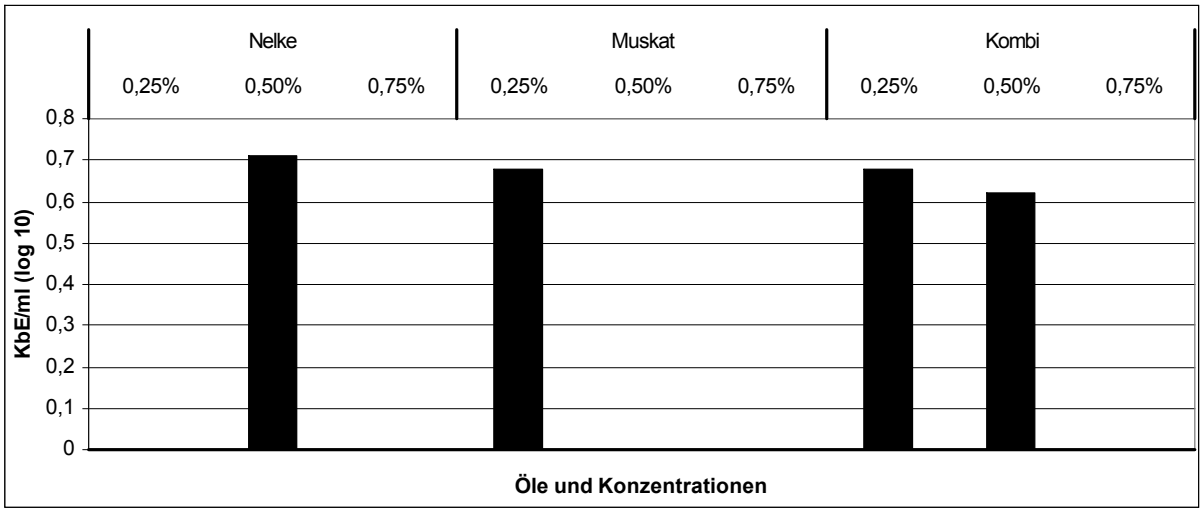

Abbildung 22: Verhalten von *Pseudomonas fragi* am Untersuchungstag 21 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

4.2.1.4 Aerobe Gesamtkeimzahl

In der folgenden Tabelle 8 ist das Wachstum der aeroben Gesamtkeimzahl der behandelten und verpackten Wurstscheiben über die gesamte Lagerung an bestimmten Untersuchungstagen als geometrische Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt.

Verglich man das Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl an Untersuchungstag 2, konnte festgestellt werden, dass die 0,25%ige Nelkenöllösung im Mittel die Keimzahl um lg 0,3 hemmte, die anderen beiden führten zu einem Wachstum von lg 0,11 und 0,18 (SD 0,16). Muskatöl sorgte ausnahmslos für eine Hemmung der Keimzahl und zwar lg 0,1 bei 0,25% und lg 0,13 bei 0,5% und 0,75% (SD 0,12). Auch die Kombiöle hatten eine leichte Senkung zur Folge. Die 0,25% Konzentration senkte die Keimzahl um lg 0,03, 0,5% um lg 0,1 und 0,75% Kombiöl senkten sie um lg 0,2 (SD 0,24) im Vergleich zur Kontrolle. Am 5. Untersuchungstag hemmten ausnahmslos alle eingesetzten Öle und ihre Konzentrationen die aerobe Gesamtkeimzahl. Nelkenöl führte in 0,25%iger Konzen-tration zu einer Senkung von lg 0,6. Die anderen beiden hemmten um je lg 0,45 (SD 0,2). Verglichen mit der Positivkontrolle senkte Muskatöl 0,25%- und 0,5%ig um lg 0,39 und lg 0,41. In seiner höchsten Variante sogar um lg 0,79 (SD 0,18). Beim Kombiöl fielen die Werte ähnlich aus, so sank die Zahl aeroben Keime um lg 0,47 bei 0,25% Öl, um lg 0,58 bei 0,5% und um lg 0,63 bei 0,75% (SD 0,33). Auch an Tag 7 zeigte sich bei Nelken- und bei Muskatöl durchweg eine Hemmung. Nelkenöl verzeichnete bei 0,25% eine Senkung um lg 0,29, bei 0,5% um lg 0,32 und bei 0,75% um lg 0,45 (SD 0,23). Die Hemmung durch Muskatöl bewegte sich im gleichen Bereich, so sank die Keimzahl um lg 0,21 bei 0,25%, um lg 0,32 bei 0,5% und um lg 0,42 bei 0,75% (SD 0,35). Das Kombiöl demonstrierte an diesem Tag ein anderes Verhalten, es stieg die Zahl der Keime bei 0,25%iger Lösung um lg 0,41, zu einer leichten Hemmung der Keimzahl kam es bei den Konzentrationen 0,5% und 0,75% um lg 0,1 (SD 0,19). Anders als an Tag 7, an dem Nelke und Muskat die Keimzahl senkten, stieg sie an Untersuchungstag 10 bei beiden Ölen, bis auf eine Ausnahme, nämlich die Reduktion mit 0,75%igem Muskatöl um lg 0,23. Alle drei angewandten Konzentrationen des Nelkenöls führten in Relation zur Kontrolle zum

Anstieg der Keimzahl von lg 0,02 bis 0,86 (SD 0,74). Bei Muskatöl nahm die Keimzahl, wie schon erwähnt außer bei 0,75%, um log 0,25 bis 0,4 (SD 0,58) mehr zu als bei der Kontrolle. Die mit Kombiöl behandelten Proben zeigten an diesem Tag ein Keimwachstum von lg 0,1 bei 0,75%, um lg 0,96 bei 0,5% und sogar um lg 1,56 bei 0,25% Öl (SD 0,87), welches das Wachstum bei der Kontrolle überstieg. Auch an Tag 14 stieg die Keimzahl bei 0,25%igem Nelkenöl (lg 0,26), 0,5% und 0,75%iges Nelkenöl senkten die Zahl um lg 0,34 und lg 0,6 (SD 1,3). Muskatöl hemmte mit allen Konzentrationen die Zahl der Keime. 0,25% führten zu einer Hemmung von lg 0,57, 0,5% von lg 1,27 und 0,75% um lg 1,57 (SD 0,49). Ein Wachstum von 1,04 Logstufen war bei Einsatz von 0,25%igem Kombiöl zu verzeichnen. Eine Konzentration von 0,5% Kombiöl sorgte für ein Wachstum von log 0,72. Der erste signifikante Unterschied, der sich bei der Untersuchung der aeroben Gesamtkeimzahl einstellte, zeigte sich bei 0,75% Kombiöl, hier kam es zur deutlichen Hemmung der Keimzahl von lg 1,41, wodurch sich diese Konzentration, bzw. die durch sie entstandene Inhibition der Keimzahl, von den anderen signifikant unterschied (SD 0,28). An Tag 21 hemmten alle Öle und ihre Konzentrationen die Keimzahl, bis auf 0,25%iges Kombiöl, hier kam es zu einem Wachstum um den Faktor lg 0,23, während die anderen beiden Konzentrationen dieses Öles die aerobe Keimzahl um lg 1,29 und um lg 1,5 inhibierten (SD 1,5). Nelken- und Muskatöl wirkten in sehr ähnlichem Maße auf die Keimzahl, so fiel die Zahl bei 0,25% Nelkenöl um lg 1,43, bei Muskat um 1,17 Logstufen ab. Die Konzentrationen 0,5% und 0,75% Nelkenöl hemmten das Keimwachstum um lg 1,78 und lg 2,6 (SD 0,46). Selbige Konzentrationen des Muskatöles hemmte diese um lg 2,3 (0,5%) und lg 2,7 (0,75%) (SD 1,44) verglichen mit der Positivkontrolle. Es stellte sich allerdings kein signifikanter Unterschied ein.

An Untersuchungstag 2 inhibierte Muskat- und Kombiöl insgesamt die Keimzahl geringfügig um lg 0,11, bei Nelkenöl kam es zu leichtem Wachstum von lg 0,02 (SD 0,31). Alle Öle hemmten die Keimzahl im Mittel an Tag 5 um lg 0,5 (SD 0,25). An Tag 7 senkten Nelken- und Muskatöl die Zahl der Keime um lg 0,3. Kombiöl konnte ein Wachstum um lg 0,1 nicht verhindern (SD 0,59). An Tag 10 verstärkte sich das Wachstum bei Kombiöl auf lg 0,87 im Vergleich zum Standard. Nelkenöl verzeichnete im Mittel ein Wachstum von lg 0,53 und Muskat um lg 0,14 (SD 0,77). Hier ließ

Kombiöl ein Wachstum um lg 0,12 zu. Nelken- und Muskatöl reduzierten um lg 0,22 und lg 1,14 (SD 1). Alle Öle hemmten im Mittel an Tag 21 die Keimzahl. Nelkenöl um lg 1,9, Muskatöl um lg 2,1 und Kombiöl um lg 0,87 (SD 1,1).

Tabelle 8: Keimzahlen der aeroben Gesamtkeimzahl während der Lagerung unter Einfluss von etherischen Ölen der Chargen 1 bis 3; dargestellt als Mittelwerte (n=9) mit Standardabweichung (SD); lg 1,7 ist hier die Nachweisgrenze

	Tag 2 KbE/ml (log10)	SD von Tag 2	Tag 5 KbE/ml (log10)	SD von Tag 5	Tag 7 KbE/ml (log10)	SD von Tag 7	Tag 10 KbE/ml (log10)	SD von Tag 10	Tag 14 KbE/ml (log10)	SD von Tag 14	Tag 21 KbE/ml (log10)	SD von Tag 21
Referenz	1,8	0,29	2,3	0,0	2,3	0,86	1,8	0,5	3,5	1,81	6,2	1,12
Ne 0,25%	1,5	0,31	1,7	0,1	1,8	0,41	1,8	0,5	3,2	2,18	3,5	1,88
Ne 0,5%	1,9	0,34	1,9	0,2	1,8	0,43	2,7	1,82	3,8	2,26	4,4	2,22
Ne 0,75%	1,9	0,34	1,8	0,2	1,7	0,46	2,5	1,77	2,9	1,6	4,7	2,77
Mu 0,25%	1,6	0,38	1,9	0,3	1,7	0,59	2,1	0,58	2,2	1,93	5	1,17
Mu 0,5%	1,7	0,29	1,5	0,2	1,9	0,77	2,2	1,22	2,9	1,76	3,6	2,74
Mu 0,75%	1,6	0,32	1,9	0,1	1,8	0,74	1,6	0,22	1,9	1,86	3,6	1,95
Kombi 0,25%	1,7	0,4	1,8	0,4	2,5	1,52	1,9	0,55	2,1	0,81	4,4	1,72
Kombi 0,5%	1,6	0,42	1,7	0,5	2	1,17	3,4	1,81	4,2	1,32	6,4	0,96
Kombi 0,75%	1,7	0,23	1,7	0,1	2,1	0,6	2,8	0,83	4,5	1,57	5,1	2,41

Ne = Nelkenöl; Mu = Muskatöl; Kombi = Kombinationsöl

Abbildung 23 - Abbildung 28 stellen die Hemmung und das Wachstum in Bezug auf die Kontrolle der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl in den behandelten Wurstscheiben als gemittelte Werte (n=9) für jeden Untersuchungstag in Form eines Balkendiagramms gesondert dar. Die Nulllinie ist hierbei der Standard. Graue Balken zeigen eine Hemmung, schwarze ein Wachstum der Keime. Die x-Achse stellt die verschiedenen Kombinationen aus Ölen und ihren Konzentrationen dar, die y-Achse zeigt den Logarithmus der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml).

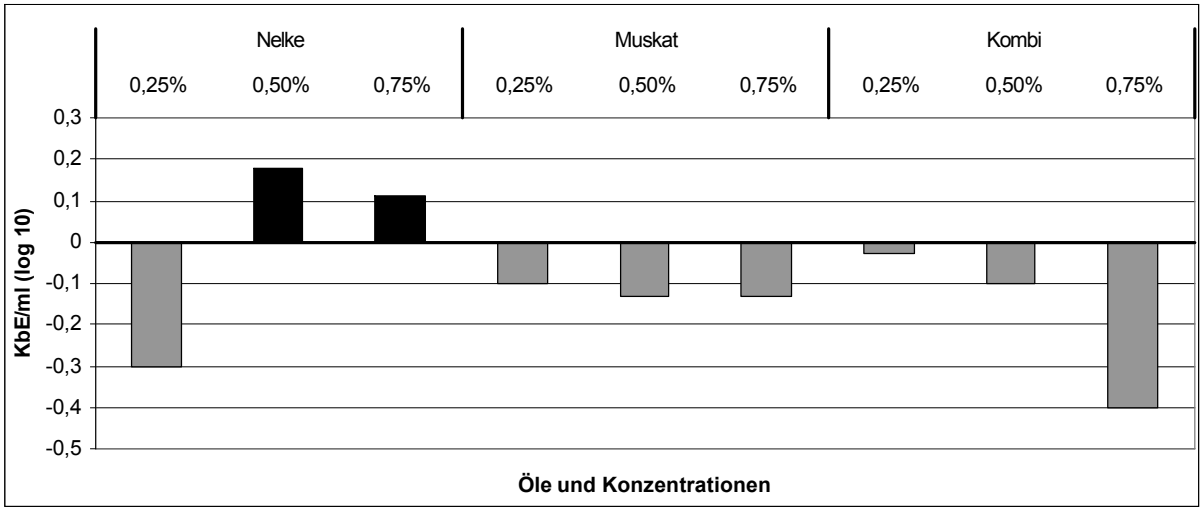

Abbildung 23: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 2 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

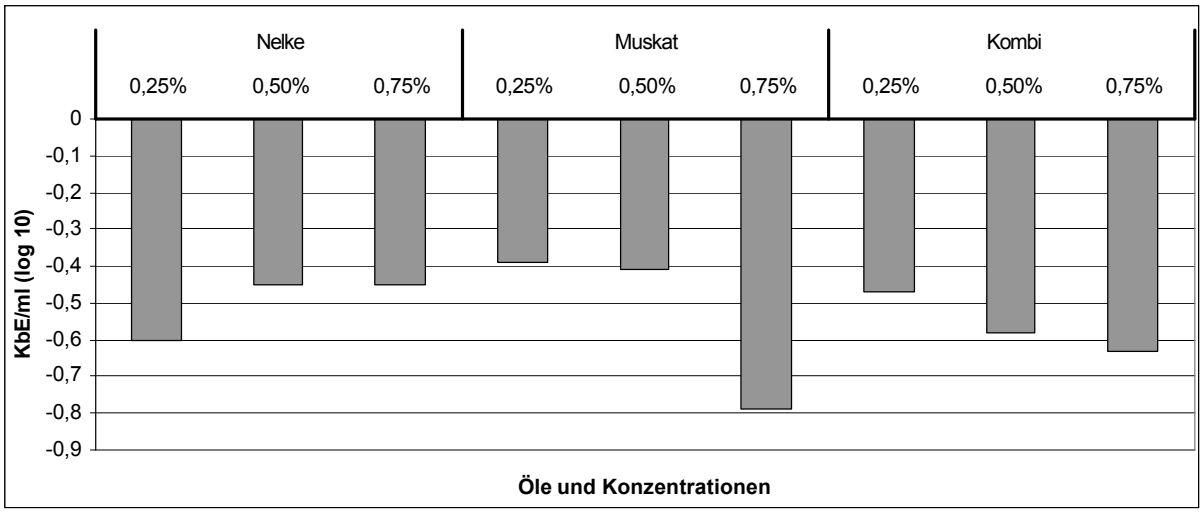

Abbildung 24: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 5 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

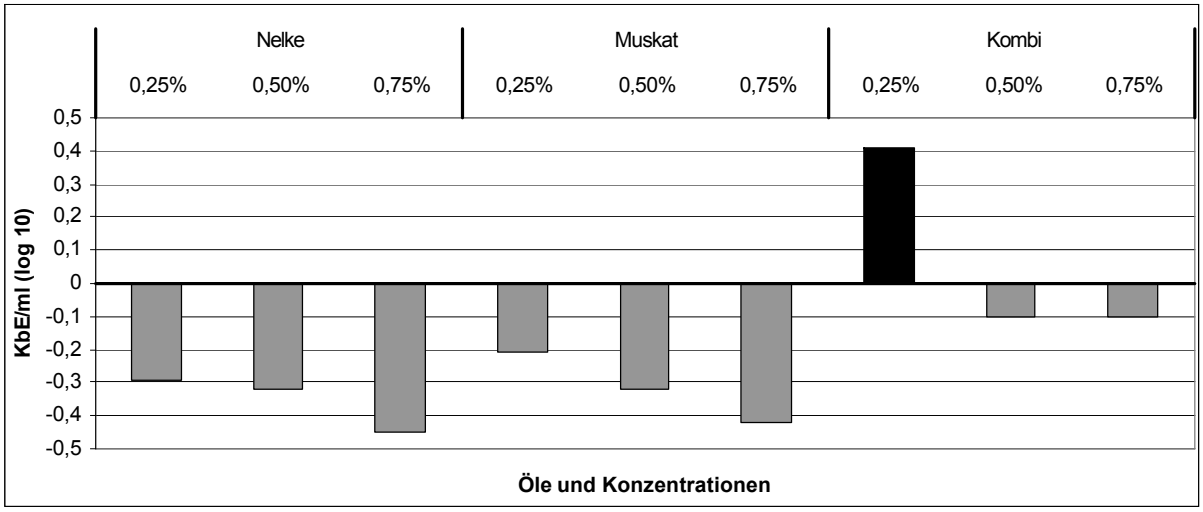

Abbildung 25: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 7 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

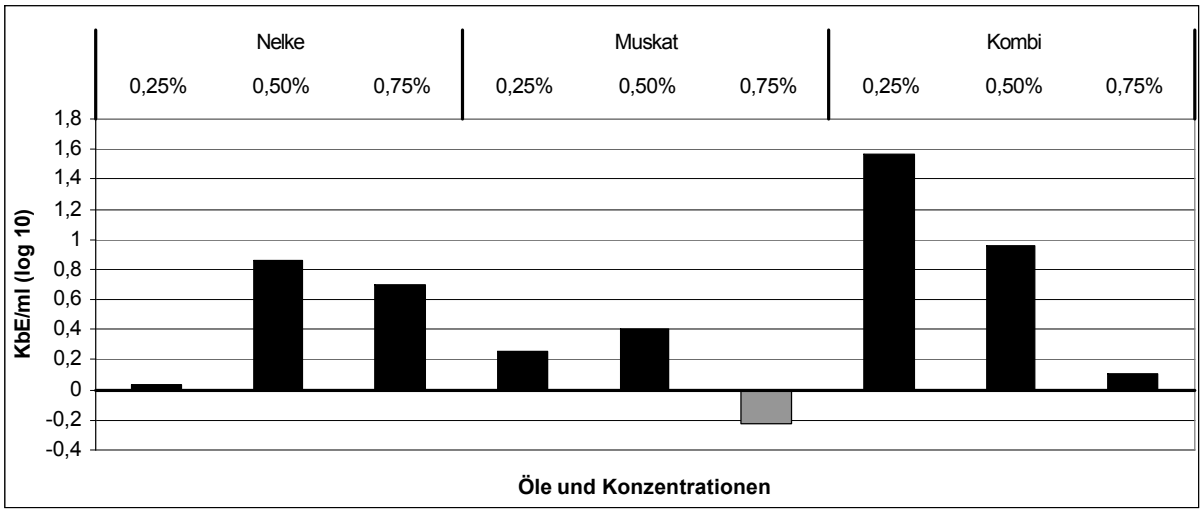

Abbildung 26: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 10 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

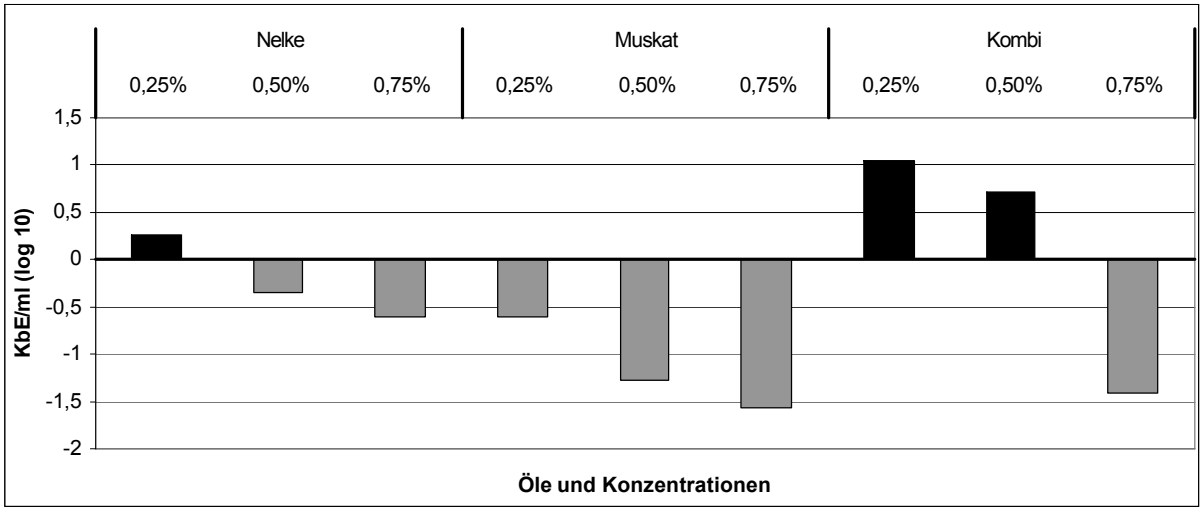

Abbildung 27: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 14 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

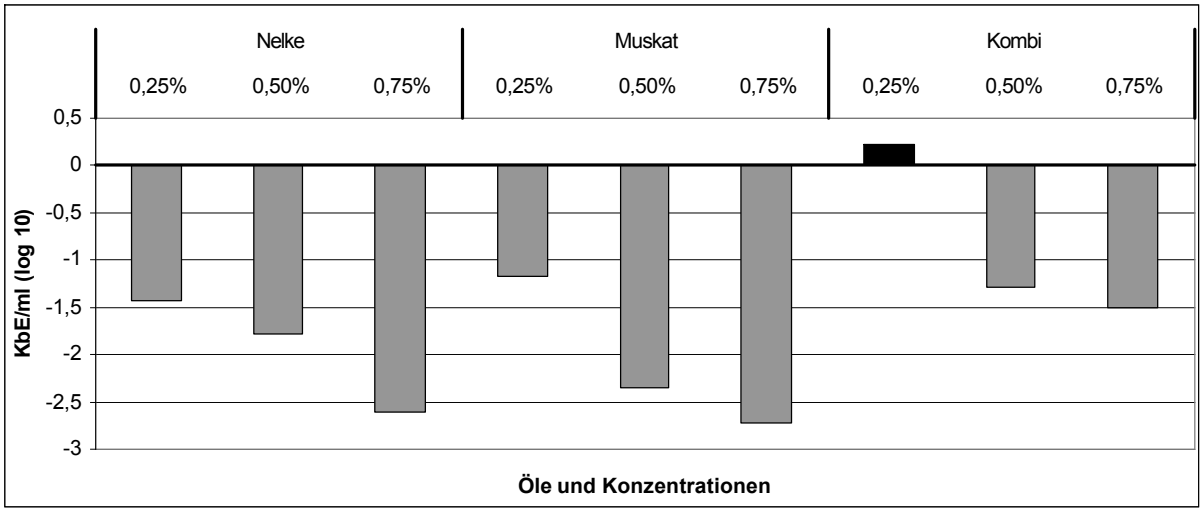

Abbildung 28: Verhalten der aeroben Gesamtkeimzahl am Untersuchungstag 21 unter Einsatz von Nelken-, Muskat- und der Kombination beider Öle in den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle

Grauer Balken: Hemmung
Schwarzer Balken: Wachstum

4.2.2 Physikalische Untersuchungen

4.2.2.1 pH-Wert

In der Abbildung 29 sind die pH-Wert Verläufe der einzelnen Wurstbehandlungen der Versuchsdurchläufe 1 bis 3 schematisch dargestellt. Auf der y -Achse sind die Untersuchungszeitpunkte in Tagen und die Behandlungsvarianten angegeben und auf der x -Achse die pH-Werte.

Der pH-Wertverlauf des ersten Durchganges wird mittels hellgrauer Linie dargestellt; gemittelt wurde über alle hergestellten Brühwurstchargen (n=3), da zwischen den einzelnen Chargen kein signifikanter Unterschied ermittelt werden konnte. Gleiches galt für den zweiten und dritten Versuchsdurchlauf (je n=3). Auch hier war kein signifikanter Unterschied festzustellen. Charge Nummer zwei ist durch eine schwarze, die dritte durch eine dunkel graue Linie gekennzeichnet. Vergleicht man die einzelnen Versuchsdurchgänge, so kann man festhalten, dass einzig zu Beginn von Durchgang eins an Untersuchungstag zwei die mit 0,25% und 0,5% Muskatöl behandelten Wurstscheiben am oberen Limit der pH-Wert Grenze von 6,5 (WEBER 2003) lagen. Am Untersuchungstag 21 lagen die Werte des zweiten Versuchsdurchganges weitgehend knapp über denen des dritten Durchganges, außer bei 0,75% Muskat, hier lagen Durchgang drei um 0,02 höher als der zweite und bei 0,75% Kombination (0,12 höher).

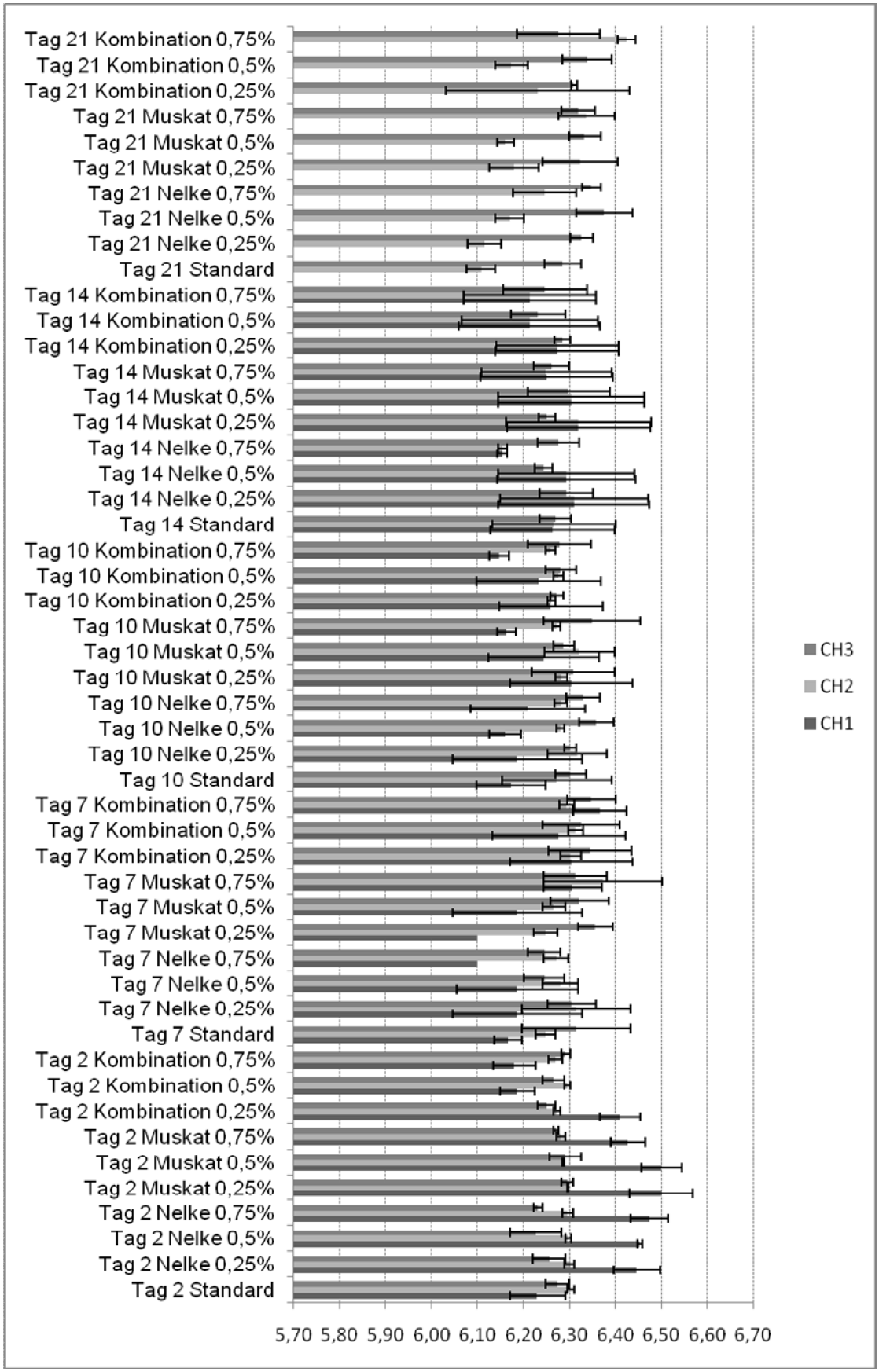
Tag 21 Kombination 0,75%
Tag 21 Kombination 0,5%
Tag 21 Kombination 0,25%
Tag 21 Muskat 0,75%
Tag 21 Muskat 0,5%
Tag 21 Muskat 0,25%
Tag 21 Nelke 0,75%
Tag 21 Nelke 0,5%
Tag 21 Nelke 0,25%
Tag 21 Standard
Tag 14 Kombination 0,75%
Tag 14 Kombination 0,5%
Tag 14 Kombination 0,25%
Tag 14 Muskat 0,75%
Tag 14 Muskat 0,5%
Tag 14 Muskat 0,25%
Tag 14 Nelke 0,75%
Tag 14 Nelke 0,5%
Tag 14 Nelke 0,25%
Tag 14 Standard
Tag 10 Kombination 0,75%
Tag 10 Kombination 0,5%
Tag 10 Kombination 0,25%
Tag 10 Muskat 0,75%
Tag 10 Muskat 0,5%
Tag 10 Muskat 0,25%
Tag 10 Nelke 0,75%
Tag 10 Nelke 0,5%
Tag 10 Nelke 0,25%
Tag 10 Standard
Tag 7 Kombination 0,75%
Tag 7 Kombination 0,5%
Tag 7 Kombination 0,25%
Tag 7 Muskat 0,75%
Tag 7 Muskat 0,5%
Tag 7 Muskat 0,25%
Tag 7 Nelke 0,75%
Tag 7 Nelke 0,5%
Tag 7 Nelke 0,25%
Tag 7 Standard
Tag 2 Kombination 0,75%
Tag 2 Kombination 0,5%
Tag 2 Kombination 0,25%
Tag 2 Muskat 0,75%
Tag 2 Muskat 0,5%
Tag 2 Muskat 0,25%
Tag 2 Nelke 0,75%
Tag 2 Nelke 0,5%
Tag 2 Nelke 0,25%
Tag 2 Standard
5,70 5,80 5,90 6,00 6,10 6,20 6,30 6,40 6,50 6,60 6,70
CH3
CH2
CH1

Abbildung 29: Verlauf des pH-Wertes der Wurstscheiben aus den Chargen (Versuchsdurchgängen) 1 bis 3 über den Lagerungsverlauf, dargestellt als Mittelwert ±SD (n=3)

CH1 = Charge 1; CH2 = Charge 2; CH3 = Charge 3

4.2.2.2 L*a*b*-Farbmessung

4.2.2.2.1 L*-Wert

Abbildung 30 zeigt die Helligkeitswerte (L*) der Chargen 1 bis 3. Auf der y-Achse sind die Untersuchungszeitpunkte und Behandlungsvarianten während der Lagerung dargestellt, auf der x-Achse die dimensionslosen L*-Werte.

Die Helligkeitswerte aller Wurstvarianten in den Chargen 1 bis 3 unterschieden sich über den Lagerungszeitraum trotz erkennbarer Schwankungen zwischen den einzelnen Untersuchungstagen nur gering voneinander. Alle drei Chargen hatten gemeinsam, dass der Helligkeitswert mit der Dauer der Lagerung leicht anstieg. Bei Charge 3 blieb der Helligkeitswert fast identisch. Charge 1 zeigte an Untersuchungstag 9 leichte Schwankungen (von Nelke 0,75% 62,5; bis Muskat 0,5% 65,94). Am 15. Tag liefen die Werte fast deckungsgleich mit denen der Charge 2, gleiches galt für den Herstellungstag, an dem die Referenzwurstscheiben der Chargen 1 und 2 die Werte 62,33 und 62,34 aufwiesen. Der Helligkeitswert lief anschließend auf einem etwas dunkleren Niveau, um dann ab dem 15. Untersuchungstag, wie bereits erwähnt, den Werten von Charge 1 sehr nah, etwas heller zu werden. Charge 3 zeigte die geringsten Schwankungen. Hier lag der dunkelste und damit niedrigste Wert bei 62,26 am Untersuchungstag 0. Der hellste Wert wurde erreicht am 15. Tag bei einer mit 0,25%igem Kombi-Öl behandelten Wurstprobe. Die Charge 2 bildete aber in der Tendenz eine Ausnahme, da die L*-Werte bis zum 9. Lagerungstag niedriger waren als die der anderen beiden Chargen, ab Tag 15 aber leicht höher waren. Die Helligkeitswerte in den Chargen unterschieden sich trotz kleiner Schwankungen nicht voneinander.

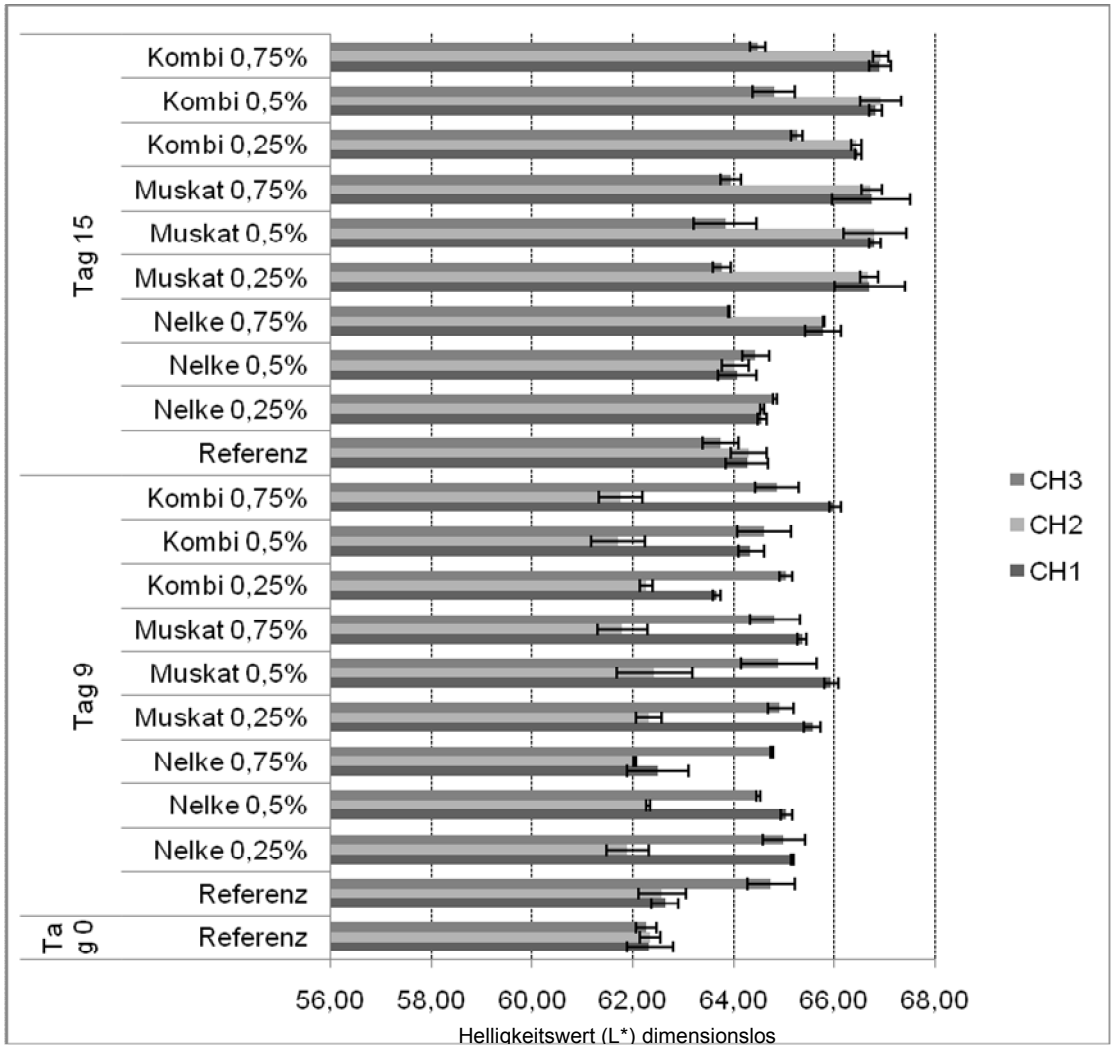

Abbildung 30: Helligkeitswerte (L*-Wert) der Wurstscheiben aus den Chargen (Versuchsdurchgängen) 1 bis 3 über den Zeitraum von 15 Tagen, pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht

CH1 = Charge 1; CH2 = Charge 2; CH3 = Charge 3

4.2.2.2.2 a*-Wert

Abbildung 31 zeigt die Veränderungen des Rottons (a*) in allen drei Chargen. Auf der y-Achse die Untersuchungstage mit den verschiedenen Behandlungsvarianten dargestellt, auf der x-Achse die dimensionslosen a*-Werte.

Wie in Abbildung 31 ersichtlich, zeigte Charge 1 einen leichten Anstieg der Werte bei den behandelten Würsten am Tag 9 im Vergleich zum Referenzwert von a* 5,84 auf bis zu a* 6,78. Ab Tag 15 waren die Rottonwerte fast identisch mit denen der Charge 2.

Charge 2 bewegte sich während des gesamten Lagerungsversuches sehr dicht um den Rotwert a* 6 herum. Schwankungen bewegten sich lediglich in einem Bereich zwischen a* 5,74 und a* 6,68. Von allen drei Chargen war sie also diejenige, die die konstantesten Werte aufwies. Die Rotwerte der Charge 3 lagen größtenteils knapp unter denen der anderen beiden Chargen. Ein Abfall der Werte war nur bei dem mit Kombiöl 0,25%ig behandelten Wurstscheiben sowohl an Tag 9 als auch Tag 15 zu verzeichnen. Hier fiel der Wert einmalig auf a* 4,46 (SD 0,06 und 0,01).

Alle drei Chargen verliefen sehr ähnlich. Die Farbhaltung blieb in etwa gleich. Selbst bei den Referenzscheiben, welche die mit Kochsalzlösung behandelten Kontrollen darstellten, war nur ein minimaler Abfall der Werte von a* 0,1, 0,7 und 0,3 zu erkennen.

Die Unterschiede der Rotwerte und ihre Entwicklung in den Chargen 1 bis 3 waren als geringfügig zu bezeichnen.

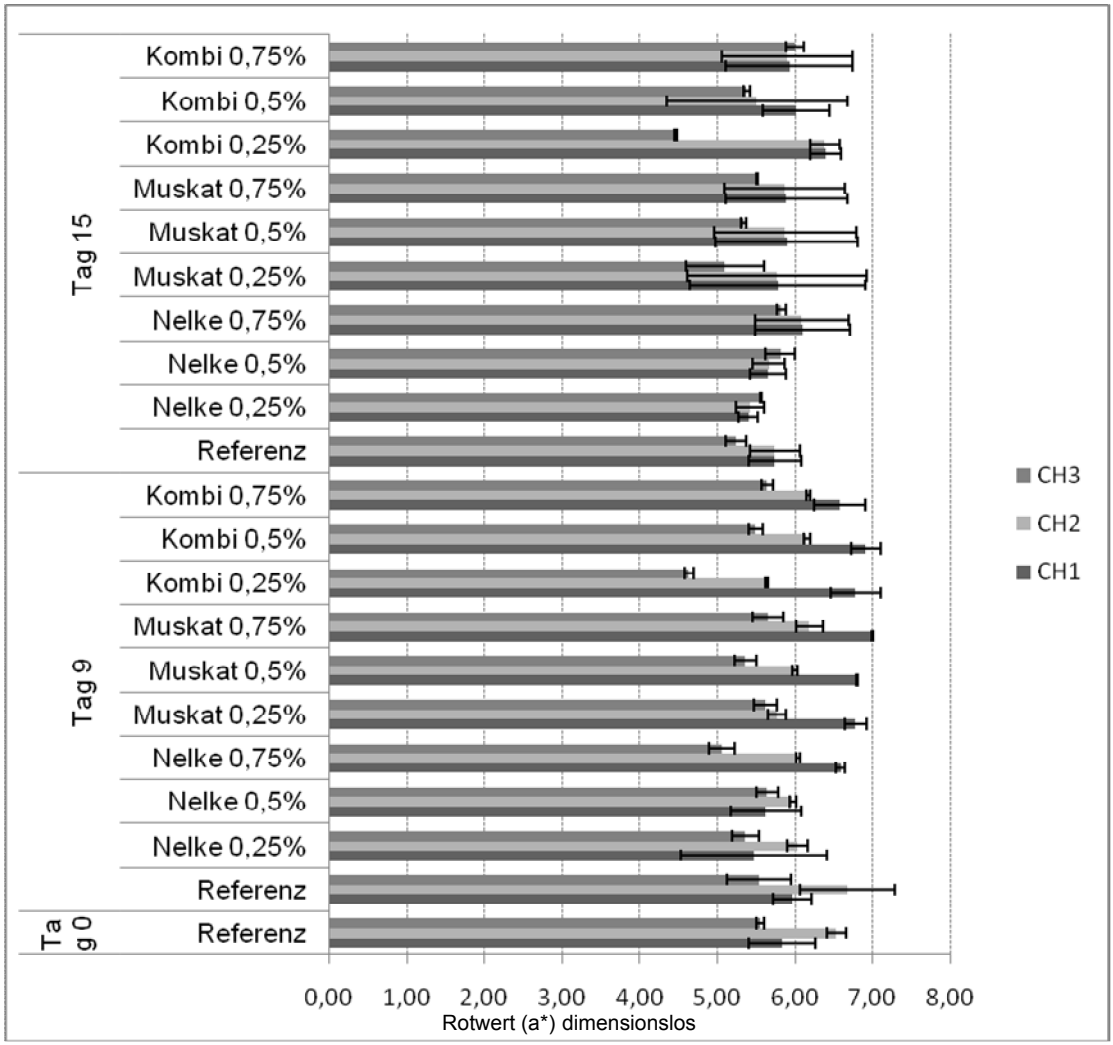

Abbildung 31: Rotwerte (a*-Wert) der Wurstscheiben aus den Chargen 1 bis 3 über den Zeitraum von 15 Tagen, pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht

CH1 = Charge 1; CH2 = Charge 2; CH3 = Charge 3

4.2.2.2.3 b*-Wert

In Abbildung 32 sind die Gelbwerte b* der Chargen 1 bis 3 in Form eines Liniendiagramms dargestellt. Auf der y-Achse sind die Untersuchungstage mit den verschiedenen Behandlungsvarianten angegeben, auf der x-Achse die dimensionslosen b*-Werte.

Die Variation der Gelbwerte (b*) aller drei Chargen war extrem gering und bewegte sich in einem Bereich von b* 8,72 (Charge 1, Kombi 0,25%) bis b* 9,97 (Charge 3, Kombi 0,25%). Es waren keine Unterschiede zwischen den Chargen zu erkennen.

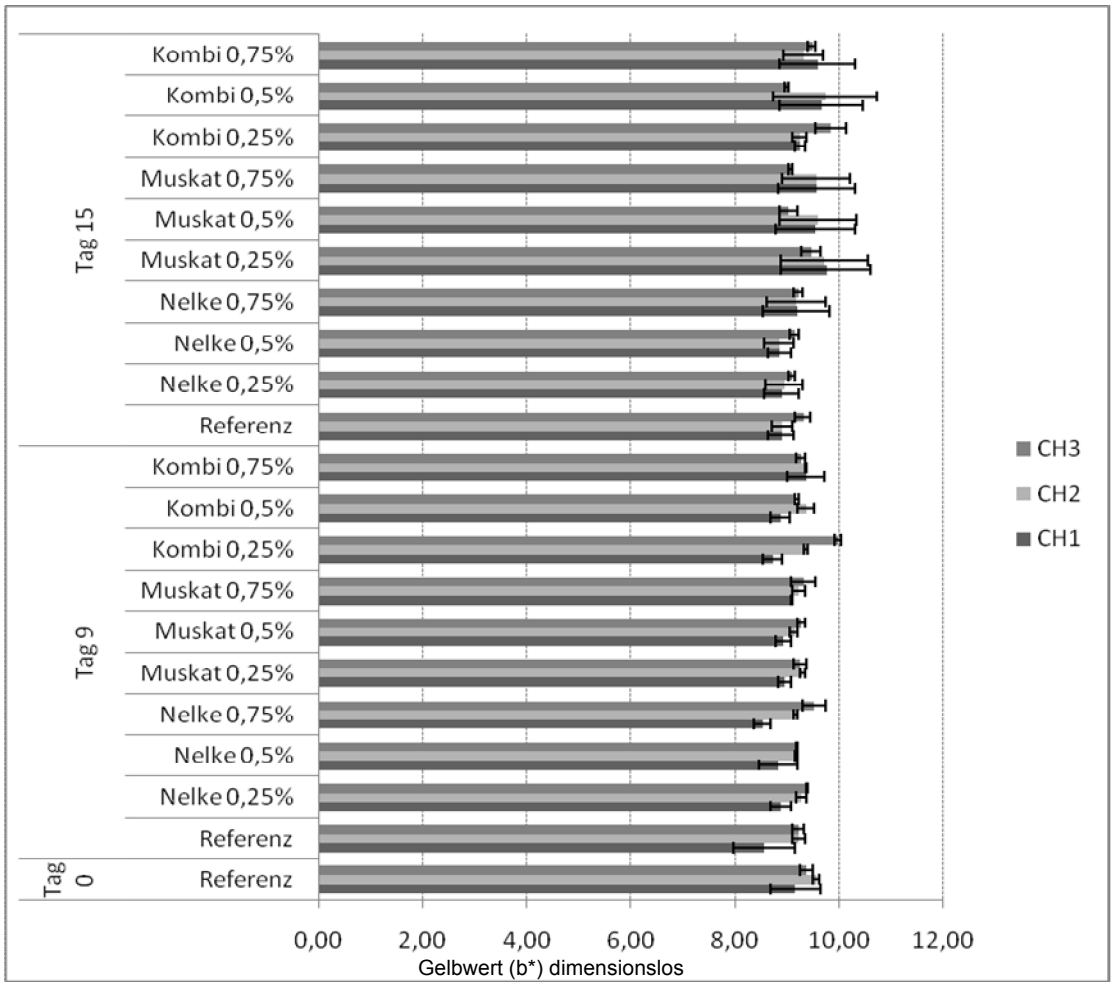

Abbildung 32: Gelbwerte (b*-Wert) der Wurstscheiben aus den Chargen (Versuchdurchgängen) 1 bis 3 über den Zeitraum von 15 Tagen, pro Datenpunkt wurden 2 Messungen gemacht

CH1 = Charge 1; CH2 = Charge 2; CH3 = Charge 3

4.2.2.3 a_W-Wert

Abbildung 33 zeigt den Verlauf des a_w-Wertes als Balkendiagramm während der Lagerungsversuche. Die y-Achse stellt die Untersuchungstage und die unterschiedlichen Behandlungsvarianten, die x-Achse den a_w-Wert dar.

Während des gesamten Zeitraumes lagen die Werte ausnahmslos und unabhängig von der Charge zwischen 0,97 und 0,98.

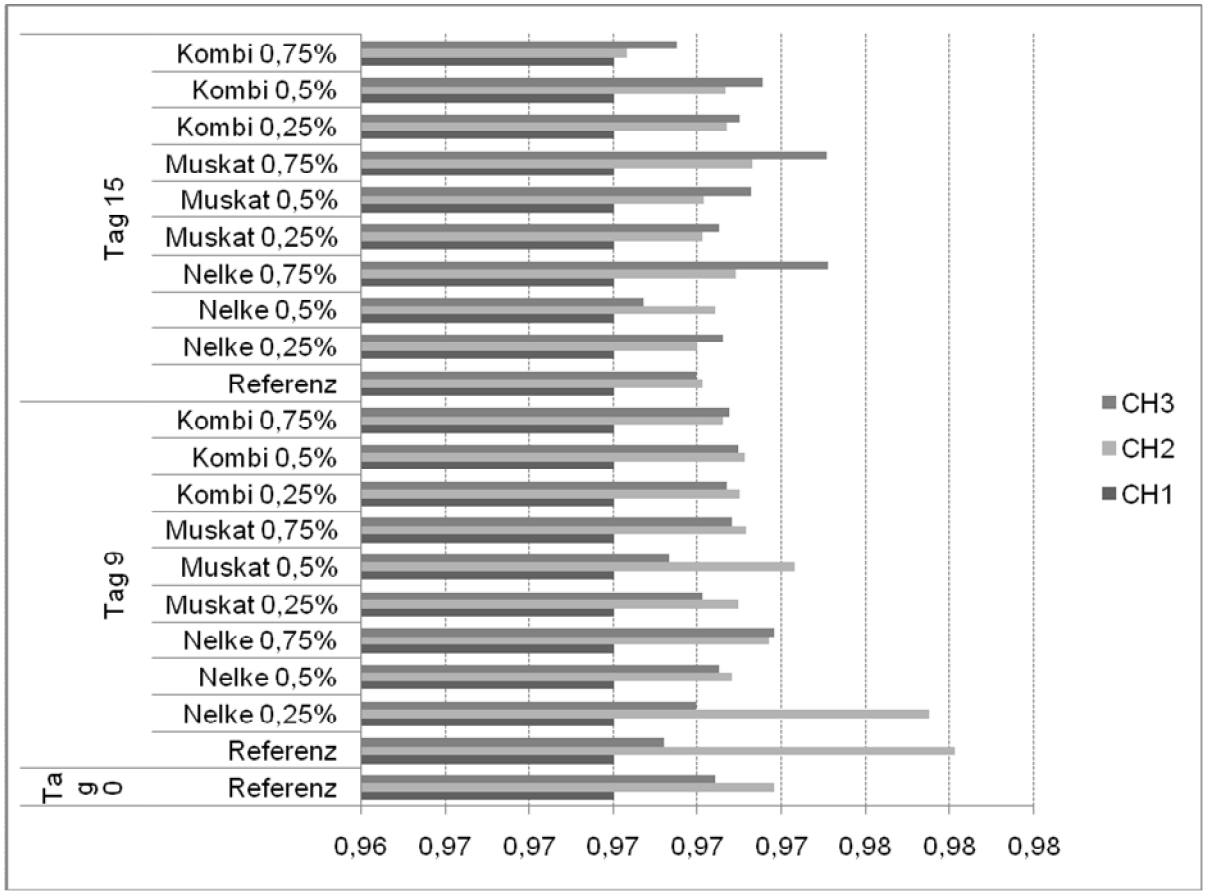

Abbildung 33: Verlauf des a_w-Wertes der Wurstscheiben der Chargen (Versuchsdurchgängen) 1 bis 3 über den Lagerungszeitraum; pro Datenpunkt wurden 2 Messungen durchgeführt

CH1 = Charge 1; CH2 = Charge 2; CH3 = Charge 3

4.2.3 Chemische Untersuchungen

Die Ergebnisse der chemischen Vollanalyse sind tabellarisch in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Ergebnisse der chemischen Vollanalyse an Tag 0 der Chargen (Versuchdurchgängen) 1 bis 3, pro Charge wurden zwei Messungen durchgeführt

Charge	Asche (%)	TS (%)	Gesamt wasser (%)	Gesamt fett (%)	Gesamt eiweiß (%)	ONF (%)	HP (%)	BEFFE (%)	BEF-FE/FE (%)
1	2,6	38,3	61,7	24,1	12,1	11,6	0,3	8,7	76,1
1	2,7	38,0	62,0	23,9	12,1	11,4	0,3	9,1	80,8
2	2,6	41,7	58,3	26,4	12,0	12,8	0,3	9,0	77,1
2	2,6	41,2	58,8	26,7	12,1	11,9	0,3	9,5	78,5
3	2,6	41,5	58,5	26,5	12,4	12,4	0,3	9,3	78,5
3	2,6	41,1	58,9	26,4	12,4	12,1	0,3	9,0	77,0

Die chemische Vollanalyse wurde pro Versuchsdurchgang am Herstellungstag durchgeführt, um sicher zu gehen, dass es sich bei den Brühwürsten um Würste der Spitzenqualität handelte.

4.2.4 Sensorische Untersuchungen

4.2.4.1 Geruch

Abbildung 34 zeigt die Benotung des Geruchs in Anlehnung an die ISO Norm 6564, durchgeführt von 10 Prüfern an jedem Untersuchungstag in Form eines Netzdiagramms. Die Mittelwerte aus den Einzelwerten der untersuchten Wurstscheiben (n = 9) für das Attribut Geruch sind von innen nach außen ansteigend dargestellt.

Generell war zu beobachten, dass die Noten fast ausnahmslos geringfügig während der Lagerung abfielen, dies war aber nicht signifikant. Je höher die Note desto stärker die Abweichung des Produktes gegen den Standard. Als Standard galten hier nicht mit Öl behandelte Wurstscheiben. Den höchsten Wert wiesen die Wurstschei-

ben jeweils an Tag 2 auf. Die niedrigsten Werte an Tag 2 wiesen Nelke 0,25% mit der Note 1,8 und Kombi 0,25% mit der Note 2 auf. Es ließ sich beobachten, dass die Noten bei den mit Muskatöl behandelten Wurstscheiben etwas höher lagen als bei denen mit Nelkenöl. So lag Nelke 0,25%, wie schon erwähnt bei 1,8, Muskat in gleicher Konzentration wurde mit der Note 2,3 bewertet. Nelke 0,5% erhielt die Note 2,5 Muskat 2,7. Die höchste Konzentration von 0,75% brachte für Nelkenöl die Note 3 für Muskat 3,2 ein. Die kombiölbehandelten Wurstscheiben lagen mit den Noten 2, 3,2 und 2,9 dazwischen. Nelke wurde also klar als weniger abweichend vom Standard benotet als Muskat.

Mit fortschreitender Lagerung sank der Unterschied zum Standard. Dabei war zu beobachten, dass der Abfall der Noten von Tag 2 zu Tag 6 deutlicher war, sie lagen gemittelt im Bereich von 0,3-1, als von Tag 6 zu Tag 9, wo sie, bis auf wenige Ausnahmen fast konstant blieben. Eine Ausnahme davon war Nelke 0,25% mit einem Abfall der Note von 1,5 auf 1. Der Abfall von Tag 9 auf Tag 14 war geringer als der nach Tag 2. Signifikante Unterschiede weisen Muskat 0,75% und Kombi 0,75% an Tag 2 auf. Sie bekamen im Mittel beide die Note 3,2 (SD 1,2) und unterschieden sich so signifikant von den anderen behandelten Wurstscheiben (TUKEY-Test $p < 0,05$). Auch Nelke 0,5% an Tag 14 war signifikant unterschiedlich zu den anderen Behandlungen. Diese Scheiben erhielten die Note 0,8 (SD 1,2). Nicht signifikant unterschiedlich zeigten sich an Tag 2 die 0,25%ig behandelten Wurstscheiben aller drei Öle. An Tag 6 waren nicht signifikant unterschiedlich die Konzentrationen 0,25% und 0,75% des Muskatöls, 0,5%- und 0,75%iges Nelkenöl und das 0,5%ige Kombiöl. Der folgende Untersuchungstag 9 zeigte keinen signifikanten Unterschied der Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% aller Öle. Gleiches galt für die Wurstscheiben an Untersuchungstag 14, die mit 0,75%gen Öllösungen behandelt wurden.

Am niedrigsten bewertet und damit am geringsten abweichend vom Standard waren Nelke 0,25% und 0,5%, Muskat 0,25%, Kombi 0,25% und 0,5%. Sie alle bekamen Noten die gemittelt deutlich unter 2 (1,6-0,8) lagen und sich damit nur gering vom Standard unterschieden. An 3 von 4 Untersuchungstagen waren Nelke 0,25% und Kombi 0,25% unter den am niedrigsten bewerteten Behandlungen, dagegen kam Muskat 0,25% nur an einem Tag an so einen niedrigen Wert (1,6) (SD 1,2) heran.

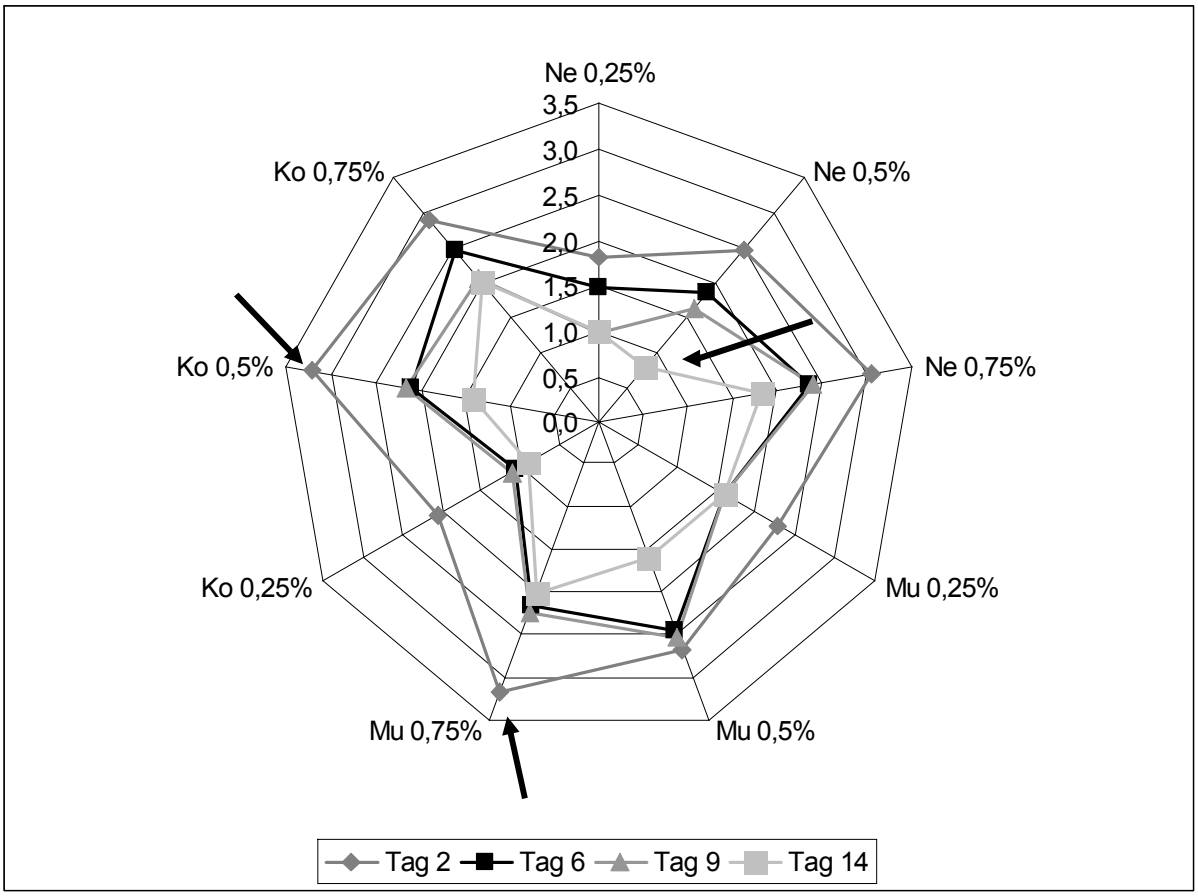

Abbildung 34: Ergebnisse der sensorischen Untersuchung für das Merkmal Geruch, gemittelt über alle Chargen (n = 9); Pfeil: statistisch signifikante Unterschiede (TUKEY-Test $p < 0,05$)

4.2.4.2 Geschmack

Abbildung 35 stellt die Benotung des Geschmacks in Form eines Netzdiagramms dar. Die Wurstscheiben wurden an den verschiedenen Untersuchungstagen von je 10 Prüfern gegen den Standard verglichen. Die Mittelwerte aus den Einzelwerten der untersuchten Wurstscheiben (n = 9) für das Attribut Geschmack sind von innen nach außen ansteigend dargestellt.

Der Geschmack von Nelkenöl in 0,25%iger Konzentration wurde von den Prüfern sehr gut toleriert, das heißt, hier kamen Noten von durchweg 1,2 bis 1,6 zustande. Den niedrigsten Wert zeigte die Kombination beider Öle als 0,25%ige Konzentration mit der Note 1,1. Ebenfalls unter einem Wert von 1,6 und damit dem Standard sehr

nahe lagen Nelkenöl 0,5% an den Tagen 6 und 9. An diesen Tagen wiesen auch Muskat 0,25% und Nelke 0,75%, sowie Kombi 0,25% niedrige Noten im Bereich von 1,1 bis 1,6 auf (SD 1,3). Wie zu erwarten lagen die niedrigen Konzentrationen also durchweg nah am Standard, während die 0,75% Konzentration von Muskat -und Nelkenöl die deutlichsten Abweichungen darstellte. Die Kombiölvariante in 0,25%iger Konzentration wies an Tag 6 mit 3,3 die stärkste Diskrepanz zum Standard auf. Bis Tag 14 fiel die Note dieser Ölkonzentration allerdings auf 1,1 den niedrigsten Wert während der Lagerung. Allgemein wurde der Geschmack von Nelkenöl besser, beziehungsweise als dem Originalprodukt ähnlicher, benotet.

Während der Lagerung kam es nicht, wie bei der Bewertung des Geruchs, zu einem stetigen Abfall der Noten. Es zeigte sich vielmehr ein durchwachsenes Bild, so wurde beispielsweise Muskat 0,75% an Tag 14 als stärker abweichend beurteilt (2,6) als an Tag 9 (2). Keines der Öle wurde stetig als weniger stark abweichend eingestuft. Signifikant unterschiedlich (TUKEY-Test $p < 0,05$) vom Rest der Bewertung war das Kombiöl in 0,25%iger Konzentration an Tag 6 und 14 sowie Nelke ebenfalls in seiner niedrigsten Konzentration. Nicht signifikant unterschiedlich zueinander waren an Tag 2 der Lagerung Nelke 0,5%, Muskat 0,25% und 0,5% sowie Kombi 0,5% und 0,75%, sowie an Tag 9 Nelke 0,25% und 0,75% und Muskat 0,75%. Alle Behandlungsarten des Kombiöls zusammen mit der Konzentration 0,5% und 0,75% von Nelke und Muskat zeigten am folgenden Untersuchungstag 9 keinen signifikanten Unterschied zueinander. Am letzten Tag der sensorischen Untersuchung war es geschlossen alle Muskatöle, sowie die höher konzentrierten Nelken- und Kombiöle, die sich nicht signifikant im Grad der geschmacklichen Abweichung zum Standard unterschieden.

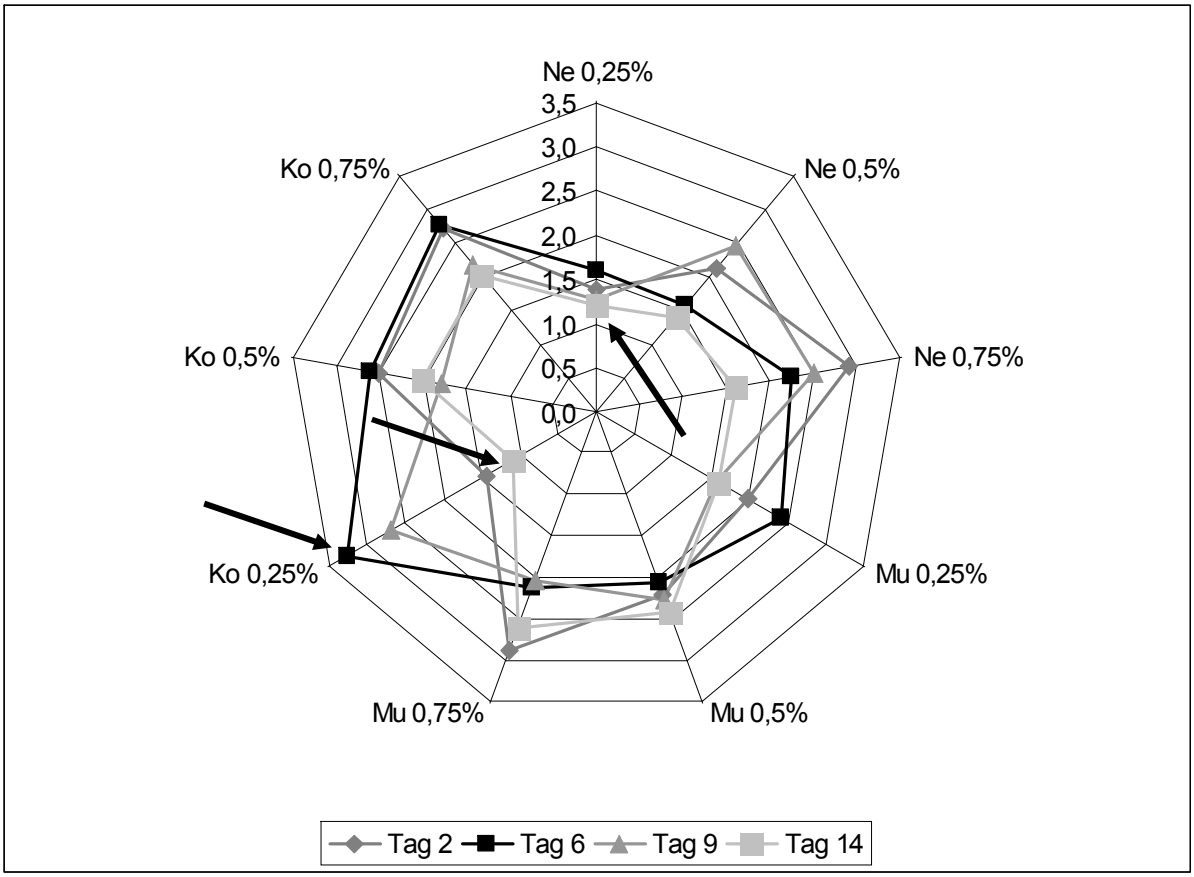

Abbildung 35: Ergebnisse der sensorischen Untersuchung für das Merkmal Geschmack, gemittelt über alle Chargen (n = 9); Pfeil: statistisch signifikante Unterschiede (TUKEY-Test $p < 0,05$)

Nach der sensorischen Prüfung wurden die Teilnehmer befragt, ob sie das Produkt kaufen würden oder nicht. Alle sprachen sich positiv für den Standard, die Mortadella der Meisterklasse aus, was einem Prozentsatz von 100 entsprach. Bei einem Zusatz von 0,25% Öl sprachen sich 75% positiv für Nelkenöl, nur 57% für Muskat und sogar 83% für den Kauf einer mit Kombiöl behandelten Wurst aus. Bei einer Konzentration von 0,5% fiel die Entscheidung zu 55% positiv für Nelkenöl, 40% sprachen sich für Muskatöl und 46% für Kombiöl aus. Die höchste Behandlung mit den größten sensorischen Abweichungen hatte auch den geringsten Zuspruch zur Folge. So lagen die Zahlen der Prüfer, die dieses Produkt konsumieren und damit auch kaufen würden hier nur bei 34%, 35% und 37%.

5 Diskussion

Ziel dieser Studie war es, Informationen zur möglichen Eignung etherischer Öle zur Verlängerung der Haltbarkeit MAP verpackter Brühwurst zu erlangen. Hierzu wurden ausgewählte Verderbniserreger mit den Ölen zusammengebracht und in vitro Versuchen überprüft. In einem sich anschließenden Lagerungsversuch wurden die selbst hergestellten Wurstscheiben verbrauchernahen Lagerungsbedingungen ausgesetzt und der Einfluss der in verschiedenen Konzentrationen hinzugefügten etherischen Öle darauf, untersucht.

In einer Verlaufskontrolle, die sich über den Lagerungszeitraum von 21 Tagen erstreckte, wurde das Wachstumsverhalten der Bakterien überprüft. Auf diese Weise wurde untersucht, ob die etherischen Öle geeignet sind die Haltbarkeit u. a. in den oben genannten Produkten zu verlängern.

5.1 Diskussion von Material und Methoden

5.1.1 Bakterienstämme

Alle drei verwendeten Bakterienstämme (*Brochothrix thermosphacta* DSM Nr. 20171, *Lactobacillus sakei* DSM Nr. 6333 und *Pseudomonas fragi* DSM Nr. 3456) entstammen der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und gehören zur typischen Verderbniskeimflora, unter anderem, schutzgasverpackter Fleischerzeugnisse, weshalb es interessant erschien, diese Keime zu testen. *Brochothrix thermosphacta* gilt als häufiger Verderbniserreger in Fleisch und Fleischerzeugnissen (DAINTY u. MACKEY 1992) und kann sich unter anaeroben Bedingungen sogar zum dominierenden Keim entwickeln (HUIS IN´T VELD 1996). *Lactobacillus sakei*, ebenfalls ein Gram-positiver Keim, wie *Brochothrix thermosphacta*, wächst auch bei sehr niedrigen Temperaturen und ist Teil der am häufigsten auftretenden Gruppe von Verderbniserregern in schutzgasverpackten Fleischerzeugnissen (CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001; HOLZAPFEL 2004; ERCOLINI et al. 2006).

Als Vertreter der Gram-negativen Bakterien wurde in der vorliegenden Studie *Pseudomonas fragi* eingesetzt. In kühl gelagerten Lebensmitteln, insbesondere Fleisch und Fleischprodukten, kann dieser Pseudomonadenstamm schneller wachsen als

andere (LEBERT et al. 1998; LABADIE 1999; RATTANASOMBOON et al. 1999). Er kann sich daher auch schnell zum dominanten Keim der Verderbnisflora entwickeln.

5.1.2 Etherische Öle

Nelken und Muskat sind in Form von Gewürzen ein herkömmlicher Teil der Brühwurstrezeptur gemäß den Leitsätzen für Fleisch- und Fleischerzeugnisse. Dies war ein Grund, der zur Auswahl der Öle führte. Es sollte sichergestellt werden, dass die geschmackliche Beeinflussung, der hergestellten und anschließend behandelten Wurst, im Vergleich zum handelsüblichen und schon langjährig akzeptierten Produkt, so gering wie möglich sind. Ein weiterer Grund war ihre in der Literatur bereits beschriebene antimikrobielle Wirksamkeit (ZAIKA 1988; OUATTARA et al. 1997; NYCHAS u. TASSOU 2000; VALVERDE et al. 2005). Zudem kann bei etherischen Ölen weitestgehend von Keimfreiheit ausgegangen werden (BUCKENHÜSKES 1996).

5.1.3 Stammlösungen

Zur besseren Lösung der lipophilen Ölkomponenten der etherischen Öle in der wässrigen Lösung, wurde 0,5% Tween 80 verwandt. Eine Konzentration von 1% Tween 80 führen gemäß der Desinfektionsrichtlinie der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (2007) zur Neutralisation der antibakteriell wirksamen Bestandteile in etherischen Ölen. Dieser Lösungsvermittler wurde trotzdem gewählt, da er in Vorversuchen in der angegebenen Menge von 0,5% keine antibakteriellen Einflüsse zeigte. Eine Beeinflussung des Bakterienwachstums durch Tween 80 wurde durch den Einsatz von Kontrollproben (Zusatz von Tween 80) überprüft.

In zahlreichen in der Literatur beschriebenen Studien wurde auf die Nutzung eines Lösungsmittels verzichtet. So gaben SMITH-PALMER et al. (1998) unverdünntes Öl in vorher ausgestanzte Löcher von Agarplatten, um anschließend den Hemmhof, also den Bereich ohne sichtbares bakterielles Wachstum, auszumessen.

OUTTARA et al. (1997) mischten verschiedene Konzentrationen etherischer Öle in noch flüssigen Agar, den sie dann in Petrischalen ausgossen, auf den die zu untersuchenden Mikroorganismen nach Erhärten des Agars ausgestrichen wurden. In beiden Fällen war eine antimikrobielle Aktivität der Öle zu ermitteln, jedoch wurde

hier kein Lösungsvermittler eingesetzt, der eventuell die antibakterielle Wirkung der etherischen Öle negativ beeinflussen könnte.
Nicht zuletzt, um eine optimale Verteilung des Öles im späteren Produkt bzw. der Schutzgasatmosphäre zu erzielen, wurde in dieser Arbeit ein Lösungsmittel eingesetzt. Ein zusätzlicher Vorteil war es, dass durch die Verdünnung das Flüssigkeitsvolumen zunahm und damit ebenfalls eine bessere Verteilung bedingte, ohne die Menge an Öl unnötig zu erhöhen. Eine kleinere Menge Öl hätte die Gefahr erhöht, dass sich das Öl schlechter in der Verpackung und damit im Produkt verteilt hätte. Auf eine Einmischung der etherischen Öle in ein anderes Öl wurde verzichtet zugunsten der Produkteigenschaften. Eine Nutzung von Ethanol als Lösungsvermittler war nicht angezeigt, da es in der Studie auch darum ging, ein Produkt zu entwickeln, welches ein möglichst breites Spektrum an Kunden anspricht. Durch das Anwenden von Ethanol würde die Wurst für gewisse Verbrauchergruppen, wie Kleinkinder oder Alkoholiker, ungeeignet werden.
Als höchste Konzentration wurde 1% Öl gewählt, da mehrere Studien darlegen, dass eine höhere Konzentration zu starken Geschmacksabweichungen und damit zur Nichtakzeptanz führt (SMITH-PALMER et al. 1998; BURT 2004; SALLAM et al. 2004; CHOULIARA et al. 2007; HAYOUNI et al. 2008). Da ein Ziel dieser Studie war, ein Produkt zu entwickeln, welches dem Verbraucher zusagt, wurde schon in den Vorversuchen die Maximalkonzentration ermittelt, um ein ausreichendes Spektrum der antimikrobiellen Aktivität der Öle beurteilen zu können und so Rückschlüsse auf später zu verwendende Konzentrationen in der Wurst ziehen zu können.

5.1.4 Brühwurstherstellung und Lagerung

Die Brühwurst für alle Versuchsdurchgänge wurde im Technikum des Institutes für Lebensmittelqualität und –sicherheit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover hergestellt. Die gewählte Rezeptur (siehe Anhang) basierte auf einer handelsüblichen mit folgenden Modifikationen:

- Zusatz verschiedener Konzentrationen etherischer Öle
- Weglassen von Nelken- und Muskatgewürz
- Halbierung der Pfeffermenge

BUSSATA et al. (2008) empfahlen eine Reduzierung der Gewürzmenge während der Herstellung, um ein ausgewogenes Produkt herzustellen, welches den antimikrobiellen Aspekten und nicht zuletzt den Ansprüchen der Verbraucherakzeptanz genüge.

Die chemischen Analysenwerte der Brühwurst entsprachen den Vorgaben der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse (2.222.1). Die Zusammensetzung der Wurst entsprach damit den handelsüblichen Anforderungen an dieses Produkt. Die Lagerung erfolgte in institutseigenen Kühlräumen unter ähnlichen Bedingungen wie sie in Kühlschränken der Verbraucher vorherrschen (7 °C), um den Bezug zur Praxis herzustellen.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Vorversuche

In den folgenden Texten bezieht sich eine Reduktion oder ein Wachstum der Keimzahl immer auf die Positivkontrolle.

5.2.1.1 Muskatöl

Die Vorversuche zeigten, dass das eingesetzte Muskatöl in den untersuchten Konzentrationen von 0,125% bis 1% sowohl das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta* und *Lactobacillus sakei* als auch *Pseudomonas fragi* hemmte. Die hier eingesetzten Keime fungierten als Gram-positive und Gram-negative Indikatorkeime für eine typische Verderbnisflora von Brühwurst (BORCH et al. 1996; HUIS IN´T VELD 1996; PICHARDT 1998; LABADIE 1999; HOLZAPFEL 2004; ERCOLINI et al. 2006; ERCOLINI et al. 2009).

Die Untersuchungen ergaben einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Konzentration des Muskatöls und dem Maß der Keimhemmung. So sank mit steigender Konzentration des Öles die Keimzahl ab. Die Ausnahme bildete hier eine Konzentration von 0,125% bei der Hemmung von *Brochothrix thermosphacta*. Diese Menge schien nicht ausreichend, um ein geringes Wachstum zu verhindern. So blieb in diesem Fall die Keimzahl auf dem gleichen Niveau wie die Positivkontrolle mit einem Wert von lg 8,8. Alle höheren Konzentrationen senkten die Keimzahl beginnend mit der 0,25%igen Lösung, durch dessen Behandlung die Keimzahl auf lg 8,6 reduziert

wurde. Die 0,5% Lösung senkte die Keimzahl um eine Logstufe. Die 0,75% und 1% Öllösungen hemmten die Keimzahl um bis zu lg 2,8 im Vergleich zur Positivkontrolle. Muskatöl mit seinem Hauptbestandteil α-Pinen ist hier also nicht so wirksam gegen Brochothrix gewesen. Eventuell waren hier die Konzentrationen der Öllösungen nicht stark genug um den Keim stärker in seinem Wachstum. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von GILL und HOLLEY (2004), die eine antimikrobielle Wirkung von Muskatöl sowohl gegenüber Gram-positiven als auch Gram-negativen Keimen in ihren in vitro Versuchen nachwiesen. Es ist denkbar, dass das Muskatöl vielleicht einen zu geringen Anteil an α-Pinen beinhaltete oder es dem Öl nicht möglich war durch die Zellmembran ins Innere der Zelle einzudringen.

Ein deutlicheres Bild zeigte sich bei der Anwendung des Öles gegen *Lactobacillus sakei*, hier sank die Keimzahl deutlich ab. Während die 0,125%ige Lösung um lg 0,9 reduzierte, senkten die beiden nächst höheren Konzentrationen (0,25% und 0,5%) um ca. lg 1,5 und die höchsten (0,75% und 1%) um lg 2,5 im Vergleich zur Positivkontrolle. In deutlicher, wenn gleich weniger starker Form wurde auch die Keimzahl des Gram-negativen *Pseudomonas fragi* gesenkt. Die Reduktion war hier in einem Bereich zwischen 1 und 1,9 Logstufen angesiedelt. Dieser Keim war resistenter gegenüber dem Öl. Die Gram-positiven Keime waren also sensibler gegenüber Muskatöl als die Gram-negativen Pseudomonaden. Dies kann auf die einfachere Beschaffenheit ihrer Zellmembran zurück führbar sein, die es etherischen Ölen möglich macht leichter in die Bakterien einzudringen als dies bei der Doppelmembran Gram-negativer Keime der Fall ist.

Gram-negative Bakterien sind in der Literatur hinlänglich als weniger beeinflussbar durch etherische Öle bekannt (ZAIKA 1988). DELAQUIS et al. (2002) nannten als Grund für diese Resistenz ihre Zellwand. So besitzen Gram-negative Bakterien eine Doppelmembran, die sie umschließt. Diese ist um einiges komplexer aufgebaut als die einfache Einzelmembran, die sich um Gram-positive Bakterien herum befindet (YIN u. CHENG 2003).

Die Außenzellwand besteht aus Lipopolysacchariden, sie formt eine hydrophile Durchgangsbarriere gegen einen Angriff von außen. MANN et al. (2000) sowie VAARA (1992) verwendeten Polykationen, um die äußere Membran permeabler zu ma-

chen. Es gelang ihnen so, Pseudomonaden sensibler gegen etherische Öle zu machen als zuvor.
Dem entgegen stehen die Ergebnisse von DEANS und RITCHIE (1987). Sie konnten keinen Unterschied bezüglich der Effekte etherischer Öle gegen Gram-positive oder Gram-negative Keime entdecken. In dem von ihnen durchgeführten Hemmstofftest wurden 50 verschiedene etherische Öle gegen 25 Bakterienstämme getestet. Muskatöl zeigte sich als eines der wirksamsten Öle und hemmte *Brochothrix thermosphacta* deutlich, war aber nur wenig wirksam gegen *Lactobacillus plantarum* und *Pseudomonas aeruginosa*. Auch bei DORMAN und DEANS (2000) gehörte Muskatöl zu den am besten wirksamen. Es wirkte nach Thymianöl auf die meisten der Keime.
SMITH-PALMER et al. (1998) untersuchten den Effekt verschiedener etherischer Öle auf 5 typische lebensmittelpathogene Keime, unter anderem *Listeria monocytogenes*. Dieser Keim zeigte sich bei 35 °C als extrem sensibel gegenüber Muskatöl. Es reichten 0,01% Öl aus, um einen bakteriostatischen, 0,05% um einen bakteriziden Effekt auf das Bakterium zu haben. Senkte man die Temperatur auf 4°C so stieg die dafür notwendige Konzentration auf 0,5% und 1%.
Auch VERLUYTEN et al (2004) testeten die Wirkung von Muskatöl gegen Listerien mit dem Unterschied, dass sie keine Hemmstofftests oder Agardiffusionen anwandten, sondern die Wirkung in fleischsimulierendem Medium untersuchten. Auch hier war Muskat wirksamstes Öl und setzte sich gegen Pfeffer- und Rosmarinöl durch. Es reichten Konzentrationen von 0,2% um das Listerienwachstum zu hemmen. Zusätzlich zeigte es einen starken Effekt auf das Wachstum von *Lactobacillus curvatus* indem es seine Laktatproduktion deutlich verlangsamte.

5.2.1.2 Nelkenöl

Auch der Einsatz von Nelkenöl zeigte deutliche eine konzentrationsabhängige Hemmung des Keimwachstums mit steigender Ölkonzentration. So hemmten die drei höchsten eingesetzten Konzentrationen (0,5%, 0,75% und 1%) die Keimzahlen besonders deutlich. Die Wirkung des Nelkenöls war stärker, als die des Muskatöls. Sie reduzierte die Keimzahl vor allem in den hohen Konzentrationen stärker als Muskatöl es tat. Auch hier war allerdings nicht der Gram-negative *Pseudomonas fragi* sondern *Lactobacillus sakei* der Keim, der die geringste, wenn auch starke Hemmung ab ei-

ner Konzentration von 0,5% Öl aufwies. Betrachtete man die Keimzahl der Positivkontrolle von lg 7,3 wurde ersichtlich, dass die 0,5%ige Konzentration die Keimzahl um 2,3 Logstufen reduzierte, Ähnlich der 0,75% Konzentration, die die Keimzahl um lg 2 auf einen Wert von lg 1,9 senkte. Beide niedrigen Behandlungen (0,125% und 0,25%) senkten zwar die Keimzahl, aber nur um weniger als eine halbe Logstufe. Bekanntermaßen produzieren Laktobazillen Bacteriocine (HUGAS et al. 1998), die es ihnen möglich machen sich gegen andere Keime zu behaupten. Diese könnten auch die Ursache für ihre Resistenz gegenüber den angewandten Ölen sein. So beschrieben CHAMPOMIER-VERGES et al. (2001) dass, bei Anwesenheit besagter Bacteriocine die Keimzahl der Laktobazillen weniger stark gehemmt wurde. Dies sind allerdings nur Mutmaßungen, denn zu dem genauen Mechanismus, der hier zugrunde liegen könnte, fehlen allerdings die nötigen Erkenntnisse.
Nur geringfügig negativer war der Effekt auf das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta.* Die Keimzahl von *Brochothrix thermosphacta* wurde von den niedrig dosierten Nelkenöllösungen (0,125% und 0,25%) um weniger als eine Logstufe gehemmt. Während eine Konzentration ab 0,5% zu einer deutlichen Reduktion der Keimzahl führte. Sie wurde im Vergleich zur Positivkontrolle um 6,5 Logstufen, beziehungsweise um 7,2 Logstufen bei 0,75%iger-und 1%iger Lösung reduziert.

In sehr ähnlichem Maß beeinflusste das Nelkenöl auch das Keimwachstum von *Pseudomonas fragi*. Die 0,5% Konzentration, sowie 0,75% und 1% senkten die Keimzahl von *Pseudomonas fragi* auf lg 2, das heißt, die Keimzahl war um 7,3 Logstufen niedriger als bei der Positivkontrolle mit einem Wert von lg 9,3. Bei niedrigeren Konzentrationen war die Reduktion der Keimzahl nicht nennenswert. Das in dieser Arbeit gezeigte Verhalten des Pseudomonadenstammes widerspricht den Ergebnissen einiger Studien in denen Pseudomonaden als Vertreter Gram-negativer Bakterien weniger anfällig gegenüber etherischen Ölen waren als Gram-positive Keime (NYCHAS u. TASSOU 2000; BAGAMBOULA et al. 2004; BURT 2004; GILL u. HOLLEY 2004; FISHER et al. 2007). Es entspricht aber den Rückschlüssen von DEANS und RITCHIE (1987), sowie ZAIKA (1988). Diese wurden im vorhergehenden Abschnitt bereits beschrieben. Ein möglicher Grund für die beträchtliche Sensibi-

lität des Pseudomonadenstammes in der vorliegenden Arbeit könnte die Zusammensetzung des Nelkenöls sein. Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass die Menge an antibakteriell wirksamen Komponenten stark variiert, was zur Folge haben kann, dass Komponenten, die besonders wirksam gegen diesen Pseudomonadenstamm sind, wie Eugenol, hier stark vertreten waren.
Nelkenöl gehört laut einiger Studien zu den am stärksten antimikrobiell wirksamsten etherischen Ölen, dessen Wirkung bereits bei Konzentrationen ab 0,02% eintritt (SHELEF 1984). Laut BURT und REINDERS (2003) war Nelkenöl nach Thymian- und Oreganoöl das potenteste antimikrobiell wirksame etherische Öl (SMITH-PALMER et al. 1998; DORMAN u. DEANS 2000). SIVROPOULOU et al. (1996) und SKANDAMIS et al. (2001) betonten in ihren Arbeiten, dass Nelkenöl sowohl auf das Wachstum Gram-positiver als auch –negativer Bakterien einen messbaren Effekt hatte.
So testeten DEANS und RITCHIE (1987) 25 Bakterienstämme auf ihre Wirkung gegenüber etherischen Ölen. Auch hier gehörte Nelke zu den wirksamsten Ölen. Es hemmte das Wachstum von 23 der untersuchten Mikroorganismen. Im Gegensatz zu dieser Studie hemmte das Nelkenöl dort am stärksten die Laktobazillen, welche in dieser Studie durch den Zusatz kaum beeinflusst wurden. Dabei handelte es sich aber nicht um *Lactobacillus sakei* sondern um *Lactobacillus plantarum*, was einen möglichen Grund für die unterschiedliche Wirkung auf den Laktobazillus darstellt.

Bei OUTTARA et al. (1997) hemmte Nelkenöl *Lactobacillus sakei*, *Brochothrix thermosphacta* und *Pseudomonas fragi* zunächst sehr ähnlich in einer 1%igen Verdünnung. Mit dem Unterschied, das es die Pseudomonaden nur 48 Stunden inhibierte, danach hatte es keinen nennenswerten Einfluss mehr darauf. Bei den anderen Keimen war nicht zu erkennen, dass der Effekt mit der Zeit abnahm.
Des Weiteren waren es TULLIO et al. (2007) die herausfanden, dass Nelkenöl neben seiner antimikrobiellen Aktivität auch ein breites fungizides Spektrum ab einer Konzentration von 0,1% aufweist (HE et al. 2007).
HAMMER et al. (1999) testeten Nelkenöl mit zwei unterschiedlichen Methoden. Bei der Agardilution waren über 2% Öl notwendig um das Wachstum von *Pseudomonas*

aeruginosa zu behindern. *E. coli* und *Staphyloccocus aureus* wurden bei 0,25% gehemmt. Dem entgegen standen die Ergebnisse die sie mit der Bouillonmikrodilution erzielten. Hier waren geringere Ölkonzentrationen (0,12-0,25%) ausreichend, um sogar bessere Ergebnisse zu erzielen. In einer Studie von OUSSALAH et al. (2007) konnte eine antimikrobielle Wirkung des Nelkenöls schon bei 0,05%-0,2% nachgewiesen werden. So war es bereits bei diesen geringen Mengen in der Lage, die Vermehrung von *Listeria monocytogenes*, *E. coli* und *Staphyloccocus aureus* zu verhindern. Es reduzierte die Listerienzahl um 6 Logstufen bei 37°C und um 3 Logstufen bei 4°C.

5.2.2 Hauptversuche

Wird im Folgenden von Hemmung bzw. Wachstum der Keimzahl gesprochen, so sind diese im Verhältnis zur Positivkontrolle/Standard zu sehen.

5.2.2.1 Brochothrix thermosphacta

Die quantitative Bestimmung von *Brochothrix thermosphacta* wurde in Anlehnung an HECHELMANN (1981) in Form eines Spatelverfahrens mit SIN-Agar durchgeführt. Vergleichende Probenansätze zeigten keine signifikanten Unterschiede zu dem in der Literatur erwähnten STAA-Agar (SORHEIM et al. 1995; NISSEN et al. 1996; CHOULIARA et al. 2007).

In der vorliegenden Studie wurde *Brochothrix thermosphacta* in Brühwurst von Nelkenöl nur an den Untersuchungstagen 5 und 7 in den Konzentrationen 0,5% und 0,75% merklich im Wachstum gehindert und zwar um lg 0,15. Vor allem an den letzten beiden Untersuchungstagen des Lagerungsversuches zeichnete sich ein deutlicher Trend zum Wachstum des Keimes trotz Ölzugabe ab. So stieg die Keimzahl ab Tag 14 durchweg an, um bis zu Logstufe 0,82 über dem Standard, was darauf schließen lässt, dass das Nelkenöl keinen Effekt ausübte. Unwahrscheinlich ist hier eine Verflüchtigung des Öls mit andauernder Lagerung. Vielmehr scheint es der Fall zu sein, dass Nelkenöl, bzw. sein Hauptbestandteil das Eugenol, seine optimalen antimikrobiellen Wirkungen gegen *Brochothrix thermosphacta* erst bei einer höheren Temperatur entfaltet. So auch in einer Untersuchung von BLASZYK und HOLLEY (1998), in der sie bewiesen, dass Nelkenöl bei einer Temperatur von 18 °C wirksamer war als bei 7 °C.

Der Einsatz von Muskatöl bedingte bis einschließlich Tag 7 eine deutliche Keimzahlsenkung, so stieg die Keimzahl nur an besagtem Tag bei der niedrigsten Konzentration von 0,25% um den Faktor lg 0,11. Eine weitere Ausnahme bis zu diesem Zeitpunkt war der Anstieg der Keimzahl an Tag 2 bei 0,75% Muskatöl um lg 0,3 im Vergleich zum Standard. Viele weitere Behandlungen mit Muskatöl senkten die Keimzahl um bis zu lg 0,25, so auch an den Tagen 5 und 7 mit den Konzentrationen 0,25%, 0,5% und 0,75% (an Tag 5). Danach zeigte sich ein uneinheitliches Bild. An Tag 7 wuchs die Zahl an *Brochothrix thermosphacta* um 0,3 Logstufen stärker an als im Standard, welchem statt Öl eine NaCl-Lösung zugegeben wurde. Die Keimzahl

von *Brochothrix thermosphacta* stieg um bis zu lg 0,8 an Tag 10 bei der höchsten Konzentration von 0,75% Muskatöl. Während 0,25% Muskatöl die Keimzahl um 0,3 Logstufen senkte. Die Senkung der Keimzahl lag im besten Fall bei lg 0,4. Diese war an Tag 21 zu messen. Ein konzentrationsabhängiger Effekt des Öls auf den Keim konnte also weder eindeutig nachgewiesen noch ausgeschlossen werden, selbst nach 3 Wochen Lagerungszeit.

Durch die Kombination beider Öle ließ sich ebenfalls keine eindeutige Aussage bezüglich einer Effektivität treffen. An Tag 14 konnte der Keim trotz der Anwesenheit von Nelkenöl anwachsen (lg 0,4) während Muskatöl in gleicher Konzentration das Keimwachstum senkte (lg 0,3). Eine Kombination beider Öle hemmte zwar ebenfalls die Keimzahl, tat dies aber in geringerem Maße als es bei der alleinigen Anwendung von Muskatöl der Fall gewesen ist. Die Wirkung des Muskatöls wurde in der Kombination also vom weniger antibakteriell wirksamen Nelkenöl abgeschwächt.

Die Wirksamkeit der Öle stellt sich hier etwas anders dar als in Studien von DEANS und RITCHIE (1987) und DORMAN und DEANS (2000). Sie testeten in einer ihrer Studien die Wirkung von Nelken– und Muskatöl in vitro, stanzten dafür ein Loch in Agar und gaben 10 µl unterschiedlich verdünnten Öles hinein. Um die Wirksamkeit beurteilen zu können, maßen sie den Hemmhof, die Zone ohne sichtbares bakterielles Wachstum um das Loch aus. Diese, wie auch der Großteil der in der Literatur beschriebenen Methoden, beruhte auf dem Prinzip der Diffusion wie auch der speziellen Wirkung der Öle. Nelke und Muskat zeigten in dieser Studie ein vergleichbares Verhalten. In diesen Studien wurde zwar Brochothrix thermosphacta aus Würstchen isoliert, Ziel war es allerdings nur eine in vitro Wirkung der Öle gegenüber Bakterien nachzuweisen. Nelkenöl bewies eine gute antimikrobielle Wirksamkeit mit einem Hemmhof von 11mm Durchmesser. Als Grund für diese Wirkung gaben sie starke Aktivität der phenolischen Komponenten an, so auch die Position der Hydroxylgruppe. Durch die Komplexität des Lebensmittels (Fett, KH, Wasser etc.), die in den vorangegangenen Studien keine Beachtung fand, ist eine weniger starke Sensibilität der Keime durchaus erklärbar.

Eine ähnliche Studie führten OUTTARA et al. (1997) durch. Sie vermischten das Öl mit dem Agar (BHI- oder MRS-Agar) und gaben dann die Keime darauf. *Brochothrix*

thermosphacta zeigte eine ähnlich deutliche Resistenzlage wie die getesteten Gram-negativen Mikroorganismen. Des Weiteren untersuchten sie zum Vergleich auch die antimikrobielle Wirkung von Fettsäuren, wie zum Beispiel Palmitinsäure, konnten aber keinen befriedigenden Effekt nachweisen, im Gegensatz zu Nelkenöl. Auch hier handelte es sich um einen in vitro Versuch, welcher jedoch bereits Hinweise darauf geben kann, dass es sich bei *Brochothrix thermosphacta* um einen besonders resistenten Keim handelt, was seine geringe Hemmung durch die Öle in der vorliegenden Studie bestätigt.
Versuche von CHOULIARA et al. (2007) zeigten, dass der Einsatz von 1% Oreganoöl die Zahl von *Brochothrix thermosphacta* in rohem Hähnchenbrustfleisch um ein Vielfaches reduzierte. Der kombinierte Einsatz von Öl und einer Schutzgasatmosphäre senkte die Zahl sogar um 5 Logstufen und verlängerte die Haltbarkeit des rohen Fleisches damit sogar um eine Woche. Sie gingen von einem additiven Effekt aus hinsichtlich Schutzgases und etherischem Öl, schrieben die Hauptwirkung aber ganz deutlich dem Öl zu. Laut der Autoren war der Einsatz anderer Öle weniger erfolgreich. Hier wurde anders als in den in vitro Studien der antimikrobielle Effekt etherischer Öle in einem fettreichen Lebensmittel untersucht. Auch unter diesen Bedingungen zeigte sich eine deutliche Wirksamkeit (5 Logstufen) des Öls. Es wurde allerdings nicht Nelken- oder Muskatöl sondern Oreganoöl verwendet, bei dem es sich um ein geeigneteres Öl zu handeln scheint, um das Wachstum von *Brochothrix thermosphacta* in Fleischprodukten einzudämmen. Da es aber nicht Teil der herkömmlichen Brühwurstrezeptur ist, wurde sich in diesem Fall auf solche beschränkt, die der Verbraucher bereits als Teil des typischen Brühwurstgeschmacks kennt.

Als ein weiterer Grund für die antimikrobielle Wirksamkeit der Öle auf *Brochothrix thermosphacta* sollte eine Verlangsamung der Anlaufphase (lag Phase) der Organismen angesehen werden. Die Bakterien müssen sich bei Anwesenheit der Öle auf ein verändertes Substratangebot einstellen, was zur Folge hat, dass sich ihr Wachstum für die Zeit der Anpassung verlangsamen kann. Ähnliches machten auch SKANDAMIS und NYCHAS (2001) deutlich. Sie untersuchten den Effekt etherischer Öle, insbesondere Oregano, auf Hackfleisch und wiesen eine Wirkung ab einer Kon-

zentration von 0,5% Öl nach. Als Gründe nannten sie die Reduktion der initialen Keimzahl durch schnelles Beimengen des Öls und die Reduzierung der Wachstumsrate und Populationsdichte der Verderbniskeime. Ganz besonders betonten sie, auch in einer jüngeren Studie (SKANDAMIS u. NYCHAS 2002), die Verlängerung der lag Phase durch Einschränken der Stoffwechselaktivität und damit die verlangsamte Teilungsrate. Diese Meinung vertraten auch TSIGARIDA et al. (2000), die bei Ihren Versuchen mit Rinderfilets zu den gleichen Ergebnissen kamen.

Genau wie zuvor bei dem Effekt von Muskatöl erwähnt, war auch bei der Kombination beider Öle kein eindeutiges Muster der Wirksamkeit zu erkennen. So hemmte die Kombination mit 0,25% die Keimzahl um 0,8 Logstufen an Tag 5 verglichen mit dem Standard. Die höheren Konzentrationen (0,5% und 0,75%) senkten die Keimzahl am gleichen Tag aber nur um lg 0,1. An den folgenden Untersuchungstagen wiederholte sich dieses Bild allerdings nur noch an Tag 10, an dem die Keimzahl bei 0,75%iger Kombinationsöllösung um 0,1 Logstufe anstieg während sie bei den beiden niedrigeren Konzentrationen gehemmt wurde (lg 0,1). An den Tagen 7, 14 und 21 war aber ein konzentrationsabhängiger Effekt des Kombinationsöls zu erkennen. Für die Keimzahl galt an diesen Tagen, je höher die Konzentration des etherischen Öls, desto stärker ihre Hemmung. So bedingte der Einsatz des Kombinationsöls an Tag 21 eine Keimzahl von lg 3,2 (0,25%), lg 3,1 (0,5%) und lg 2,1 (0,75%) während der Standard eine Keimzahl von lg 2,8 aufwies. Dies zeigt, dass auch die Kombination der Öle einen Effekt auf das Keimwachstum *von Brochothrix thermosphacta* hatte, wie auch in der Literatur beschrieben.

Unterschiedlich gute antimikrobielle Wirksamkeiten der Öle auf die Keime sind auch durch die Vielfalt der Bakterienstämme zu erklären. Da verschiedene Stämme einer Bakterienart sich in ihrer Empfindlichkeit gegenüber etherischen Ölen unterscheiden können (BAGAMBOULA et al. 2004), kann der im Vergleich zur Literatur beobachtete Unterschied vermutlich auch auf die Verwendung unterschiedlicher Keimstämme zurückführbar sein.

5.2.2.2 Lactobacillus sakei

Eine Untersuchung auf *Lactobacillus sakei* wurde mittels Spatelverfahren nach der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren gemäß § 64 LFGB L 06. 0031 durchgeführt.

In den eigenen Untersuchungen waren an Tag 2 der Lagerung keine Laktobazillen oberhalb der Nachweisgrenze nachweisbar. Tag 5 ergab ein ähnliches Bild. Hier war einzig bei Kombinationsöl 0,5% ein Wachstum von *Lactobacillus sakei* von lg 0,71 zu verzeichnen. Während die Keimzahl des Standards an Untersuchungstag 7 einen Wert von lg 2,2 aufwies, ergab die Nutzung von Nelkenöl durchweg eine Senkung der Keimzahl von lg 0,5. Muskatöl hemmte ebenfalls durchgehend um Werte zwischen lg 0,11 und lg 0,42 im Vergleich zum Standard. Die Konzentration 0,25% des Kombiöls reduzierte die Keimzahl um einen Faktor von lg 0,29 während es bei den beiden höheren Konzentrationen zu einem Wachstum kam.

Dies lässt sich gegebenenfalls durch eine schlechte Verteilung des Öls in der Verpackung, beziehungsweise eine zu geringe Durchdringtiefe in das Produkt hinein, erklären. Bei der Probennahme wurde wegen dieser Möglichkeit auch darauf geachtet, die Einwaage aus dem Produkt möglichst homogen, also gleiche Anteile aus oberflächlichen wie tiefen Regionen der Wurstscheiben, zu entnehmen. Sollte es trotzdem so gewesen sein, dass die entnommenen Proben nicht viel, oder fast nichts von dem Öl erhalten haben, kann es sein, dass die Ergebnisse dadurch verfälscht wurden. Trotzdem erschien es von Vorteil die Menge an Flüssigkeit (Öllösung) so gering wie möglich zu halten, um zu verhindern, dass diese, für den Verbraucher unansehnlich, am Boden der Verpackung herumschwimmt. Des Weiteren sollte eine Flüssigkeitsmenge gewählt werden, die von dem eingelegten Fließstoff aufgenommen werden konnte.

Nicht auszuschließen sind auch Kontaminationen des Produktes während des Herstellungs-, Verpackungs- oder Untersuchungsvorganges. Dieses Verhalten wiederholte sich bei den folgenden Untersuchungen nicht. Es konnte also davon ausgegangen, dass es sich um eine Kontamination nach dem Verpackungsvorgang handelte.

An den Untersuchungstagen 10, 14 sowie 21 waren dosisabhängige hemmende Effekte der Ölzulage auf das Keimwachstum zu beobachten. So stieg die Keimzahl am Untersuchungstag 10 bei den niedrig dosierten Nelkenölzugaben und allen Kombiölkonzentrationen, sie sank aber bei Nelke 0,75% und allen Muskatlösungen im Vergleich zum Standard um 0,1 bis 0,21 Logstufen. Noch ausgeprägter waren die Senkungen der Keimzahl an den Tagen 14 und 21 der 0,5% und 0,75% Lösungen (Nelken- und Muskatöl), sie wurden um bis zu 1,5 Logstufen gehemmt.
DEANS und RITCHIE (1987) testeten mittels Agardiffusion unter anderem die Wirkung von Nelken- und Muskatöl auf *Lactobacillus plantarum*. Nelkenöl zeigte sich bis zu einer 10%igen Verdünnung antibakteriell wirksam, Muskat hingegen nur in unverdünnter Form. Dies steht in Kontrast zu den Ergebnissen dieser Studie, in der auch Muskat eine Reduktion des *Lactobacillus* verursachte, entspricht andererseits aber den von DORMAN und DEANS (2000) publizierten Ergebnissen. Auch hier bleibt zu bedenken, dass es sich um eine in vitro Studie handelt, welche die differenzierte Zusammensetzung des Lebensmittels vollkommen außer Acht lässt. Des Weiteren wurde *Lactobacillus plantarum* und nicht *sakei* untersucht, der durchaus eine andere, geringere Sensibilität gegenüber den ausgewählten etherischen Ölen besitzen kann.

Bereits 1996 bewiesen Studien, dass Laktobazillen unter den Gram-positiven Mikroorganismen wohl zu den unsensibelsten Keimen gegen etherische Öle gehören (GONZALEZ-FANDOS et al. 1996; GILL et al. 2002). GONZALEZ-FANDOS et al. (1996) dokumentierten in ihren Versuchen eine antimikrobielle Wirkung von Pfeffer- und Knoblauchöl erst ab einer Konzentration von 2%, gaben als Grund aber die schlechte Diffusionsfähigkeit der Öle durch den Agar an. In der vorliegenden Studie waren Senkungen der Keimzahl um einen Faktor bis zu lg 1,5 bereits durch Konzentrationen von 0,75% Nelken- oder Muskatöl möglich. Diese Öle sind also in weitaus geringerer Konzentration wirksamer als Pfeffer- oder Knoblauchöl.
Um die Bedingungen, wie sie in einer Rohwurst zu finden sind, zu imitieren, verwendeten VERLUYTEN et al. (2004) fleischsimulierendes Flüssigmedium in das sie etherisches Öl hineingaben. Anschließend wurde diese Mischung in einen Fermenter gegeben. Muskatöl hatte hier von allen getesteten Ölen den tiefgreifendsten Effekt. Es

verlängerte in einer 0,2%igen Konzentration die lag Phase von *Lactobacillus sakei* um 6 Stunden. Zum Vergleich stoppten 0,4% Muskatöl die Bakteriocin Aktivität völlig. Im Gegensatz dazu waren 0,8% Pfefferöl für die gleiche Wirkung notwendig. Jene Ergebnisse bekräftigen die Erkenntnisse aus der vorliegenden Arbeit, dass Muskat- und Nelkenöl durchaus einen antimikrobiellen Effekt, bei niedriger Konzentration, auf Laktobazillen haben.

ORAL et al. (2009) testeten die Wirkung von Oreganoöl auf die Haltbarkeit von frischem Hähnchenfleisch. Dazu gaben sie das Öl auf kleine absorbierende Sachets, die sie gemeinsam mit dem Fleisch mit Frischhaltefolie verpackten. Das Ergebnis war eine verlängerte Haltbarkeit durch das Öl von 3 Tagen auf 5 Tage. Auch in der vorliegenden Studie erschien der Einsatz eines Fließ für vorteilhaft, da so der direkte Kontakt der Wurstscheiben mit der Öllösung und folglich zu starke sensorische Abweichungen vermieden werden konnten.

Oreganoöl gehört zu den am besten erforschten etherischen Ölen in Zusammenhang mit Fleisch und Fleischerzeugnissen. CHOULIARA et al. (2007) betrachteten den Effekt des Öls auf Hähnchenbrustfleisch mit und ohne Schutzgasatmosphäre. Die an Luft gelagerten Proben erreichten an Tag 9 die akzeptable Grenze von lg 7. Durch Zugabe von 0,1% Öl konnte die Zahl der Laktobazillen um den Faktor lg 1 gesenkt werden. Eine 1%ige Lösung inhibierte jegliches Wachstum bis einschließlich Tag 12. Schutzgasatmosphäre (70%CO_2, 30% N_2) reduzierte die Zahl von *Laktobacillus sakei* um 1,7 Logstufen, die Kombination von 0,1%igem Öl und Atmosphäre senkten sie um lg 1,9. Am erfolgreichsten stellte sich die Kombination aus Schutzgas und 1%iger Öllösung dar. Sie sorgte für eine Senkung der Keimzahl von lg 6 bis zum Ende des Versuches. Ihrer Ansicht nach war die Atmosphäre zwar hilfreich gegen das bakterielle Wachstum, Hauptgrund für die Senkung der Keimzahl war aber das Oreganoöl. Da Oregano als Gewürz nicht in der Brühwurstherstellung genutzt wird, kam es für diese Studie auch nicht in Frage. Eine bessere Wirkung des Öles gilt laut der Literatur als bewiesen, weshalb weitere Studien mit diesem Öl ggf. trotzdem in Betracht gezogen werden sollten.

GILL und HOLLEY (2004) analysierten in ihrer Studie die Wirksamkeit der einzelnen Komponenten etherischer Öle, so auch Eugenol, den Hauptbestandteil von Nelkenöl.

Sie erfassten eine starke Wirksamkeit des Stoffes nicht aber von Cinnamaldehyd, der Hauptkomponente von Zimtöl. Den Grund für die nur selektive Wirkung der Einzelstoffe auf Laktobazillen sahen sie in der wenig permeablen Zellhülle der Bakterien. Eine Annahme ihrerseits war außerdem eine mögliche Resistenz der Mikroorganismen aufgrund der sie das Cinnamaldehyd entweder inaktivierten, exportierten oder ihm keinen Rezeptor zur Verfügung stellen konnten. Für den genauen Wirkmechanismus, der die Widerstandskraft der Laktobazillen gegen etherische Öle bedingt, fehlen, wie auch für die anderen hier untersuchten Keime, abschließende Erkenntnisse. Eine der meist erwähnten Ursachen dafür sind wohl die Zellwände, die den Ölen den Eintritt ins Zellinnere erschweren. Logisch, wenn man den Aspekt der verlängerten lag Phase bedenkt, scheint die Aussage, dass die Öle die Zellen zerstören, indem sie den Ionentransport behindern. Sei es durch Depolarisation, oder durch Enzyminhibierung, welche beide die Substratnutzung zur Energiegewinnung behindern.

Des Weiteren geben einige Stellen in der Literatur an, der Keim habe die Eigenschaft andere Keime in ihrem Wachstum zu hemmen, indem er Laktat und Bakteriocin produziere (HOLZAPFEL et al. 1995; HUGAS et al. 1998; CHAMPOMIER-VERGES et al. 2001). Bei GIATRAKOU et al. (2008) hatten weder Öl noch Schutzgas eine Auswirkung auf das Wachstum von Laktobazillen. So wie HOLLEY und PATEL (2005) waren sie der Meinung, die Befähigung des Keims ATP zu generieren, sorge dafür, dass er gut mit osmotischem Stress umgehen könne. Bereits ein Jahr zuvor gaben GILL und HOLLEY (2004) dafür die Fähigkeit der Laktobazillen an, einen Efflux von Kalium^{+} Ionen auslösen zu können. Diese Fähigkeiten Ermöglichen es dem Keim zusätzlich sich suboptimalen Bedingungen anzupassen, wie sie durch das etherische Öl oder die Schutzgasatmosphäre hervorgerufen werden.

5.2.2.3 Pseudomonas fragi

Die Untersuchung auf *Pseudomonas fragi* fand in Form eines Spatelverfahrens mit GSP-Agar nach KIELWEIN statt.

Die Auswertung der Ergebnisse ergab folgendes Bild. So waren an den Untersuchungstagen 2 und 5 keine Pseudomonaden nachweisbar. Tag 7 war der erste Untersuchungstag, an dem Pseudomonaden detektierbar waren. Hier kam es zur

Hemmung der Keimzahl bei allen Ölen und ihren Konzentrationen. Die Werte lagen zwischen lg 0,26 bis lg 0,44 niedriger als beim Standard. Muskatöl hemmte mit allen Konzentrationen gleich. Bei Nelkenöl und Kombiöl fanden die höchsten Reduktionen von lg 0,44 bei 0,5% und 0,75% statt. Am 10. Untersuchungstag stieg die Keimzahl bei Zugabe von 0,25% Muskatöl um 0,26 Logstufen im Vergleich zum Standard. An Tag 14 war ein Wachstum von *Pseudomonas fragi* nur bei 0,5%iger Kombinationsöllösung zu finden, die Zunahme der Keimzahl betrug hier lg 0,19. Alle anderen Proben zeigten kein Wachstum des Keims oberhalb der Nachweisgrenze. Die an Tag 21 untersuchten Proben wiesen bei Zugabe der niedrigen Konzentrationen (0,25% und 0,5% alle Öle) keinerlei Senkung der Keimzahl auf. Vielmehr verhielt es sich so, dass es bei besagten Konzentrationen zu einem Wachstum von Pseudomonaden kam. Nur bei der höchsten der eingesetzten Konzentrationen (0,75%) blieb ein Wachstum oberhalb des Standards gänzlich aus.

Das spricht für dosisabhängige antimikrobielle Effekte der Öle gegen *Pseudomonas fragi* mit ansteigender Konzentration. In einer Studie von 1993 prüften STECCHINI et al. (1993) zuerst die Wirkung verschiedener etherischer Öle mittels einer Agardilution, um anschließend besonders vielversprechende Öle in gekochtem Schweinefleisch anzuwenden. Bei ihren in vitro Versuchen inhibierten 500 µl Nelkenöl pro Petrischale das Wachstum von *Aeromonas hydrophila* gänzlich. Da in der Veröffentlichung nähere Angaben zur Konzentration fehlen, geht man hier von einer durchschnittlichen Füllmenge von 25 ml Agar pro Petrischale aus. Dies führt zu einer Endkonzentration von 2,5% Nelkenöl pro Schale. Sie setzten *Aeromonas hydrophila* stellvertretend für Gram-negative Mikroorganismen ein. Muskatöl zeigte seine Wirkung erst ab einer Konzentration, die ca. 40% des Petrischaleninhalts samt Agar ausmachte, gehörte damit aber nicht zu den unwirksamsten Ölen. Zu dieser Gruppe konnte Pfeffer gezählt werden, welcher seine antimikrobielle Wirkung erst bei einem Ölgehalt von 60%, in Bezug auf den Inhalt einer Petrischale, aufwies und das auch nur in den in vitro Versuchen.

Im Fleisch hatte Pfeffer in jener Studie keinerlei quantifizierbare antimikrobielle Wirkung. Nelke erwies sich im Schweinefleisch als signifikant wirksamer als Koriander und sorgte nach dem ersten Lagerungstag bereits für eine Reduktion um 1 Logstufe.

Danach wurde die Reduktion als etwas moderater beschrieben. Dies zeigt, dass Nelkenöl auch durchaus eine antimikrobielle Wirkung gegenüber Gram-negativen Keimen aufweist und dass es Öle gibt, bei denen diese Wirksamkeit vielleicht weniger stark ist.

Erst am 7. Untersuchungstag war hier ein Wachstum des Keims erkennbar. Hierbei bleibt aber zu bedenken, dass auch beim Standard zuvor kein Wachstum oberhalb der Nachweisgrenze messbar war. Die Proben wurden bei einer Temperatur von 6 °C gelagert. Diese Temperatur könnte ausschlaggebend für das erst so späte messbare Wachstum gewesen sein, liegt das Temperaturoptimum dieses Bakteriums doch zwischen 28°C und 30°C (METAXOPOULOS et al. 2002). Dies wäre zwar wünschenswert, widerspricht aber den Erkenntnissen von LEBERT et al. (1998) die herausfanden, dass *Pseudomonas fragi* bei Kühltemperaturen sogar schneller wächst als andere Pseudomonaden. Ferner spielte hierbei die Atmosphäre eine Rolle. Die verwendete Schutzgasatmopshäre enthielt keinen Sauerstoff, dieser ist aber nötig für ein optimales Pseudomonaden-Wachstum, während seine Abwesenheit das Wachstum nicht gänzlich verhindert. Dieser Aspekt ist wichtig und sollte bei der Entwicklung eines Hürdenprinzips gegen mikrobielles Wachstum, von dem etherische Öle ein Teil sein könnten, Beachtung finden.

OUATTARA et al. (1997) wiesen sogar eine Senkung des bakteriellen Wachstums von *Pseudomonas fluorescens* durch eine 1%ige Nelkenöllösung nach. Sie verwendeten die Agardilution für ihre Versuche. Bei ORAL et al. (2009) kam es unter ähnlichen Versuchsbedingungen zu einer Senkung der Keimzahl um 2 Logstufen.

Dem entgegen stehen die Feststellungen von HAMMER et al. (1999). Sie testeten 52 etherische Öle mittels Agardilution auf ihre antimikrobiellen Eigenschaften unter anderem gegen *Pseudomonas aeruginosa*. Nelkenöl war in 2%iger Konzentration nicht wirksam, allerdings entpuppten sich in dieser Studie nur 3 Öle als effektiv. Diese waren Oregano-, Lorbeer- und Zitronengrasöl. Diese Studien beweisen zwar eine Wirksamkeit von Nelkenöl, sind aber in vitro Studien, die die Ergebnisse schwer mit denen dieser Studie vergleichbar machen. Zudem fehlen hinreichende Erkenntnisse darüber, ob die oben genannten Pseudomonadenstämme unter den gleichen Bedingungen sensibler oder widerstandsfähiger gegenüber etherischen Ölen sind. Eine

abschließende Aussage über die antimikrobielle Wirksamkeit der Öle in dieser Studie ist schwer zu treffen, da Pseudomonas fragi in den Wurstproben nicht sehr zahlreich gewachsen ist.

Allerdings war es bei TSIGARIDA et al. (2000) so, dass Pseudomonaden so gut wie nicht in schutzgasverpacktem Fleisch wuchsen. Wurden sie unter Vakuum oder mit normaler Luft verpackt wuchsen sie zur stärksten Fraktion an. In ihren Versuchen kamen sie zu dem Schluss, Pseudomonaden gehörten zu den resistentesten Keimen gegenüber den antimikrobiellen Einflüssen etherischer Öle. Zudem bleibt zu bedenken, dass in einer sauerstoffarmen Atmosphäre die Bedingungen für *Pseudomonas fragi* unvorteilhaft sind, was dazu führt, dass andere Keime, die besser an die Bedingungen adaptiert sind schneller wachsen, vorhandene Substrate schneller verbrauchen und so Pseudomonaden in ihrem Wachstum behindern.

Überdies wiesen SIVROPOULOU et al. (1996) nach, dass Oreganoöl als Ganzes als auch seine Einzelkomponenten keinen Effekt auf *Pseudomonas aeruginosa* hatten. Bei einer Studie von ATREA et al. (2009) reduzierten 0,4% Oreganoöl die Pseudomonaden. Bei TSIGARIDA et al. (2000) und SKANDAMIS und NYCHAS (2002) waren im Lebensmittel dafür 0,8% nötig. MARINO et al (2001) gaben ursächlich dafür den hohen Gehalt an potenten Phenolkomponenten an. Zu den Hauptbestandteilen von Oreganoöl gehören die beiden Phenole Thymol und Carvacrol. Sie gehören zu den am besten erforschten Phenolen etherischer Öle. Laut PENALVER (2005) haben Öle, die diese beiden hochpotenten Stoffe beinhalten ein großes antimikrobielles Potential. Nelkenöl hingegen enthält als Hauptkomponente nur ein Phenol, das Eugenol, was erklärbar macht, weshalb es weniger antimikrobiell wirksam ist als Oreganoöl. Gleiches gilt für Muskatöl, in dem α–Pinen, ein Monoterpen, welches weniger antimikrobiell wirksam ist, den Hauptteil des Öls ausmacht.

Es konnte keine Wirkung von Salbeiöl auf *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden (HAYOUNI et al. 2008), während *E. coli* bereits auf wenige mg/ml reagierte. Auch das Öl des Peruanischen Pfefferbaums wirkte bereits bei 72 mg/ml.

Die Diskrepanz der antimikrobiellen Aktivität der Öle lässt sich unter anderem erklären durch ihre Zusammensetzung, ihre Konzentration und den Typ des Zielkeimes (MARINO et al. 2001). Ferner spielen weitere Faktoren eine Rolle: So kommt es auf

die Löslichkeit in wässrigen Medien (HAYOUNI et al. 2008), sowie die saisonalen und intraspezifischen Variationen der Öle an (SIVROPOULOU et al. 1996).
WAN et al (1998) wuschen frische Salatblätter statt mit Chlor mit Basilikumöl ab, um den initialen Keimgehalt zu senken. Sie kamen zu dem Schluss, dass etherische Öle statt Chlor dafür genutzt werden könnten, Lebensmittel zu waschen, um die Keimzahlen zu reduzieren.

5.2.2.4 aerobe mesophile Gesamtkeimzahl

Zur Bestimmung der aeroben, mesophilen Gesamtkeimzahl wurde ein Plattengussverfahren gemäß der amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB, L 06.00-18 herangezogen.
Sowohl Muskatöl als auch das Kombiöl reduzierten die Gesamtkeimzahl an Tag 2 um bis zu lg 0,4. Einzig beim Einsatz von Nelkenöl war ein Wachstum der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl messbar. Am 5. Untersuchungstag wurde die Keimzahl in allen Proben, denen Öl zugegeben wurde, unabhängig der Konzentration, im Vergleich zum Standard gehemmt. Die deutlichste Hemmung wurde in den Proben mit 0,75% Muskatöl gemessen, sie belief sich auf 0,79 Logstufen. An Tag 7 stieg die Keimzahl nur in den mit 0,25%iger Kombiöllösung behandelten Wurstscheiben um den 0,4 Logstufen. Ansonsten wurden die Bakterienzahlen in den Wurstscheibenproben gehemmt und zwar zwischen lg 0,1 und lg 0,45. Am folgenden Untersuchungstag konnte nur Wachstum der Keimzahl erfasst werden, mit einer Ausnahme, bei der 0,75%igen Muskatöllösung. Der Einsatz dieser Ölvariante führte zu einem Abfall der Keimzahl um 0,23 Logstufen verglichen mit dem Standard. Die Gesamtkeimzahl stieg an jenem Tag in den mit Nelkenöl behandelten Wurstscheiben mehr an (lg 0,82) als in denen mit Muskatöl. Hier gingen die Wachstumszahlen nur bis lg 0,4.
Nur in drei der angewandten Konzentrationsvarianten konnte die Gesamtkeimzahl an Untersuchungstag 14 zwischen lg 0,25 und lg 1 über den Standard ansteigen. Diese waren 0,25% Nelkenöl und die Konzentrationen 0,25% und 0,5% des Kombiöls.
Alle Muskatölbehandlungen sowie 0,5% und 0,75% Nelkenöl ließen eine Reduktion erkennen. Diese war konzentrationsabhängig und beim Muskatöl höher als beim Nelkenöl. Beim Einsatz von Nelkenöl reduzierte sich die Keimzahl um lg 0,3 bis lg

0,6 während die Zugabe von Muskatöl eine Reduktion zwischen lg 0,6 und lg 1,5 herbeiführte.

Muskatöl schien deutlich wirksamer gegenüber den aeroben Keimen zu sein als Nelkenöl. So war auch die Anwendung des Kombiöls, in dem beide Öle zu gleichen Anteilen vertreten waren, durch seinen Nelkenanteil nicht so stark wirksam wie das Muskatöl. Gleiches zeigte sich an Tag 21. Hier kam es nur zum Wachstum bei 0,25% Kombiöl. Auch das bis dahin weniger antimikrobiell wirksame Nelkenöl hemmte an diesem Tag die Keimzahl ausnahmslos (lg 1,4 bis lg 2,6). Die Hemmung durch Muskatöl war geringfügig höher und lag bei lg 2,7.

Laut SMITH-PALMER et al. (1998) ist Muskatöl sehr spezifisch, was seine antimikrobielle Wirkung angeht. Sobald es aber eine antimikrobielle Sensitivität gibt, reichen schon geringe Mengen ab 0,05% für eine bakterizide Wirkung aus, in diesem Fall wurde die Wirkung des Öls auf *Listeria monocytogenes* mittels der Methode von DEANS und RITCHIE (1987) getestet, bei der das Öl in ein Loch im Agar gegeben wird. Senkte man aber die Temperatur auf 3°C bis 4°C, erhöhte sich die notwendige Konzentration um ein Vielfaches. Dem stimmten auch SØRHEIM et al (1995) zu. Sie fanden heraus, dass die Wirkung von Ölen und/oder Schutzgasatmosphäre mit abfallender Temperatur sinkt. Es erscheint möglich, dass mit absteigender Temperatur sich die Zellmembran verändert und es so schwieriger wird für die etherischen Öle in das Zellinnere einzudringen. Die bei vorliegender Studie gewählte Lagerungstemperatur war aber ungleich etwas höher (6 °C bis 7°C) als bei SMITH-PALMER et al. Vermutlich kann Muskatöl bei diesen Temperaturen seine Wirkung besser entfalten, dies wäre möglich durch eine bessere Verteilung seiner flüchtigen Komponenten in der Atmosphäre der Plastikverpackung, da anzunehmen ist, dass bei einer Temperatur um 4 °C diese Bestandteile sich nicht optimal verteilen können.

Wie bei TSIGARIDA et al. (2000) sank die aerobe Keimzahl auch bei ORAL et al. (2009) in verpackten Hähnchenkeulen durch die Anwendung einer 1,5%igen Oreganoöllösung um 2 Logstufen.

Auch CHOULIARA et al. (2007) erforschten die Wirkung von Oreganoöl auf die aerobe Gesamtkeimzahl in frischem Geflügelhackfleisch, auch in Kombination mit einer Schutzgasatmosphäre. Nach bereits 6 Tagen erreichte die Gesamtkeimzahl einen

Wert von lg 7 bei Proben, die unter aeroben Bedingungen gelagert worden waren. Sie setzten als nächsten Schritt eine Schutzgasatmosphäre mit 70% CO_2 und 30% N_2 ein, welche die Haltbarkeit um 6 bis 9 Tage verlängerte. Durch 0,1% Öl verlängerte sich die Haltbarkeit des Produktes um 2 Tage, wohingegen bei Einsatz von 1% Öl die vorher definierte vertretbare Keimzahl-Obergrenze von lg 7 erst nach 20 Tagen erreicht wurde. Eine Kombination aus Schutzgas und Öl (0,1%) führte zu einer um 9 Tage verlängerten Haltbarkeit. Nicht erreicht während der 25 tägigen Lagerung wurde lg 7 bei Schutzgas und 1% Öl. Die in dieser Studie eingesetzte Schutzgasatmosphäre entspricht der aus der vorangegangenen Veröffentlichung. Diese Atmosphäre war eine erfolgreiche Ergänzung zu dem Einsatz von Oreganoöl. Der unterstützende Effekt der Schutzgasatmosphäre auf die Anwendung antimikrobieller etherischer Öle, kann darin begründet liegen, dass Kohlenstoffdioxid die lag Phase von Bakterien verlängert. Weiter ist es möglich, dass das Gas durch einen Umbau der Zellmembran die Nährstoffaufnahme beeinflusst, indem es Enzymsysteme behindert, die Membran penetriert und den intrazellulären pH-Wert verändert. Welche Mechanismen genau dafür verantwortlich sind, gilt es noch zu untersuchen.

Auch bei der Zugabe, wie hier, von Muskat- oder Nelkenöl kann ein additiver Effekt der Schutzgasatmosphäre nicht ausgeschlossen werden, wenn auch die Senkungen der Keimzahl hier geringer waren als in der Studie von CHOULIARA et al. (2007). Ursächlich dafür ist wahrscheinlich die bereits angesprochene Zusammensetzung des Oreganoöls auf die an dieser Stelle nicht noch einmal eingegangen werden soll. Sie macht das Öl wirksamer gegenüber Bakterien als Nelken- und Muskatöl.

ATREA et al. (2009) erforschten ebenfalls Oreganoöl. Sie gaben es auf frische Oktopustentakeln und massierten es anschließend ein. Die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl war bei 0,4% Öl signifikant niedriger als bei den Kontrollen.

Verschiedene Knoblauchformulierungen wurden auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit von SALLAM et al. (2004) in Geflügelrohwurst überprüft. Das Limit für die aerobe Gesamtkeimzahl wurde laut ICMSF auf lg 7 festgelegt. Alle Knoblauchformulierungen (Öl, Pulver und frisch) hielten die Keimzahl unter lg 7 während die Kontrollen auf über lg 9 anstiegen. Die besten Ergebnisse erzielten sie mit frischem Knoblauch in einer Konzentration von bereits 30g/kg. Sie gaben als Grund dafür die Schwefel-

gruppen an, die bei Knoblauchöl durch die Herstellung verloren gehen und es so weniger antimikrobiell wirksam machen. Die Art und Weise der Herstellung etherischer Öle kann durchaus auch eine Erklärung für die, in der Literatur so unterschiedlichen Ergebnisse ihrer antimikrobiellen Effektivität sein. Denn bei der Wasserdampfdestillation, der gängigsten Methode zur Gewinnung etherischer Öle ist eine Verflüchtigung wichtiger Ölbestandteile durchaus denkbar.

5.2.2.5 Sensorik

Der Geruch der mit Öl behandelten Wurstscheiben wurde mit zunehmender Dauer der Lagerung von einigen Testpersonen als weniger stark empfunden, was darauf schließen lässt, dass sich die Öle mit der Zeit geringfügig verflüchtigen oder die Testpersonen sich gegebenenfalls auch an den Geruch gewöhnten, dies war aber nicht signifikant.

Für den Geschmack war dies allerdings nicht zu beobachten, was sich darin äußerte, dass die Bewertungen, die die Tester mit fortdauernder Lagerung abgaben, dem Standard nicht nähr kamen, die Noten also nicht besser wurden. Die höchsten Abweichungen beziehungsweise Noten erhielten sie jeweils an Tag 2. Muskatöl wurde von den Panelisten als stärkere Abweichung zum Standard beschrieben, was auch auf das zu testende Kriterium Geschmack zutraf.

Signifikante Unterschiede zum Standard für den Geruch zeigten sich an Tag 2 für die Wurstscheiben mit dem Zusatz von Muskatöl 0,75%ig und Kombinationsöl in gleicher Konzentration. Sie wiesen deutlich höhere Werte als die anderen Proben auf. Nelkenöl allein angewandt war in seinen Abweichungen niedriger. So war die Abweichung des Geschmacks von mit 0,25%igem Nelkenöl behandelten Proben an Tag 14 signifikant unterschiedlich zum Standard. Mit steigender Konzentration, so lässt sich der Trend interpretieren, stieg auch die bemerkte Abweichung zum Standard, wobei hier Muskatöl am stärksten bemängelt wurde und einige Testpersonen den Geschmack von Nelke sogar als angenehm und passend empfanden. Hier spielen persönliche Vorlieben eine große Rolle. Aussagen dieser Art wurden häufig nach den sensorischen Untersuchungen von den Testpersonen geäußert, aber nicht direkt in die Auswertung mit hinein bezogen, weshalb sie an dieser Stelle Erwähnung finden sollen.

Bei der Mischung beider Öle lag der Trend, wie zu erwarten, zwischen Nelke und Muskat. Es ließ sich schwer nachvollziehen worauf die Panelisten empfindlicher reagierten, das heißt auf, Geschmack oder Geruch, da die Werte zu ähnlich ausfielen.

Eine Befragung der Testpersonen direkt nach der sensorischen Untersuchung zeigte das gleiche Bild. 75% der Panelisten würden das Produkt mit 0,25% Nelkenöl konsumieren, aber nur die Hälfte davon würde auch in gleicher Konzentration muskatölbehandelte Wurstprodukte kaufen.
Mit steigender Ölkonzentration sank die Zahl derer, die einen positiven Kaufentscheid abgaben. Dabei blieben immer deutlich mehr Tester den Nelkenölprodukten zugetan als den Muskatölprodukten. Die Kombiölprodukte wurden etwas besser angenommen als Muskat, was wahrscheinlich daran lag, dass das darin enthaltene Nelkenöl den Muskatgeschmack- bzw. geruch leicht überdeckte.
Die Angaben über sensorische Untersuchungen bei mit etherischen Ölen behandelten Brühwurstprodukten sind in der Literatur eher selten, so untersuchten DE OLIVEIRA et al. (2011) zwar die Wirkung von Winterbohnenkraut auf *Clostridium perfringens* in Mortadella, konnten aber auf Grund der Pathogenität des Keimes keine Geschmackssensorik durchführen, verzichteten allerdings auch auf jegliche andere sensorische Untersuchung.
Anders eine Studie von VIUDA-MARTOS et al. (2010), hier gaben die Panelisten an Tag 24 der Lagerung an, dass der Zusatz von Rosmarin- oder Thymianöl trotz merklichem Aroma nicht als störend empfunden wurde. Sie bewerteten die Wurst gleich den Kontrollen ohne weitere Zusätze. Dies ist eine Möglichkeit, dem Produkt Brühwurst ein „natürlicheres Image“ durch Zugabe solcher Stoffe zu geben, würde der Verbraucher im Vorfeld deutlich darauf hingewiesen.
In Hackfleisch hemmte Oreganoöl das Auftreten von Fleischsaft (SKANDAMIS u. NYCHAS 2001). Der fleischige Geruch hielt sich mit Öl ca. 7 Tage länger als ohne. Der Geschmack war im Hackfleisch nicht stark genug um die Bewertung zu beeinflussen. Farbe und Geruch wurden laut Testern durch 1% Öl positiv beeinflusst und erhielten eine bessere Wertung als das Kontrollhackfleisch.

Die Ergebnisse einer Untersuchung von ORAL et al. (2009) entsprechen dieser Aussage. Hier verliehen 1,5% Oreganoöl den getesteten Hähnchenkeulen einen angenehmen und sogar erwünschten Duft, der gut zu zubereitetem Geflügel passe. Auch bei TSIGARIDA et al. (2000), die Rindfleischfilets mit Oreganoöl behandelten, fielen die Bewertungen für den Geschmack positiv aus. Auch bei DORMAN und DEANS (2000) bestand kein Verlust organoleptischer Eigenschaften durch Oreganoöl Zugabe.

MEJLHOLM u. DALGAARD (2002) gaben in ihrer Studie an, dass der Geruch von 0,5g Oreganoöl, das entsprach einer Konzentration von 0,05%/100g Fisch, zwar wahrzunehmen war, aber als appetitlich bezeichnet wurde. Auch bei CHOULIARA et al. (2007) sagte der Zusatz von 0,1% Oreganoöl in gekochtem Hähnchen den Testpersonen zu. Die Variante der Schutzgasatmosphäre hatte dabei keinen Einfluss auf das Urteil. Die der schlechteste noch akzeptable Wert der Bewertungsskala für Geschmack und Geruch war bei in Luft verpackten Proben nach 6 Tagen erreicht, unter Schutzgas erst nach der doppelten Zeitspanne.

All diese Studien belegen, dass eine Zugabe etherischer Öle in Fleischprodukte durchaus eine sensorische Verbesserung des Lebensmittels zur Folge hat. Auch im vorliegenden Versuch wurden zumindest die mit geringen Mengen (0,25%) etherischen Öls behandelten Wurstproben durchweg positiv bewertet. Es bleibt aber zu beachten, dass es sich beim Großteil der gefundenen Studien, die eine Verkostung der Proben beinhalteten, um rohe Fleischprodukte drehte, die vor dem Verzehr erst gegart, gebraten oder gekocht wurden. Dies kann eine Verminderung des Geruchs und Geschmacks der Öle zur Folge gehabt haben, was in vorliegender Studie nicht der Fall sein kann, wurden die Proben doch nach der Zugabe der Öle nicht weiter verarbeitet. Trotzdem wurde die Anwesenheit der Öle zumindest teilweise als gut befunden. Dies unterstützt die Aussage, dass etherische Öle im Lebensmittel genutzt werden können.

Viele Öle beziehungsweise ihre Komponenten sind zugelassene und akzeptierte Lebensmittelaromastoffe. Sie können dem Produkt einen spezifischen Geschmack verleihen. Nicht alle sind dabei gleichermaßen geeignet, so verlieh Carvacrol Fisch einen stechenden Geschmack. Auch in Schwertfisch (GIATRAKOU et al. 2008) waren

höhere Konzentrationen als 0,1% zwar besser, um die Haltbarkeit zu verlängern, vermittelten aber unangenehme Attribute wie bitteren Geschmack und zu starken Geruch. Nach 12 Tagen war ein derber Ammoniakgeruch entstanden, der weitere sensorische Untersuchungen für die Testpersonen unzumutbar machte. Geraniol erwies sich als rosenähnlich auf gleichem Lebensmittel. Der Meinung, dass nicht alle etherischen Öle oder ihre antimikrobiellen Bestandteile geeignet sind, sind auch KIM et al. (1995), die die Wirkung verschiedener Ölkomponenten auf Lebensmitteln analysierten.

Hinzu kommen landestypische Unterschiede was die Intensität der Gewürznutzung angeht und so die Verbrauchervorlieben beeinflussen. HAYOUNI et al. (2008) erforschten den Effekt von Salbei- und Peruanischem Pfefferbaumöl in Hackfleisch. Die Akzeptanz für Salbeiöl war geringer, was nach der Auffassung der Autoren vermutlich aus dem hohen Gehalt an Eukalyptol resultierte, welches einen stechenden Geruch und einen krautigen Geschmack hat und einen starken Nachgeschmack hinterließ. So wurde Salbeiöl ab einer Konzentration von 2% von den Panelisten abgelehnt, während das Öl des Peruanischen Pfefferbaums bis zu 3% akzeptiert wurden. Sie kamen zu dem Schluss, die Nutzung dieses Öls zur Konservierung von Fleisch sei nutzbringend, da es neben haltbarkeitsverlängernden Eigenschaften für die Entwicklung eines angenehmen und verbrauchergefälligen Geruchs und Geschmacks sorge. Es sollte erwähnt werden, dass diese Studie in Nordafrika stattfand, wo Pfeffer zu den am häufigsten verwendeten Gewürzen zählt.

SALLAM et al. (2004) erklärten bei ihrem Versuch mit unterschiedlichen Knoblauchformulierungen in Geflügelwurst, dass ein sehr wichtiges Kriterium für die Akzeptanz stark gewürzter Speisen durch den Verbraucher der kulturelle Hintergrund sei. In Ländern heißer Regionen der Erde würzen die Menschen gewohnheitsmäßig ihre Lebensmittel stärker als in kälteren Regionen, entsprechend gewürzte Speisen werden dort also eher akzeptiert.

Dies könnte, auch nach Ansicht von HAYOUNI et al. (2008), ein Grund für die gute Akzeptanz selbst bei sehr hohen Ölkonzentrationen sein. Es ist also wichtig, ein Gleichgewicht zwischen den antimikrobiellen Fähigkeiten der Öle und einer potentiell möglichen Desaromatisation, beispielsweise durch spezielle Extraktionsmethoden,

die dem Öl sein Aroma nehmen, nicht aber seine antimikrobiellen Eigenschaften angreifen, zu finden.
Die Verbraucherakzeptanz ist ein komplexer und subjektiver Prozess, den während des Verkostens noch viele weitere Informationen bewusst oder unbewusst beeinflussen können. Folglich ist es notwendig, dafür zu sorgen, solche Zusätze bekannter und gängiger zu machen, bevor sie in kommerziell vertriebenen Lebensmitteln Anwendung finden können.
Öle können eine Alternative zu Gewürzen und Kräutern darstellen. Sie besitzen viele der wichtigen Aromastoffe ohne die Gefahr, Überträger für Bakterien oder Pilze zu sein (GROHS u. KUNZ 1999).

5.2.2.6 Ausblick auf die Nutzung etherischer Öle in Lebensmitteln

Der erfolgreiche Einsatz etherischer Öle um Keimwachstum einzudämmen oder sogar zu verhindern erfolgt in vitro bei niedrigeren Konzentrationen als in Lebensmitteln, dies ist in der Literatur bereits oft untersucht und belegt worden (BURT 2004; HAYOUNI et al. 2008).
Vielfach wird dieser Unterschied folgendermaßen begründet: intrinsische Faktoren wie Fett und Proteine, sowie extrinsische Faktoren (Temperatur, Sauerstofflimitierung, etc.) beeinflussen das Wachstum von Bakterien und hindern etherische Öle daran die gleiche Wirksamkeit, die sie in vitro aufweisen, auch im Lebensmittel zu entfalten. Nahrungsbestandteile wie Fette oder Proteine sind bekannt dafür, phenolische Komponenten zu binden und/oder zu lösen und so ihre Fähigkeit antimikrobiell zu wirken, zu reduzieren (CAREAGA et al. 2003).
Besonders in fetthaltigen Wurstprodukten kann die Wirkung etherischer Öle gemindert werden (TASSOU u. NYCHAS 1995; GROHS u. KUNZ 1999; GILL et al. 2002). BURT (2004) gab als Hauptgrund für die Beeinflussung der antimikrobiellen Sensitivität der Öle ebenfalls intrinsische (Wassergehalt, Antioxidantien, pH Wert, Salz und andere Zusätze) und extrinsische (Temperatur und Verpackungsatmosphäre) Faktoren an. Die bakterielle Sensibilität steige mit sinkendem pH Wert, Temperatur und O_2-Verfügbarkeit. Ein niedriger pH Wert steigert die Hydrophobie der Öle, so kann das Öl leichter in die Lipide der bakteriellen Zellmembran eindringen (TASSOU u. NYCHAS 1995; TSIGARIDA et al. 2000; SKANDAMIS u. NYCHAS 2001).

Vermutlich sorgen hohe Fett- und Proteingehalte in der Matrix Lebensmittel dafür, dass Bakterien vor den Ölen geschützt sind, da in der Lipidphase gelöste Öle nicht mehr auf Bakterien in der wässrigen Phase wirken können (PANDIT u. SHELEF 1994; TASSOU u. NYCHAS 1995).

Dagegen nannten SMITH-PALMER et al. (2001) als Grund für eine verminderte Wirksamkeit etherischer Öle in Lebensmitteln den geringeren Wassergehalt als in in vitro Medien, wie einer Bouillon, der dafür sorge, dass die Wirkstoffe nicht ihr Ziel erreichen könnten.

Die Nutzung natürlicher Verbindungen kann die Lebensmittelsicherheit und mikrobiologische Stabilität verbessern. Etherische Öle haben das Potenzial vor allem in wenig prozessierten Lebensmitteln die Keimvermehrung zu reduzieren. Ihr Einsatz sollte allerdings eher für Lebensmittel empfohlen werden, die arm an Fett und Proteinen sind.

Wichtig dabei ist, sie nicht als alleiniges Mittel gegen Verderb zu nutzen, sondern sie als Teil eines Hürdensystems einzubinden. Diese Meinung wird auch hinlänglich in der Literatur vertreten. So empfehlen WENDAKOON und SAKAGUCHI (1993) sowie HAYOUNI et al. (2008) mit der Zugabe etherischer Öle die gleichzeitige Verwendung von mehr Salz, welches zu verminderten a_w-Werten führt. Auch hohe hydrostatische Drücke finden als Teil eines Hürdenprinzips in Kombination mit etherischen Ölen Erwähnung in der Literatur, so wirken laut GOULD (1996) etherische Öle in Kombination mit einer Hochdruckbehandlung synergistisch antimikrobiell. KARATZAS et al (2001) sahen als Grund dafür einen Verlust der Barrierefähigkeiten der Zellmembran aufgrund der Druckwirkung. Ebenso wirke sich die Verbindung von Öl und niedrigen Temperaturen positiv aus und erschwere es Mikroorganismen zu wachsen (SMITH-PALMER et al. 1998).

Eine verstärkte antimikrobielle Wirksamkeit etherischer Öle stellten PASTER et al. (1990) bei niedrigem Sauerstoffgehalt der Atmosphäre fest. Ebenso TSIGARIDA et al. (2000), deren Ergebnisse eine deutlich stärkere Wirkung des Öles unter Vakuum verpackten Fleisch zeigten, als unter Einfluss von Sauerstoff.

Der „grüne Konsument“ (BURT 2004) verlangt immer mehr nach natürlichen Bestandteilen zur Haltbarmachung von Lebensmitteln. Dieser Trend zeichnet sich im-

mer stärker (HAYOUNI et al. 2008) ab. Der Verbraucher sieht nicht-chemisch hergestellte Zusatzstoffe als gesünder an, was bei dem heutigen Bewusstsein der Verbraucherschaft einen nicht zu verkennenden Vorteil darstellt.

Nicht nur ein direktes Einbringen etherischer Öle in das Lebensmittel ist eine Möglichkeit zur Verbesserung der Produktqualität. Einen weiteren Ansatz könnte eine von WAN et al. (1998) dargestellte Methode sein; bei der etherisches Öl als eine genießbare Beschichtung auf das Lebensmittel, in ihrem Fall frischen Salat, nach dem Waschvorgang aufgebracht wird, um so den Einsatz chemischer Stoffe wie Chlorid (in einigen Ländern angewandt) zu minimieren, oder bestenfalls völlig darauf zu verzichten.

Der Einsatz etherischer Öle als Lebensmittelzusatzstoff bleibt allerdings begrenzt durch ihren teilweise starken Geschmack und die daraus resultierende sensorische Abweichung des Produktes. Trotz allem sind etherische Öle potenzielle Alternativen zu künstlichen Konservierungsmitteln. Sie bieten die Möglichkeit, im Bereich der Haltbarmachung bzw. der Verlängerung der Haltbarkeit von Lebensmitteln mehr natürliche Stoffe zu nutzen.

6 Schlussfolgerungen

Etherische Öle, wie Muskat– oder Nelkenöl, besitzen in vitro eine antibakterielle Aktivität gegenüber pathogenen und nicht pathogenen Mikroorganismen. Im Lebensmittel wird diese Fähigkeit durch die komplexere Zusammensetzung gehemmt.

In vitro zeigt Nelkenöl eine bessere Wirkung gegen *Brochothrix thermosphacta* als Muskatöl. Es kann angenommen werden, dass der hohe Gehalt an Eugenol im Nelkenöl dafür verantwortlich ist. Überdies ist die Wirkung von Muskatöl in vitro gegenüber *Lactobacillus sakei* nur geringfügig besser als die von Nelkenöl. *Pseudomonas fragi* reagiert in vitro deutlich sensibler auf Nelkenöl als auf Muskatöl.

In der Brühwurst ist die Hemmwirkung von Muskatöl gegenüber *Brochothrix thermosphacta* etwas besser als die des Nelkenöls. Nelkenöl hingegen ließ in den meisten Fällen sogar ein Wachstum des Keimes zu. Trotzdem kann ein Einfluss des Öls selbst nach 3 Wochen Lagerung auf das mit Nelkenöl angereicherte Lebensmittel nicht ausgeschlossen werden.

Gegen *Lactobacillus sakei* erscheint Nelkenöl mit seinem hohen Anteil an Eugenol deutlich wirksamer im Lebensmittel als Muskatöl, welches α-Pinen als Hauptbestandteil enthält.

Pseudomonas fragi zeigte eine etwas stärkere Sensibilität gegenüber Nelkenöl als gegen Muskatöl. Nelkenöl besitzt somit eine stärkere antimikrobielle Wirksamkeit gegen *Pseudomonas fragi*.

Ein Einbringen des Öles in die Wurst mit anschließender Durchmischung des Wurstbräts verspricht eine bessere Verteilung des Öles auch im Inneren des zu schützenden Lebensmittels.

Der immer stärkere Wunsch der Verbraucher nach natürlichen Zusatzstoffen anstatt chemischen sollte nicht außer Acht gelassen werden, wenn es darum geht, ein Produkt durch das Attribut „natürlich“, attraktiver zu machen.

Ungewollte sensorische Abweichungen aufgrund von geruchs- und/oder geschmacksintensiven Ölen können in vielen Fällen gemindert werden, indem eine optimale Konzentration der etherischen Öle verwendet wird. Als solche ist hier die maximale Konzentration des Öls zu sehen, welche antimikrobielle Eigenschaften zeigt, ohne negative Effekte auf das Lebensmittel zu haben. Es gilt also eine Balance zwischen den antimikrobiellen Eigenschaften etherischer Öle und den sensorischen Attributen des Lebensmittels zu finden. Des Weiteren sollte es ein Öl sein, welches geschmacklich mit dem Lebensmittel oder seiner Zubereitung harmoniert.

Gemeinsam mit den geografischen Unterschieden gehen auch Unterschiede in den jeweiligen Essgewohnheiten einher, gerade was den Einsatz von Gewürzen angeht. Aus diesem Grund muss bei Dosierung und Wahl des Öles die regionale Esskultur bedacht werden.

Eine Haltbarkeitsverlängerung von Brühwurstprodukten durch die alleinige Anwendung etherischer Öle in zu Würzzwecken verwendeten Dosierungen scheint wenig aussichtsreich. Allerdings ist die Anwendung der Öle in einem Hürdensystem als eine von vielen antibakteriellen Hürden durchaus vorstellbar.

7 Zusammenfassung

Cristiana Soares da Silva

Untersuchungen zum Einfluss etherischer Öle in SB-Verpackungen mit Schutzatmosphäre auf die Qualität von Brühwurst

Brühwurst wird häufig zum Ende ihrer Haltbarkeit hin wegen beginnenden Verderbs beanstandet. Dies liegt an dem Wachstum verschiedener Keime, allen voran Laktobazillen, Pseudomonaden und *Brochothrix*. Neben mikrobiologisch unbedenklichen Fleischprodukten fordert der Verbraucher heutzutage auch die Verwendung natürlicher Konservierungsstoffe anstatt der bisher herkömmlichen chemischen. Diese Forderung lässt sich durch den unterstützenden Einsatz etherischer Öle erfüllen. Sowohl der Erhalt der Produktqualität als auch die Keimzahlreduktion durch etherisches Öl ist abhängig von seiner Konzentration und seinen Inhaltsstoffen. Ziel der Arbeit war es daher, die Verderbniserreger durch die Nutzung etherischer Öle zu reduzieren und die Auswirkungen der Öle auf die Sensorik von Brühwurst zu überprüfen.
Zu diesem Zweck wurde die antimikrobielle Wirksamkeit von Muskat- und Nelken- sowie einer Kombination beider Öle in Vorversuchen in vitro mittels Bouillonmikrodilution (n=6) an den typischen Gram-positiven (*Lactobacillus sakei*, *Brochothrix thermosphacta*) und Gram-negativen (*Pseudomonas fragi*) Verderbniserregern von Brühwurst getestet. *Brochothrix thermosphacta* zeigte sich in den Vorversuchen resistenter gegenüber Muskatöl als gegenüber Nelkenöl. Auch *Lactobacillus sakei* war zwar sensibel gegenüber den Ölen, aber auch hier war eine deutlich geringere Sensibilität des Keimes gegenüber Muskatöl als gegen Nelken- oder der Kombination beider Öle zu erkennen. Gleiches wurde für *Pseudomonas fragi* festgestellt.

Im Hauptversuch wurde Brühwurst nach handelsüblicher Rezeptur hergestellt. Es wurden 5 ml des jeweils zu untersuchenden Öls als verdünnte Lösung bzw. einer Kochsalzlösung als Kontrolle auf ein Fließ gegeben, welches vorher auf den Boden der Verpackung gelegt wurde. Eine Lagerung erfolgte unter Schutzgasatmosphäre (70%N_2, 30%CO_2) bei einer konstanten Temperatur von 7°C +/- 0,5°C für 21 Tage (n=9). Die antimikrobiellen Fähigkeiten der Öle wurden per Spatel- oder Plattenguss-

verfahren bestimmt. Eine antimikrobielle Wirksamkeit der etherischen Öle in Brühwurstaufschnitt gegenüber *Brochothrix thermosphacta* konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden.

Der Einfluss der Öle auf das Wachstum von *Lactobacillus sakei* lässt sich wie folgt zusammenfassen. Ein messbares Wachstum des Keimes war erst an Tag 7 zu verzeichnen. Nelkenöl vermochte die Keimzahl um 1,6 Logstufen am Tag 21 zu reduzieren. Anders als beim *Brochothrix* hemmte das Öl fast durchgängig *Lactobacillus* in allen drei Konzentrationen (0,25%, 0,5%, 0,75%).

Am Untersuchungstag 7 wurde eine generelle Hemmung der Keimzahl von *Pseudomonas fragi* durch alle etherischen Öle gemessen. Diese war in einem Bereich von lg 0,25 (Nelke 0,25%) bis lg 0,44 (Nelke 0,5%, 0,75%; Muskat 0,25%, 0,5%, 0,75% und Kombination der Öle 0,5%, 0,75%). Zuvor war keinerlei Wachstum zu erkennen. An den Tagen 10 und 14 stieg die Keimzahl, allerdings nur bei den niedrig konzentrierten Muskat- und Kombinationsölproben. Hier betrug das Wachstum 0,19 bis 0,27 Logstufen, im Vergleich zu unbehandelten Proben. Alle anderen Behandlungen ließen weder Wachstum noch eine Senkung der Keimzahl erkennen. Am letzten Untersuchungstag war bei allen 0,75%igen Lösungen kein Wachstum zu erkennen. Lediglich die Konzentrationen 0,25% und 0,5% zeigten bei allen Ölen durchweg ein Wachstum der Keimzahl von lg 0,62 bis lg 0,71. Betrachtet man das Wachstumsverhalten der drei genannten Keime über den gesamten Lagerungszeitraum hinweg, so wird deutlich, dass mit zunehmender Dauer die Keimzahl deutlich stieg, das Wachstum also nicht verhindert, sondern bestenfalls nur verlangsamt werden konnte.

Anders als bei der Wirkung auf die spezifischen Verderbniserreger war eine Wirkung der Öle auf die aerobe Gesamtkeimzahl zum Ende der Lagerung gegeben. Hier waren am 14. und 21. Lagerungstag nur geringe Wachstumsraten von lg 0,25 bis lg 1,1 bei 0,25% und 0,5% Nelken- und Kombinationsöl erkennbar. Sowohl die 0,75%ige Variante von Nelkenöl und Kombination der Öle als auch alle drei Muskatölvarianten sorgten an diesen Tagen für eine Hemmung der Keimzahl zwischen lg 0,3 bis lg 2,6, wobei Nelken- und Muskatöl wirksamer waren als die Kombination, dieses Öl hemmte in seiner höchsten Konzentration um 1,5 Logstufen. Muskat war an Tag 14, anders

als bei *Brochothrix*, sogar etwas effizienter als Nelkenöl. Auch hier ließ sich die Keimzahl aber nicht über den gesamten Zeitraum niedrig halten.

Mit Dauer der Lagerung nahm der Geruch nach etherischem Öl, der von den Prüfern als abweichend von einer normalen, unbehandelten Standardbrühwurst bezeichnet wurde, ab. Dabei war Nelkenöl dem Standard ähnlicher als Muskatöl, welches bei der 0,75%igen Konzentration am deutlichsten von der Standardwurst abwich. Nelkenöl behandelte Wurstscheiben waren in ihrer 0,25%- und 0,5%iger Konzentration nur wenig abweichend vom Standard und erhielten damit eine sehr gute Bewertung durch die Prüfer, ebenso die Kombination beider Öle in gleicher Menge und Muskatöl. Dieses allerdings nur in seiner 0,25%igen Konzentration. Muskatölbehandelte Wurstscheiben wiesen die höchsten Werte und damit die stärkste sensorische Abweichung zur nicht mit Öl behandelten Standardwurst auf.

Beim Geschmack trat das Phänomen der Verflüchtigung mit andauernder Lagerung, wie es beim Geruch der Öle der Fall war, nicht ein. Sehr gut akzeptiert wurden Kombiöl und Nelkenöl 0,25%. Sie unterschieden sich nur marginal vom Standard.

Für einen erfolgreichen Einsatz etherischer Öle in Wurstprodukten bedarf es weiterführender Untersuchungen, die die Schwankungsbreite der wirksamen Inhaltsstoffe der etherischen Öle und deren antibakterielle Eigenschaften mit einbeziehen. Sie sollten für jeden Keim und jedes etherische Öl spezifisch untersucht werden. Es scheint möglich, etherische Öle in Brühwurstprodukten zu verwenden, da antimikrobielle Eigenschaften erkennbar waren. Daher ist es durchaus vorstellbar, etherische Öle als Teil eines Hürdenkonzeptes zur Verlängerung der Haltbarkeit von Brühwurst zu verwenden.

8 Summary

Cristiana Soares da Silva

Effect of essential oils on the quality of cooked sausage packaged in modified atmosphere

Cooked sausages are often objected to the end of their shelf life because of the beginning of spoilage. This is due to the growth of various spoilage microorganisms, especially Lactobacilli, *Pseudomonas* and *Brochothrix*. In addition to microbiological stable meat products, the consumer today demands the use of natural preservatives instead of conventional chemical substances. This requirement can be satisfied by applying essential oils to preserve product quality as well as to minimize bacteria. This depends on the oil concentration and its constituents. The aim of this work is to reduce the number of spoilage bacteria by using essential oils and checking the effect of the oils on sensory properties of cooked sausages.

For this purpose, the antimicrobial efficiency of nutmeg, clove and a combination of both, were tested in preliminary experiments in vitro using broth microdilution (n=6). The typical Gram-positive (*Lactobacillus sakei, Brochothrix thermosphacta*) and Gram-negative (*Pseudomonas fragi*) spoilage organisms of sausage were chosen. In preliminary tests *Brochothrix thermosphacta* was found less sensitive to oil of nutmeg than to clove oil. *Lactobacillus sakei* also was sensitive to the oils. A significantly lower sensitivity to nutmeg oil than to clove oil and their combination was detected. The same was observed for *Pseudomonas fragi*.

In the main experiment, cooked sausage was prepared by commercial recipe. Five ml of oil solution or saline, as control group, were placed on gauze, which was previously put in the ground of the packaging. It was stored under inert gas atmosphere (70%N_2, 30%CO_2) at a constant temperature of 6 °C ± 0.5 °C for 21 days (n=9). Antimicrobial activity was tested by counting microbial colonies on agar plates. The antimicrobial activity of essential oils in cooked sausage slices against *Brochothrix thermosphacta* could not be clearly demonstrated. First measurable growth of *Lactobacillus sakei* was detected on day 7. Clove oil was able to reduce

the bacterial count by 1.6 lg on day 21. Unlike *Brochothrix*, clove oil inhibited almost entirely in all concentrations the growth of *Lactobacillus*.

On study day 7, general reduction in bacterial count of *Pseudomonas fragi* was measured for each essential oil. It was in a range of 0.25 lg (0.25% clove) to 0.44 lg (clove 0.5%, 0.75%, 0.25% nutmeg, 0.5%, 0.75% and combined oil 0.5%, 0.75%). No growth was seen before day 10. On days 10 and 14 bacterial growth was only detectable at the lowest concentrations of nutmeg oil and the combined oil samples. Here the growth rate was 0.19 lg to 0.27 lg. At all other treatments neither growth nor reduction was detectable. Even on the final examination day, no growth was identifiable for all 0.75% solutions. Only the concentrations of 0.25% and 0.5% of all oils showed consistently an increase of 0.62 lg to 0.71 lg. Considering the growth patterns of the three organisms across the entire storage period, it was clear, that with prolonged duration the bacterial count increases. Growth cannot be prevented, but it can be slowed. Unlike the behavior against the specific spoilage organisms, the effect of the oils on aerobic total count was more effective at the end of storage. On day 14 and 21 only low growth rates from 0.25 lg to 1.1 lg at 0.25% and 0.5% clove oil and combination were detected. All other solutions have shown reductions between 0.3 lg to 2.6 lg on the same days. Clove and nutmeg oil were more effective than their combination, which reduced to 1.5 lg in its highest concentration. Unlike *Brochothrix*, nutmeg was even slightly more efficient than clove oil (on day 14). Again, the bacterial count could not be kept low for *Brochothrix* throughout the experimental period.

During the sensory tests odor was found as slightly sloping with duration of storage. Clove oil treated slices always were more similar in odor to the reference sausage than nutmeg oil was. It revealed in its 0.75% concentration the highest differences from the reference sausage. In the 0.25% and 0.5% concentrations, clove oil and combination of both oils showed only slightly different values from the standard, this was rewarded with a very good rating by the auditors. Nutmeg oil showed the same effect, but only in its 0.25% treatment variant. Slices treated by nutmeg oil had the highest values and thus the strongest deviation.

As far as taste was concerned no changes have been observed during storage. This was different to smell that vanished with the duration of storage. The combination of nutmeg and clove oil were very good tolerated in their 0.25% concentration. They showed the least variation to the standard.

For a successful use of essential oils in meat products, further investigations are required, involving the variation of the active ingredients of the oils and their antibacterial properties. This should be investigated for each relevant microorganism and oil specifically. This study demonstrates the possibility of utilizing essential oils in cooked sausage products, due to their antimicrobial properties which could be demonstrated. It is quite conceivable to use essential oils as part of a hurdle concept. Therefore they could be used for extending the shelf life of cooked sausage.

9 Literaturverzeichnis

ATREA, I., A. PAPAVERGOU, I. AMVROSIADIS u. I. N. SAVVAIDIS (2009):
Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (Octopus vulgaris) from the Aegean Sea stored at 4 degrees C.
Food Microbiology 26 (2), 166-172

BAGAMBOULA, C. F., M. UYTTENDAELE u. J. DEBEVERE (2004):
Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and S-flexneri.
Food Microbiology 21 (1), 33-42

BAUMGART, J. u. B. BECKER (2008):
Fleisch und Fleischerzeugnisse.
in: Mikrobiologische Untersuchungen von Lebensmitteln,
Behr`s Verlag, Hamburg, S. 1-39

BLASZYK, M. u. R. A. HOLLEY (1998):
Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms.
Int. J. Food Microbiol. 39 (3), 175-183

BLICKSTAD, E. (1983):
Growth and end product formation of 2 psychrotrophic Lactobacillus spp. and *Brochothrix thremosphacta* ATCC-11509T at different pH values and temperatures.
Applied and Environmental Microbiology 46 (6), 1345-1350

BOHNSACK, U. u. H. U. HOPKE (1990):
THE SHELF-LIFE OF PIECES OF FRESH MEAT AS A FUNCTION OF DEGREE OF COMMINUTION.
Fleischwirtschaft 70 (7), 786-788

BORCH, E., E. NERBRINK u. P. SVENSSON (1988):
Identification of major contamination sources of emulsion sausage.
Int. J. Food Microbiol. 7 (4), 317-330

BORCH, E., M. L. KANTMUERMANS u. Y. BLIXT (1996):
Bacterial spoilage of meat and cured meat products.
International Journal of Food Microbiology 33 (1), 103-120

BRAUER, H. (2004):
Brühwurst-Technologie.
3. Auflage, Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

BRAUN, P. u. J. P. SUTHERLAND (2004):
Predictive modelling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of *Brochothrix thermosphacta*.
International Journal of Food Microbiology 95 (2), 169-175

BUCKENHÜSKES, H. J. (1996):
Hygienische Aspekte des Einsatzes von Gewürzen bei der Herstellung von Fleischwaren.
Fleischwirtschaft 76 (6), 619-625

BURT, S. (2004):
Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review.
Int. J. Food Microbiol. 94 (3), 223-253

BURT, S. A. u. R. D. REINDERS (2003):
Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157 : H7.
Lett. Appl. Microbiol. 36 (3), 162-167

BUSATTA, C., R. S. VIDAL, A. S. POPIOLSKI, A. J. MOSSI, C. DARIVA, M. R. A. RODRIGUES, F. C. CORAZZA, M. L. CORAZZA, J. V. OLIVEIRA u. R. L. CANSIAN (2008):
Application of Origanum majorana L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage.
Food Microbiology 25 (1), 207-211

CAREAGA, M., E. FERNANDEZ, L. DORANTES, L. MOTA, M. E. JARAMILLO u. H. HERNANDEZ-SANCHEZ (2003):
Antibacterial activity of Capsicum extract against Salmonella typhimurium and Pseudomonas aeruginosa inoculated in raw beef meat.
Int. J. Food Microbiol. 83 (3), 331-335

CARRAMINANA, J. J., C. ROTA, J. BURILLO u. A. HERRERA (2008):
Antibacterial efficiency of Spanish *Satureja montana* essential oil against *Listeria monocytogenes* among natural flora in minced pork.
J. Food Prot. 71 (3), 502-508

CAVA, R., L. LADERO, S. GONZALEZ, A. CARRASCO u. M. R. RAMIREZ (2009):
Effect of pressure and holding time on colour, protein and lipid oxidation of sliced dry-cured Iberian ham and loin during refrigerated storage.
Innovative Food Science & Emerging Technologies 10 (1), 76-81

CHAMPOMIER-VERGES, M. C., S. CHAILLOU, M. CORNET u. M. ZAGOREC (2001):
Lactobacillus sakei: recent developments and future prospects.
Research in Microbiology 152 (10), 839-848

CHAMPOMIER-VERGES, M. C., A. MARCEAU, T. MERA u. M. ZAGOREC (2002):
The pepR gene of *Lactobacillus sakei* is positively regulated by anaerobiosis at the transcriptional level.
Applied and Environmental Microbiology 68 (8), 3873-3877

CHOULIARA, E., A. KARATAPANIS, I. N. SAVVAIDIS u. M. G. KONTOMINAS (2007):
Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 degrees C.
Food Microbiology 24 (6), 607-617

CHUANG, S. E., A. L. CHENG, J. K. LIN u. M. L. KUO (2000):
Inhibition by curcumin of diethylnitrosamine-induced hepatic hyperplasia, inflammation, cellular gene products and cell-cycle-related proteins in rats.
Food Chem. Toxicol. 38 (11), 991-995

CHURCH, I. J. u. A. L. PARSONS (1995):
Modified atmosphere packaging technology - a review.
Journal of the Science of Food and Agriculture 67 (2), 143-152

COSENTINO, S., C. I. G. TUBEROSO, B. PISANO, M. SATTA, V. MASCIA, E. ARZEDI u. F. PALMAS (1999):
In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils.
Lett. Appl. Microbiol. 29 (2), 130-135

COWAN, M. M. (1999):
Plant products as antimicrobial agents.
Clinical Microbiology Reviews 12 (4), 564-+

COX, S. D., C. M. MANN, J. L. MARKHAM, H. C. BELL, J. E. GUSTAFSON, J. R. WARMINGTON u. S. G. WYLLIE (2000):
The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil).
J Appl Microbiol 88 (1), 170-175

DAINTY, R. H. u. B. M. MACKEY (1992):
The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes.
Journal of Applied Bacteriology 73 S103-S114

DE OLIVEIRA, T. L. C., R. D. SOARES, E. M. RAMOS, M. D. CARDOSO, E. ALVES u. R. H. PICCOLI (2011):
Antimicrobial activity of Satureja montana L. essential oil against Clostridium perfringens type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite.
Int. J. Food Microbiol. 144 (3), 546-555

DEANS, S. G. u. G. RITCHIE (1987):
Antibacterial properties of plant essential oils.
Int. J. Food Microbiol. 5 (2), 165-180

DEANS, S. G. u. P. G. WATERMAN (1993):
Biological activity of volatile oils.
in: R. K. M. HAY und P. G. WATERMAN: Volatile oil crops: Their biology, biochemistry
and production,
Harlow, Longman Scientific & Technical, Essex (GB), S. 97-111

DEININGER (1991):
in: Gewürzdrogen: ein Handbuch der Gewürze, Gewürzkräuter, Gewürzmischungen und ihrer ätherischen Öle
Z. Phytotherapy 12 (6), 205-212

DELAQUIS, P. J. u. G. MAZZA (1995):
Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation Food Technology 49 (11), 73-&

DELAQUIS, P. J., K. STANICH, B. GIRARD u. G. MAZZA (2002):
Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils.
Int. J. Food Microbiol. 74 (1-2), 101-109

DEVLIEGHERE, F., J. DEBEVERE u. J. VAN IMPE (1998):
Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms.
Int. J. Food Microbiol. 43 (1-2), 105-113

DEVLIEGHERE, F. u. J. DEBEVERE (2000):
Influence of dissolved carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria.
Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology 33 (8), 531-537

DORMAN, H. J. D. u. S. G. DEANS (2000):
Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils.
J Appl Microbiol 88 (2), 308-316

DROSINOS, E. H. u. R. G. BOARD (1995):
Attributes of microbial associations of meat growing as xenic batch cultures in a meat juice at 4°C.
International Journal of Food Microbiology 26 (3), 279-293

ELGAYYAR, M., F. A. DRAUGHON, D. A. GOLDEN u. J. R. MOUNT (2001):
Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms.
J. Food Prot. 64 (7), 1019-1024

ERCOLINI, D., F. RUSSO, E. TORRIERI, P. MASI u. F. VILLANI (2006):
Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions.
Applied and Environmental Microbiology 72 (7), 4663-4671

ERCOLINI, D., F. RUSSO, A. NASI, P. FERRANTI u. F. VILLANI (2009):
Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their Spoilage Potential In Vitro and in Beef.
Applied and Environmental Microbiology 75 (7), 1990-2001

FARAG, R. S., Z. Y. DAW, F. M. HEWEDI u. G. S. A. ELBAROTY (1989):
Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils.
J. Food Prot. 52 (9), 665-667

FARBER, J. M. (1990):
Microbiological Apsects of Modified-Atmosphere Packaging Technology - A Review.
Journal of Food Protection 54 (1), 58-70

FISHER, K., C. ROWE u. C. A. PHILLIPS (2007):
The survival of three strains of Arcobacter butzleri in the presence of lemon, orange and bergamot essential oils and their components in vitro and on food.
Lett. Appl. Microbiol. 44 (5), 495-499

FONCHY, E., A. MORIN, N. RODRIGUE, B. MULLER u. P. CHALIER (1999):
Effect of growth temperature on hydrolytic and esterifying activities from *Pseudomonas fragi* CRDA 037 grown on whey.
Applied and Environmental Microbiology 65 (7), 3114-3120

FRIES (2003):
Mikrobiologie verpackter Fleischerzeugnisse und verpackten Fleisches.
in: WEBER: Mikrobiologie der Lebensmittel Fleisch-Fisch Feinkost,
Behr`s Verlag, Hamburg, S. 380-418

GERHARDT, U. (1994):
Gewürze in der Lebensmittelindustrie: Eigenschaften, Technologien, Verwendung.
2. Auflage, Behr`s Verlag, Hamburg

GIATRAKOU, V., S. KYKKIDOU, A. PAPAVERGOU, M. G. KONTOMINAS u. I. N. SAVVAIDIS (2008):
Potential of oregano essential oil and MAP to extend the shelf life of fresh swordfish: A comparative study with ice storage.
Journal of Food Science 73 (4), M167-M173

GILL, A. O., P. DELAQUIS, P. RUSSO u. R. A. HOLLEY (2002):
Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham.
Int. J. Food Microbiol. 73 (1), 83-92

GILL, A. O. u. R. A. HOLLEY (2004):
Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L-monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*.
Applied and Environmental Microbiology 70 (10), 5750-5755

GILL, C. O. u. K. G. NEWTON (1982):
Effect of lactic-acid concentration on growth on meat of gram-negative psychrotrophs from a meatworks.
Applied and Environmental Microbiology 43 (2), 284-288

GILL, C. O. (1988):
The solubility of carbon dioxide in meat.
Meat Science 22 65-71

GLANDORF, P. KUHNERT u. E. LÜCK (1991):
Handbuch der Lebensmittelzusatzstoffe.
Behr's Verlag, Hamburg

GONZALEZ-FANDOS, E. M., M.-L. SIERRA, M.-L. GARCIA-LOPEZ, A. OTERO u. J. SANZ (1996):
Effect of the major herbs and spices in spanish fermented sausages on *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria.
Archiv für Lebensmittelhygiene 47 43-47

GOULD, G. W. (1996):
Methods for preservation and extension of shelf life.
Int. J. Food Microbiol. 33 (1), 51-64

GRAU, F. H. (1983):
End products of glucose fermentation by *Brochothrix thermosphacta*.
Applied and Environmental Microbiology 45 (1), 84-90

GROHS, B. M. u. B. KUNZ (1999):
Antimicrobial Effects of Spices on Sausage-Spoiling Microorganisms Using a Model Medium for Sausage Type Frankfurter.
Advanced Food Science 21 (3/4), 128-135

HALLSTRÖM, H. T., A. (1997):
Toxicological evaluation of myristicin.
Nat Toxins 5 (5), 186-192

HAMMER, K. A., C. F. CARSON u. T. V. RILEY (1999):
Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts.
J Appl Microbiol 86 (6), 985-990

HAYOUNI, E. A., I. CHRAIEF, M. ABEDRABBA, M. BOUIX, J. Y. LEVEAU, H. MOHAMMED u. M. HAMDI (2008):
Tunisian Salvia officinalis L. and Schinus molle L. essential oils: Their chemical compositions an their preservative effects against Salmonella inoculated in minced beef meat.
Int. J. Food Microbiol. 125 (3), 242-251

HE, M., M. Q. DU, M. W. FAN u. Z. A. BIAN (2007):
In vitro activity of eugenol against Candida albicans biofilms.
Mycopathologia 163 (3), 137-143

HEBRAUD, M., E. DUBOIS, P. POTIER u. J. LABADIE (1994):
Effect of growth temperatures on the protein-levels in a psychrotrophic bacterium, *Pseudomonas-fragi*.
Journal of Bacteriology 176 (13), 4017-4024

HELANDER, I. M., H. L. ALAKOMI, K. LATVA-KALA, T. MATTILA-SANDHOLM, I. POL, E. J. SMID, L. G. M. GORRIS u. A. VON WRIGHT (1998):
Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria.
J. Agric. Food Chem. 46 (9), 3590-3595

HO, C. P., N. Y. HUANG u. K. W. MCMILLAN (2003):
Microflora and color of ground beef in gas exchange modified atmosphere packaging with abusive display temperatures. (vol 68, pg 1774, 2003).
Journal of Food Science 68 (6), VIII-VIII

HOLLEY, R. A. u. D. PATEL (2005):
Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials.
Food Microbiology 22 (4), 273-292

HOLY, A. V. u. W. H. HOLZAPFEL (1991):
Shelf life extension of vacuum packaged vienna sausages by in-package pasteurization.
Proc. 37th Int. Congr. Meat Sci. Technol. Sept. 1-6 563-566

HOLY, A. V., D. MEISSNER u. W. H. HOLZAPFEL (1991):
Effects of pasteurization and storage temperature on vacuum-packaged vienna sausage shelf-life.
S. Afr. J. Sci. 87 387-390

HOLZAPFEL, W. H. u. E. S. GERBER (1986):
Predominance of *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake* in the spoilage association of vacuum-packaged meat products.
Proceedings of the 32nd European Meeting of Meat Research Workers Ghent 26

HOLZAPFEL, W. H., R. GEISEN u. U. SCHILLINGER (1995):
Biological preservations of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes.
International Journal of Food Microbiology 24 (3), 343-362

HUGAS, M., F. PAGES, M. GARRIGA u. J. M. MONFORT (1998):
Application of the bacteriocinogenic *Lactobacilus sakei* CTC494 to prevent growth of Listeria in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres.
Food Microbiology 15 (6), 639-650

HUIS IN´T VELD, J. (1996):
Microbial and biochemical spoilage of foods: An overview.
International Journal of Food Microbiology 33 (1), 1-18

HUSSAIN, S. P. u. A. R. RAO (1991):
Chemopreventive action of mace (*Myristica fragrans*, Houtt) on methylcholanthrene-induced carcinogenesis in the uterine cervix in mice.
Cancer Letters 56 (3), 231-234

ICMSF (1986):
Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological
analysis: Principles and specific applications 2nd ed., University of Toronto Press, Toronto

JANSSENS, G. M. L., L.A.C. PIETERS, I. TOTTE, A.G. HERMAN AND VLIETINCK, A.J. (1990):
Nutmeg Oil: identification and quantitation of its most active constituents as initibitors of platelet aggregation.
Journal of Ethnopharmacology 29 (2), 179-188

JERKOVIC, I., J. MASTELIC u. M. MILOS (2001):
The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of Origanum vulgare L. ssp hirtum grown wild in Croatia.
International Journal of Food Science and Technology 36 (6), 649-654

JORUNN, A. (1993):
Farbstabilität bei verpackten Fleischerzeugnissen Einfluß von Verpackungsmethoden, reduziertem Druck und Kohlenmonoxid in modifizierten Atmosphären auf die Farbstabilität von Brühwurst- und Kochschinkenaufschnitt.
Fleischwirtschaft 73 (4), 441-444

KARATZAS, A. K., E. P. W. KETS, E. J. SMID u. M. H. J. BENNIK (2001):
The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on Listeria monocytogenes Scott A.
J Appl Microbiol 90 (3), 463-469

KEWELOH u. HERZIG (2009):
Mikroorganismen in Lebensmitteln: Theorie und Praxis der Lebensmittelhygiene.
Verlag-Europa-Lehrmittel, Haan-Gruiten

KHULLAR, N. (2010):
Antimicrobials from plants and their use in therapeutics and drug discovery.
The IIOAB Journal 1 (3), 31-37

KIM, J. M., M. R. MARSHALL, J. A. CORNELL, J. F. PRESTON u. C. I. WEI (1995):
Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against Salmonella typhimurium in culture medium and on fish cubes.
J. Food Sci. 60 (6), 1364-&

KLETTNER, P. G. u. A. STIEBING (1980a):
Beitrag zur Bestimmung der Farbe bei Fleisch und Fleischerzeugnissen, I. Einführung in die Grundlagen der Farbmessung.
Fleischwirtschaft 60 (11), 1970-1976

KLETTNER, P. G. u. A. STIEBING (1980b):
Beitrag zur Bestimmung der Farbe bei Fleisch und Fleischerzeugnissen, Einführung in die Grundlagen der Farbmessung.
Fleischwirtschaft 60 1970-1976

KNOBLOCH, K., A. PAULI u. B. IBERL (1989):
Antibacterial and antifungal properties of essential oil components.
Journal of Essential Oil Research 1 119-128

KORKEALA, H., T. SUORTTI u. P. MAKELA (1988):
Ropy slime formation in vacuum-packed cooked meat-products caused by homofermentative Lactobacilli and a Leuconostoc species Int. J. Food Microbiol. 7 (4), 339-347

KOVACEVIC, N. N., M. D. SIMIC u. M. S. RISTIC (2007):
Essential oil of Laurus nobilis from Montenegro.
Chemistry of Natural Compounds 43 (4), 408-411

KRAFT, K. (2000):
Checkliste Phytotherapie.
Thieme Verlag, Stuttgart

KRAMER, K. H. u. J. BAUMGART (1993):
SLICED FRANKFURTER-TYPE SAUSAGE - INHIBITING LISTERIA-MONOCYTOGENES BY MEANS OF A MODIFIED ATMOSPHERE.
Fleischwirtschaft 73 (11), 1279-1280

LABADIE, J. (1999):
Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche.
Meat Science 52 (3), 299-305

LACHOWICZ, K. J., G. P. JONES, D. R. BRIGGS, F. E. BIENVENU, J. WAN, A. WILCOCK u. M. J. COVENTRY (1998):
The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (Ocimum basilicum L.) against acid-tolerant food microflora.
Lett. Appl. Microbiol. 26 (3), 209-214

LAMBERT, R. J. W., P. N. SKANDAMIS, P. J. COOTE u. G. J. E. NYCHAS (2001):
A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol.
J Appl Microbiol 91 (3), 453-462

LAUTENSCHLÄGER, R. u. K. TROEGER (2007):
Brühwurst.
in: O. BRANSCHEID, LENGERKEN, TROEGER: Qualität von Fleisch und Fleischwaren
2, Deutscher Fachverlag GmbH, Frankfurt am Main, S. 938-974

LAWRENCE, B. M. (1990):
Progress in essential oils.
Perfumer & Flavorist 15 62-64

LEBERT, I., C. BEGOT u. A. LEBERT (1998):
Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi* in a meat medium as affected by pH (5.8-7.0), water activity (0.97-1.00) and temperature (7-25 degrees C).
International Journal of Food Microbiology 39 (1-2), 53-60

LEBERT, I., S. LEROY u. R. TALON (2007):
Effect of industrial and natural blocides on spoilage, pathogenic and technological strains grown in biofilm.
Food Microbiology 24 (3), 281-287

LEROY, F., K. LIEVENS u. L. DE VUYST (2005):
Modeling bacteriocin resistance and inactivation of *Listeria innocua* LMG 13568 by *Lactobacillus sakei* CTC 494 under sausage fermentation conditions.
Applied and Environmental Microbiology 71 (11), 7567-7570

LEUSCHNER, R. G. K. u. V. IELSCH (2003):
Antimicrobial effects of garlic, clove and red hot chilli on Listeria monocytogenes in broth model systems and soft cheese.
Int. J. Food Sci. Nutr. 54 (2), 127-133

LINDAHL, G., K. LUNDSTROM u. E. TORNBERG (2001):
Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs.
Meat Sci. 59 (2), 141-151

MAKELA, P., U. SCHILLINGER, H. KORKEALA u. W. H. HOLZAPFEL (1992):
Classification of ropy slime-producing lactic-acid bacteria based on DNA-homology, and identification of Lactobacillus sake and Leuconostoc amelibiosum as dominant spoilage organisms in meat products.
Int. J. Food Microbiol. 16 (2), 167-172

MANN, C. M., S. D. COX u. J. L. MARKHAM (2000):
The outer membrane of Pseudomonas aeruginosa NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil).
Lett. Appl. Microbiol. 30 (4), 294-297

MARINO, M., C. BERSANI u. G. COMI (2001):
Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae.
Int. J. Food Microbiol. 67 (3), 187-195

MARTINEZ, A., I. CAMBERO, Y. IKKEN, M. L. MARIN, A. I. HAZA u. P. MORALES (1998):
Protective effect of broccoli, onion, carrot, and licorice extracts against cytotoxicity of N-nitrosamines evaluated by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay.
J. Agric. Food Chem. 46 (2), 585-589

MARTINEZ, L., D. DJENANE, I. CILLA, J. A. BELTRAN u. P. RONCALES (2005):
Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere.
Meat Science 71 (3), 563-570

MARTINEZ, L., D. DJENANE, I. CILLA, J. A. BELTRAN u. P. RONCALES (2006):
Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere.
Food Chemistry 94 (2), 219-225

MASTROMATTEO, M., A. LUCERA, M. SINIGAGLIA u. M. R. CORBO (2009):
Microbiological characteristics of poultry patties in relation to packaging atmospheres.
International Journal of Food Science and Technology 44 (12), 2620-2628

MAYO, B., D. VAN SINDEREN u. M. VENTURA (2008):
Genome analysis of food grade lactic acid-producing bacteria: From basics to applications.
Current Genomics 9 (3), 169-183

MEJLHOLM, O. u. P. DALGAARD (2002):
Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism Photobacterium phosphoreum in liquid media and fish products.
Letters in Applied Microbiology 34 (1), 27-31

METAXOPOULOS, J., M. MATARAGAS u. E. H. DROSINOS (2002):
Microbial interaction in cooked cured meat products under vacuum or modified atmosphere at 4 degrees C.
Journal of Applied Microbiology 93 (3), 363-373

MICHEL, V., J. LABADIE u. M. HEBRAUD (1996):
Effect of different temperature upshifts on protein synthesis by the psychrotrophic bacterium *Pseudomonas fragi*.
Current Microbiology 33 (1), 16-25

MORENO, S., T. SCHEYER, C. S. ROMANO u. A. A. VOJNOV (2006):
Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition.
Free Radic. Res. 40 (2), 223-231

NEUMEYER, K., T. ROSS u. T. A. MCMEEKIN (1997):
Development of a predictive model to describe the effects of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads.
International Journal of Food Microbiology 38 (1), 45-54

NISSEN, H., O. SORHEIM u. R. DAINTY (1996):
Effects of vacuum, modified atmospheres and storage temperature on the microbial flora of packaged beef.
Food Microbiology 13 (3), 183-191

NYCHAS, G.-J. E. (2007):
Meat Poultry and Seafood.
in: G.-J. E. NYCHAS, MARSHALL, D., AND SOFOS, J.: Food Microbiology - Fundamentals and Frontiers,
3, ASM Press, New York, S. 105-140

NYCHAS, G. J. E. u. C. C. TASSOU (2000):
Traditional Preservatives - Oils and Spices.
in: R. ROBINSON, C. BATT und P. PATEL: Encyclopedia of Food Microbiology,
Academic Press, San Diego, San Francisco, New York, S. 17171722

OLAJIDE, O. A., F. F. AJAYI, A. I. EKHELAR, S. O. AWE, J. M. MAKINDE u. A. R. A. ALADA (1999):
Biological effects of Myristica fragrans (nutmeg) extract.
Phytotherapy Research 13 (4), 344-345

ORAL, N., L. VATANSEVER, C. SEZER, B. AYDIN, A. GUVEN, M. GULMEZ, K. H. C. BASER u. M. KURKCUOGLU (2009):
Effect of absorbent pads containing oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees Celsius.
Poultry Science 88 (7), 1459-1465

OUATTARA, B., R. E. SIMARD, R. A. HOLLEY, G. J. P. PIETTE u. A. BEGIN (1997):
Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms.
Int. J. Food Microbiol. 37 (2-3), 155-162

OUSSALAH, M., S. CAILLET, L. SAUCIER u. M. LACROIX (2007):
Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E-coli O157 : H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes.
Food Control 18 (5), 414-420

PANDIT, V. A. u. L. A. SHELEF (1994):
Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus-officinalis L.*).
Food Microbiology 11 (1), 57-63

PAPATHOMOPOULOU, K. u. P. KOTZEKIDOU (2009):
Inactivation of verocytotoxigenic *Escherichia col*i and *Listeria monocytogenes* co-cultured with *Lactobacillus sakei* in a simulated meat fermentation medium.
Journal of Food Safety 29 (3), 331-347

PASTER, N., B. J. JUVEN, E. SHAAYA, M. MENASHEROV, R. NITZAN, H. WEISSLOWICZ u. U. RAVID (1990):
Inhibitory effect of oregano and thyme oils on molds and foodborne bacteria.
Lett. Appl. Microbiol. 11 (1), 33-37

PEREIRA, J. N. u. M. E. MORGAN (1957):
Nutrition and physiology of *Pseudomonas fragi*.
Journal of Bacteriology 74 (6), 710-713

PEXARA, E. S., J. METAXOPOULOS u. E. H. DROSINOS (2002):
Evaluation of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages 'piroski' stored under vacuum and modified atmospheres at +4 and +10 degrees C.
Meat Science 62 (1), 33-43

PHILLIPS, C. A. (1996):
Review: Modified Atmosphere Packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce.
International Journal of Food Science and Technology 31 (6), 463-479

PICHARDT, K. (1998):
Lebensmittelmikrobiologie: Grundlagen für die Praxis.
4. Auflage, Springer Verlag, Berlin

PIN, C., G. D. G. DE FERNANDO u. J. A. ORDONEZ (2002):
Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta*.
Applied and Environmental Microbiology 68 (9), 4441-4447

PLATEL, K. u. K. SRINIVASAN (1996):
Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats.
Int. J. Food Sci. Nutr. 47 (1), 55-59

PRABUSEENIVASAN, S., M. JAYAKUMAR u. S. IGNACIMUTHU (2006):
In vitro antibacterial activity of some plant essential oils.
BMC Complementary and
Alternative Medicine 39 (6), 1-8

QUIST, S. (1976):
Microbiology of sliced vacuumpacked meat products.
Proceedings 22nd
Meat Research Worker Congress. Malmo,
Sweden

RANTSIOU, K., R. URSO, L. IACUMIN, C. CANTONI, P. CATTANEO, G. COMI u. L. COCOLIN (2005):
Culture-dependent and -independent methods to investigate the microbial ecology of Italian fermented sausages.
Applied and Environmental Microbiology 71 (4), 1977-1986

RATTANASOMBOON, N., S. R. BELLARA, C. L. HARDING, P. J. FRYER, C. R. THOMAS, M. AL-RUBEAI u. C. M. MCFARLANE (1999):
Growth and enumeration of the meat spoilage bacterium *Brochothrix thermosphacta*.
International Journal of Food Microbiology 51 (2-3), 145-158

REUTER, G. (1970):
Untersuchungen zur Mikroflora von verpackten, aufgeschittenen Brühwürsten und Kochwürsten.
Archiv für Lebensmittelhygiene 21 257-264

REUTER, G. (2003):
Mikroflora der Lebensmittel tierischer Herkunft: Fleisch und Fleischerzeugnisse.
in: W. HEESCHEN, H. MEYER und R. ZSCHALER: Handbuch Lebensmittelhygiene, Loseblattausgabe, Grundwerk 1994,
Behr`s Verlag, Hamburg, S. 1-12

RÖDEL, W. (1991):
Messgrößen und transportable Messgeräte für die ineerbetriebliche Qualitätskontrolle.
Fleischwirtschaft 71 1260-1268

RUBIO, B., B. MARTINEZ, M. J. SANCHEZ, M. D. GARCIA-CACHAN, J. ROVIRA u. I. JAIME (2007):
Study of the shelf life of a dry fermented sausage "salchichon" made from raw material enriched in monounslaturated and polyunsaturated fatty acids and stored under modified atmospheres.
Meat Science 76 (1), 128-137

RUSSO, M., G. C. GALLETTI, P. BOCCHINI u. A. CARNACINI (1998):
Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (Origanum vulgare ssp. hirtum (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences.
J. Agric. Food Chem. 46 (9), 3741-3746

SALLAM, K. I., M. ISHLOROSHI u. K. SAMEJIMA (2004):
Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage.
Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology 37 (8), 849-855

SAMELIS, J., A. KAKOURI u. J. REMENTZIS (2000):
Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 degrees C.
Food Microbiology 17 (3), 329-340

SANDHYA (2010):
Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs.
Lwt-Food Science and Technology 43 (3), 381-392

SANTOS, E. M., A. M. DIEZ, C. GONZALEZ-FERNANDEZ, I. JAIME u. J. ROVIRA (2005):
Microbiological and sensory changes in "Morcilla de Burgos" preserved in air, vacuum and modified atmosphere packaging.
Meat Science 71 (2), 249-255

SCHILCHER, H. (1986):
Pharmakologie und Toxikologie ätherischer Öle.
Therapiewoche 36 1100-1112

SHAFRAN, I. (1976):
Nutmeg toxicology.
New England Journal of Medicine 294 (15), 849-849

SHAY, B. J., F. H. GRAU, A. L. FORD, A. F. EGAN u. D. RATCLIFF (1978):
MICROBIOLOGICAL QUALITY AND STORAGE LIFE OF SLICED VACUUM-PACKED SMALLGOODS.
Food Technology in Australia 30 (2), 48-&

SHELEF, L. A. (1984):
Antimicrobial effects of spices.
Journal of Food Safety 6 (1), 29-44

SIELAFF, H. (1996):
Fleischtechnologie.
Benr`s verlag, Hamburg

SIVROPOULOU, A., E. PAPANIKOLAOU, C. NIKOLAOU, S. KOKKINI, T. LANARAS u. M. ARSENAKIS (1996):
Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils.
J. Agric. Food Chem. 44 (5), 1202-1205

SKANDAMIS, P., K. KOUTSOUMANIS, K. FASSEAS u. G. J. E. NYCHAS (2001):
Inhibition of oregano essential oil and EDTA on Escherichia coli O157 : H7.
Italian Journal of Food Science 13 (1), 65-75

SKANDAMIS, P. N. u. G. J. E. NYCHAS (2001):
Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres.
J. Appl. Microbiol. 91 (6), 1011-1022

SKANDAMIS, P. N. u. G. J. E. NYCHAS (2002):
Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions.
International Journal of Food Microbiology 79 (1-2), 35-45

SKOVGAARD, N. (1985):
Brochothrix thermosphacta - comments on its taxonomy, ecology and isolation.
International Journal of Food Microbiology 2 (1-2), 71-79

SMITH-PALMER, A., J. STEWART u. L. FYFE (1998):
Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens.
Lett. Appl. Microbiol. 26 (2), 118-122

SMITH-PALMER, A., J. STEWART u. L. FYFE (2001):
The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese.
Food Microbiology 18 (4), 463-470

SORHEIM, O., J. A. GRINI, H. NISSEN, H. J. ANDERSEN u. P. LEA (1995):
Pork loins stored in carbon dioxide - color and microbial shelf-life.
Fleischwirtschaft 75 (5), 679-681

SORHEIM, O., H. NISSEN u. T. NESBAKKEN (1999):
The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide.
Meat Science 52 (2), 157-164

STANLEY, G., K. J. SHAW u. A. F. EGAN (1981):
Volatile compounds associated with spoilage of vacuum-packaged sliced luncheon meat by *Brochothrix thermosphacta*.
Applied and Environmental Microbiology 41 (3), 816-818

STECCHINI, M. L., I. SARAIS u. P. GIAVEDONI (1993):
Effect of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork J. Food Prot. 56 (5), 406-409

STROTMANN, C. (2006)
Untersuchungen zum Wachstumsverhalten von *Yersinia enterocolitica* DSM 11502 in künstlich kontaminiertem Schweinehackfleisch unter verschiedenen modifizierten Atmosphären.
Hannover, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover,

SUNDHEIM, G., A. SLETTEN u. R. H. DAINTY (1998):
Identification of pseudomonads from fresh and chill-stored chicken carcasses.
International Journal of Food Microbiology 39 (3), 185-194

TASSOU, C. C. u. G. J. E. NYCHAS (1995):
Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus var chia*) on gram positive and gram negative bacteria in broth and in model food system.
International Biodeterioration & Biodegradation 36 (3-4), 411-420

TEUSCHER, E. (2003):
Gewürzdrogen: ein Handbuch der Gewürze, Gewürzkräuter, Gewürzmischungen und ihrer ätherischen Öle.
Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart

THOMPSON, J. D., J. C. CHALCHAT, A. MICHET, Y. B. LINHART u. B. EHLERS (2003):
Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of Thymus vulgaris chemotypes.
Journal of Chemical Ecology 29 (4), 859-880

THOROSKI, J., G. BLANK u. C. BILIADERIS (1989):
Eugenol induced-inhibition of extracellular enzyme-production by *Bacillus subtilis*.
J. Food Prot. 52 (6), 399-403

TING, W. T. E. u. K. E. DEIBEL (1992):
Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to spices at 2 temperatures.
Journal of Food Safety 12 (2), 129-137

TRYFINOPOULOU, P., E. TSAKALIDOU u. G. J. E. NYCHAS (2002):
Characterization of Pseudomonas spp. associated with spoilage of gilt-head sea bream stored under various conditions.
Applied and Environmental Microbiology 68 (1), 65-72

TSIGARIDA, E., P. SKANDAMIS u. G. J. E. NYCHAS (2000):
Behaviour of Listeria monocytogenes and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5 degrees C.
J. Appl. Microbiol. 89 (6), 901-909

TULLIO, V., A. NOSTRO, N. MANDRAS, P. DUGO, G. BANCHE, M. A. CANNATELLI, A. M. CUFFINI, V. ALONZO u. N. A. CARLONE (2007):
Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods.
J Appl Microbiol 102 (6), 1544-1550

ULTEE, A., R. A. SLUMP, G. STEGING u. E. J. SMID (2000):
Antimicrobial activity of carvacrol toward Bacillus cereus on rice.
J. Food Prot. 63 (5), 620-624

VAARA, M. (1992):
Agents that increase the permeability of the outer-membrane.
Microbiological Reviews 56 (3), 395-411

VALVERDE, J. M., F. GUILLEN, D. MARTINEZ-ROMERO, S. CASTILLO, M. SERRANO u. D. VALERO (2005):
Improvement of TAble Grapes Quality and Safety by the Combination of Modified Atmosphere Packaging (MAP) and Eugenol, Menthol or Thymol.
J. Agric. Food Chem. 53 7458-7464

VARDAR-UNLU, G., F. CANDAN, A. SOKMEN, D. DAFERERA, M. POLISSIOU, M. SOKMEN, E. DONMEZ u. B. TEPE (2003):
Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of Thymus pectinatus Fisch et Mey. var. pectinatus (Lamiaceae).
J. Agric. Food Chem. 51 (1), 63-67

VERGES, M. C. C., M. ZUNIGA, F. MOREL-DEVILLE, G. PEREZ-MARTINEZ, M. ZAGOREC u. S. D. EHRLICH (1999):
Relationships between arginine degradation, pH and survival in *Lactobacillus sakei*.
Fems Microbiology Letters 180 (2), 297-304

VERLUYTEN, J., F. LEROY u. L. DE VUYST (2004):
Effects of different spices used in production of fermented sausages on growth of and curvacin a production by Lactobacillus curvatus LTH 1174.
Applied and Environmental Microbiology 70 (8), 4807-4813

VIHAVAINEN, E., H. S. LUNDSTROM, T. SUSILUOTO, J. KOORT, L. PAULIN, P. AUVINEN u. K. J. BJORKROTH (2007):
Role of broiler carcasses and processing plant air in contamination of modified-atmosphere-packaged broiler products with psychrotrophic lactic acid bacteria.
Applied and Environmental Microbiology 73 (4), 1136-1145

VIUDA-MARTOS, M., Y. RUIZ-NAVAJAS, J. FERNANDEZ-LOPEZ u. J. A. PEREZ-ALVAREZ (2010):
Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella.
Meat Sci. 85 (3), 568-576

WALSH, S. E., J. Y. MAILLARD, A. D. RUSSELL, C. E. CATRENICH, D. L. CHARBONNEAU u. R. G. BARTOLO (2003):
Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria.
J Appl Microbiol 94 (2), 240-247

WAN, J., A. WILCOCK u. M. J. COVENTRY (1998):
The effect of essential oils of basil on the growth of Aeromonas hydrophila and Pseudomonas fluorescens.
J Appl Microbiol 84 (2), 152-158

WEBER, H. (2003):
Haltbarkeit und sensorische Qualität von Brühwurst.
Fleischwirtschaft 83 (2), 89-94

WENDAKOON, C. N. u. M. SAKAGUCHI (1993):
Combined effect of sodium-chloride and clove on growth and biogenic-amine formation of *Enterobacter aerogenes* in mackerel muscle extract.
J. Food Prot. 56 (5), 410-413

WILKINSON, B. H. P., J. A. M. JANZ, P. C. H. MOREL, R. W. PURCHAS u. W. H. HENDRIKS (2006):
The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork.
Meat Science 73 (4), 605-610

WIRTH, F. (2007):
Pökeln, Umrötung, Farbhaltung.
in: W. BRANSCHEID, K. OTTO, G. LENGERKEN und T. K.: Qualität von Fleisch und Fleischwaren,
Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main, S.

YIN, M. C. u. W. S. CHENG (2003):
Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef.
Meat Sci. 63 (1), 23-28

ZAIDI, S. H. u. G. B. SINGH (1958):
Experimental peptic ulceration. III. Effect of anticholinergic drugs on histamine-induced ulceration.
Ind. J. Med. Res. 46 732-738

ZAIKA, L. L. (1988):
Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination.
Journal of Food Safety 9 97-118

ZHOU, K., P. FU, P. L. LI, W. P. CHENG u. Z. H. LIANG (2009):
Predictive modeling and validation of growth at different temperature of *Brochothrix thermosphacta*.
Journal of Food Safety 29 (3), 460-473

ZITTERMANN, A. (1994):
Antioxidative und prooxidative Lebensmittelinhaltsstoffe.
Dtsch. Apoth. Ztg 134, 2991,

10 Gesetze und Normen

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren; Bekanntmachungen nach § 64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB), neugefasst durch Bek. vom 26.04.2006

Deutsches Lebensmittelbuch (LmB) (2003):
Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse, in der Fassung der Bekanntmachung vom 23.01.2003

International Organization for Standardization (ISO) (1997): Aromatic natural raw materials -- Vocabulary, ISO 9235

Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch (Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB) vom 24. Juli 2009 (BGBl. I S. 2205), das durch die Verordnung vom 3. August 2009 (BGBl. I S. 2630) geändert worden ist

Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15.11.2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel (ABl. Nr. L 338 vom 22.12.2005 S. 1)

Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen von Lebensmitteln zu technischen Zwecken (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung - ZzulV), zuletzt geändert am 22.02.2006 (BGBl. I S.231)

Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29.04.2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs

11 Anhang

11.1 Medien, Geräte und Verbrauchsmaterialien

Feste Medien

Standard-1-Agar (Merck, 1.07881.0500)

Zusammensetzung (g/l):

Pepton	15,0
Hefeextrakt	3,0
Natriumchlorid	6,0
D-(+)Glucose	1,0
Agar-Agar	12,0

15 min. bei 121 °C autoklavieren pH: 7,5 +/- 0,2 bei 25 °C

SIN-Agar
(Streptomycin-Inosit-Neutralrot-Agar nach HECHELMANN)

Zusammensetzung (g/l):

Blut-Agar Basis (Fa. Merck, 10886)	40,0
Hefeextrakt, granuliert (Fa. Merck, 3753)	2,0
Di-Kaliumhydrogenphosphat (Fa. Merck, 5101)	1,0
Magnesiumsulfat (Fa. Merck, 6067)	0,8
Natriumcarbonat (Fa. Merck, 6398)	0,35
Myo-Inostit (Fa. Merck, 4728)	10,0
Neutralrot 0,3%	0,03
Streptomycinsulfat (Sigma, S-6501)	0,5

15 min. bei 121°C autoklavieren pH: 7,0 bei 25°C

Nach dem Autoklavieren erfolgt die Zugabe von Streptomycinsulfat.

GSP-Agar (Merck, 1.10230.0500)

(Pseudomonaden-Aeromonaden-Selektivagar nach KIELWEIN)

Zusammensetzung (g/l):

Natrium-L(+)-glutamat	10,0
Stärke, löslich	20,0
Kaliumdihydrogenphosphat	2,0
Magnesiumsulfat	0,5
Phenolrot	0,36
Agar-Agar	12,0
Penicillin-G-Natrium	100000 i.E.

15 min. bei 121°C autoklavieren pH: 7,2 bei 25°C

Nach dem Autoklavieren erfolgt die Zugabe von Penicillin-G-Natrium.

MRS-Agar (Roth, X924.1)

(Lactobacillus-Agar nach DE MAN, ROGOSA und SHARPE)

Zusammensetzung (g/l):

Pepton	10,0
Hefeextrakt	4,0
Rindfleischextrakt	8,0
Glucose	20,0
Dikaliumphosphat	2,0
Natriumacetat	5,0
Ammoniumcitrat	2,0
Magnesiumsulfat	0,2
Mangansulfat	0,05
Tween 80	1,0
Agar	10

12 min. bei 121°C autoklavieren pH: 6,2 bei 25°C

Flüssige Medien

Hirn-Herz-Bouillon (Merck, 1.10493.0500)

(Brain-Heart-Broth)

Zusammensetzung (g/l):

Nährsubstrat (Hirn-, Herzextrakt u. Peptone)	27,5
D-(+)-Glucose	2,0
Natriumchlorid	5,0
Dinatriumhydrogenphosphat	2,5

15 min. bei 121°C autoklavieren pH: 7,4 bei 25°C

Nutrient Broth No. 2 (Oxoid, CM 0067)

Zusammensetzung (g/l):

Lab-Lemco Powder	10,0
Peptone	10,0
Sodiumchloride	5,0

15 min. bei 121°C autoklavieren pH: 7,5 bei 25°C

Natriumchlorid (Merck, 1.06400.1000)

15 min. bei 121°C autoklavieren

Pepton aus Casein (Merck, 1.07213.1000)

pankreatisch verdaut, granuliert für Mikrobiologie

Tween 80 (Merck, 8.22187.0500)

Geräte und Verbrauchsmaterialien

Autoklav	Webeco, Bad Schwartau, Deutschland
Brutschrank, 25°C	Memmert, Schwabach, Deutschland
Brutschrank, 30°C, anaerob	
Bunsenbrenner	
Dampftopf Nr. 920909	Fritz Gössner GmbH& Co., Hamburg, Deutschland
Eppendorf Tubes, 2 ml	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Erlenmeyerkolben, 100 ml	Schott Duran GmbH, Wertheim/Main, Deutschland
Finnpipette Focus®, fix, Thermo Electron 1-10 µl	Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland
Finnpipette Focus®, fix, Thermo Electron 10-100 µl	Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland
Finnpipette Focus®, fix, Thermo Electron 30-300 µl	Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland
Finnpipette Focus®, fix, Thermo Electron 100-1000 µl	Thermo Fisher Scientific Inc., Schwerte, Deutschland
Gefriertruhe, -80°C, Typ 6385	GFL-Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland
Glaskolben, 500 ml	Schott Duran GmbH, Wertheim/Main, Deutschland
Kühlschrank	Liebherr, Ochsenhausen, Deutschland

Magnetrührer	C. Gerhardt GmbH & Co. KG, Königswinter, Deutschland
Microbank®, 22 V 160 MO	Viva Diagnostika, Diagnostische Produkte GmbH, Köln, Deutschland
Oberschalenwaage, Typ MC 1	Sartorius AG, Göttingen, Hannover
Petrischalen, 90Ø ohne Nocken	Ronnenberger Laborbedarf, Ronnenberg, 10-00218Deutschland
pH-Meter, Nr. 38900138	WTW GmbH, Weilheim, Deutschland
Pipettenspitzen 10 µl	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
Pipettenspitzen 200 µl	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
Pipettenspitzen 1000 µl	Brand GmbH & Co KG, Wertheim, Deutschland
QPCR-Seals, Nr. AB1170	ABgene, Hamburg, Deutschland
Reagenzgläser	Schott Duran GmbH, Wertheim/Main, Deutschland
Rotabilo® Zentrifugenröhrchen 15 ml, farblos, steril Nr.461.1	Carl Roth GmbH& Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Rondoflame Fireboy eco	TecNoMara
Sterilisator	Memmert, Schwabach, Deutschland
Stomacher	
Stomacherbeutel	
TC-Platten, 96 Well, für Suspensionszellen Nr. 83.1835.500	Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland
Wasserbad	Memmert, Schwabach, Deutschland

11.2 Tabellenanhang

Tabelle 10: Ergebnisse der mikrobiologischen Vorversuche für *Pseudomonas fragi*

Öl	Behandlung	Charge	*Ps. fragi* lg KbE/ml
Ausgangskeimzahl		1	6,98
Ausgangskeimzahl		2	7,10
Ausgangskeimzahl		3	6,94
Ausgangskeimzahl		4	6,85
Ausgangskeimzahl		5	7,09
Ausgangskeimzahl		6	7,15
Nelke	Positivkontrolle	1	9,58
Nelke	Positivkontrolle	2	9,85
Nelke	Positivkontrolle	3	10,13
Nelke	Positivkontrolle	4	8,82
Nelke	Positivkontrolle	5	8,74
Nelke	Positivkontrolle	6	8,86
Nelke	Kontrolle Tween	1	8,16
Nelke	Kontrolle Tween	2	8,17
Nelke	Kontrolle Tween	3	9,10
Nelke	Kontrolle Tween	4	7,12
Nelke	Kontrolle Tween	5	8,82
Nelke	Kontrolle Tween	6	9,11
Nelke	0,125%	1	9,14
Nelke	0,125%	2	8,83
Nelke	0,125%	3	9,13
Nelke	0,125%	4	8,99
Nelke	0,125%	5	8,84
Nelke	0,125%	6	8,57
Nelke	0,250%	1	8,07
Nelke	0,250%	2	8,11
Nelke	0,250%	3	8,76
Nelke	0,250%	4	8,62
Nelke	0,250%	5	8,77
Nelke	0,250%	6	8,24
Nelke	0,500%	1	2,00
Nelke	0,500%	2	2,00
Nelke	0,500%	3	2,00
Nelke	0,500%	4	2,00
Nelke	0,500%	5	2,00
Nelke	0,500%	6	2,00
Nelke	0,750%	1	2,00
Nelke	0,750%	2	2,00
Nelke	0,750%	3	2,00
Nelke	0,750%	4	2,00
Nelke	0,750%	5	2,00
Nelke	0,750%	6	2,00
Nelke	1,000%	1	2,00
Nelke	1,000%	2	2,00

Öl	Behandlung	Charge	*Ps. fragi* lg KbE/ml
Nelke	1,000%	3	2,00
Nelke	1,000%	4	2,00
Nelke	1,000%	5	2,00
Nelke	1,000%	6	2,00
Muskat	Positivkontrolle	1	9,23
Muskat	Positivkontrolle	2	10,07
Muskat	Positivkontrolle	3	9,09
Muskat	Positivkontrolle	4	9,70
Muskat	Positivkontrolle	5	9,75
Muskat	Positivkontrolle	6	9,79
Muskat	Kontrolle Tween	1	9,87
Muskat	Kontrolle Tween	2	9,22
Muskat	Kontrolle Tween	3	8,85
Muskat	Kontrolle Tween	4	8,74
Muskat	Kontrolle Tween	5	9,04
Muskat	Kontrolle Tween	6	8,98
Muskat	0,125%	1	8,24
Muskat	0,125%	2	8,39
Muskat	0,125%	3	8,55
Muskat	0,125%	4	8,88
Muskat	0,125%	5	8,86
Muskat	0,125%	6	8,36
Muskat	0,250%	1	8,23
Muskat	0,250%	2	8,10
Muskat	0,250%	3	8,01
Muskat	0,250%	4	8,03
Muskat	0,250%	5	7,96
Muskat	0,250%	6	8,07
Muskat	0,500%	1	7,99
Muskat	0,500%	2	7,86
Muskat	0,500%	3	8,06
Muskat	0,500%	4	8,00
Muskat	0,500%	5	8,05
Muskat	0,500%	6	8,08
Muskat	0,750%	1	7,67
Muskat	0,750%	2	7,98
Muskat	0,750%	3	7,78
Muskat	0,750%	4	7,74
Muskat	0,750%	5	7,73
Muskat	0,750%	6	7,78
Muskat	1,000%	1	7,63
Muskat	1,000%	2	7,48
Muskat	1,000%	3	7,54
Muskat	1,000%	4	7,88
Muskat	1,000%	5	7,44
Muskat	1,000%	6	7,68
Kombi	Positivkontrolle	1	9,15
Kombi	Positivkontrolle	2	9,15

Öl	Behandlung	Charge	*Ps. fragi* lg KbE/ml
Kombi	Positivkontrolle	3	9,11
Kombi	Positivkontrolle	4	9,24
Kombi	Positivkontrolle	5	9,11
Kombi	Positivkontrolle	6	9,05
Kombi	Kontrolle Tween	1	8,46
Kombi	Kontrolle Tween	2	8,49
Kombi	Kontrolle Tween	3	8,58
Kombi	Kontrolle Tween	4	8,80
Kombi	Kontrolle Tween	5	8,49
Kombi	Kontrolle Tween	6	8,60
Kombi	0,125%	1	7,76
Kombi	0,125%	2	7,87
Kombi	0,125%	3	7,93
Kombi	0,125%	4	7,69
Kombi	0,125%	5	7,75
Kombi	0,125%	6	7,76
Kombi	0,250%	1	2,00
Kombi	0,250%	2	2,00
Kombi	0,250%	3	2,00
Kombi	0,250%	4	6,74
Kombi	0,250%	5	6,76
Kombi	0,250%	6	6,78
Kombi	0,500%	1	2,00
Kombi	0,500%	2	2,00
Kombi	0,500%	3	2,00
Kombi	0,500%	4	2,00
Kombi	0,500%	5	2,00
Kombi	0,500%	6	2,00
Kombi	0,750%	1	2,00
Kombi	0,750%	2	2,00
Kombi	0,750%	3	2,00
Kombi	0,750%	4	2,00
Kombi	0,750%	5	2,00
Kombi	0,750%	6	2,00
Kombi	1,000%	1	2,00
Kombi	1,000%	2	2,00
Kombi	1,000%	3	2,00
Kombi	1,000%	4	2,00
Kombi	1,000%	5	2,00
Kombi	1,000%	6	2,00

Tabelle 11: Ergebnisse der mikrobiologischen Vorversuche für *Lactobacillus sakei*

Öl	Behandlung	Charge	*Lc. sakei* lg KbE/ml
Ausgangskeimzahl		1	6,72
Ausgangskeimzahl		2	6,81
Ausgangskeimzahl		3	6,87
Ausgangskeimzahl		4	6,94
Ausgangskeimzahl		5	6,51
Ausgangskeimzahl		6	6,58
Nelke	Positivkontrolle	1	7,24
Nelke	Positivkontrolle	2	7,11
Nelke	Positivkontrolle	3	7,51
Nelke	Positivkontrolle	4	7,28
Nelke	Positivkontrolle	5	7,22
Nelke	Positivkontrolle	6	7,44
Nelke	Kontrolle Tween	1	7,42
Nelke	Kontrolle Tween	2	7,44
Nelke	Kontrolle Tween	3	7,30
Nelke	Kontrolle Tween	4	7,43
Nelke	Kontrolle Tween	5	7,28
Nelke	Kontrolle Tween	6	7,40
Nelke	0,125%	1	7,36
Nelke	0,125%	2	7,71
Nelke	0,125%	3	7,31
Nelke	0,125%	4	7,58
Nelke	0,125%	5	7,43
Nelke	0,125%	6	7,40
Nelke	0,250%	1	7,14
Nelke	0,250%	2	7,26
Nelke	0,250%	3	7,24
Nelke	0,250%	4	7,26
Nelke	0,250%	5	7,27
Nelke	0,250%	6	7,19
Nelke	0,500%	1	4,83
Nelke	0,500%	2	4,91
Nelke	0,500%	3	4,85
Nelke	0,500%	4	4,95
Nelke	0,500%	5	5,04
Nelke	0,500%	6	4,98
Nelke	0,750%	1	4,94
Nelke	0,750%	2	4,72
Nelke	0,750%	3	4,95
Nelke	0,750%	4	4,83
Nelke	0,750%	5	5,00
Nelke	0,750%	6	4,87
Nelke	1,000%	1	2,00
Nelke	1,000%	2	2,00
Nelke	1,000%	3	2,00
Nelke	1,000%	4	2,00

Öl	Behandlung	Charge	*Lc. sakei* lg KbE/ml
Nelke	1,000%	5	2,00
Nelke	1,000%	6	2,00
Muskat	Positivkontrolle	1	7,82
Muskat	Positivkontrolle	2	7,78
Muskat	Positivkontrolle	3	7,66
Muskat	Positivkontrolle	4	7,50
Muskat	Positivkontrolle	5	7,31
Muskat	Positivkontrolle	6	7,35
Muskat	Kontrolle Tween	1	7,75
Muskat	Kontrolle Tween	2	7,72
Muskat	Kontrolle Tween	3	7,76
Muskat	Kontrolle Tween	4	7,67
Muskat	Kontrolle Tween	5	7,66
Muskat	Kontrolle Tween	6	7,61
Muskat	0,125%	1	6,64
Muskat	0,125%	2	6,64
Muskat	0,125%	3	6,66
Muskat	0,125%	4	6,72
Muskat	0,125%	5	6,26
Muskat	0,125%	6	7,38
Muskat	0,250%	1	6,00
Muskat	0,250%	2	6,03
Muskat	0,250%	3	6,08
Muskat	0,250%	4	5,83
Muskat	0,250%	5	6,87
Muskat	0,250%	6	6,04
Muskat	0,500%	1	5,88
Muskat	0,500%	2	5,87
Muskat	0,500%	3	5,85
Muskat	0,500%	4	5,80
Muskat	0,500%	5	5,65
Muskat	0,500%	6	6,11
Muskat	0,750%	1	5,20
Muskat	0,750%	2	5,19
Muskat	0,750%	3	5,25
Muskat	0,750%	4	5,18
Muskat	0,750%	5	5,21
Muskat	0,750%	6	5,22
Muskat	1,000%	1	4,95
Muskat	1,000%	2	4,76
Muskat	1,000%	3	5,01
Muskat	1,000%	4	5,17
Muskat	1,000%	5	5,16
Muskat	1,000%	6	5,13
Kombi	Positivkontrolle	1	7,25
Kombi	Positivkontrolle	2	7,18
Kombi	Positivkontrolle	3	7,22
Kombi	Positivkontrolle	4	7,47

Öl	Behandlung	Charge	*Lc. sakei* lg KbE/ml
Kombi	Positivkontrolle	5	7,12
Kombi	Positivkontrolle	6	7,34
Kombi	Kontrolle Tween	1	7,26
Kombi	Kontrolle Tween	2	7,32
Kombi	Kontrolle Tween	3	7,32
Kombi	Kontrolle Tween	4	7,32
Kombi	Kontrolle Tween	5	7,16
Kombi	Kontrolle Tween	6	7,33
Kombi	0,125%	1	5,81
Kombi	0,125%	2	5,63
Kombi	0,125%	3	5,74
Kombi	0,125%	4	5,74
Kombi	0,125%	5	5,81
Kombi	0,125%	6	5,99
Kombi	0,250%	1	4,10
Kombi	0,250%	2	3,66
Kombi	0,250%	3	3,65
Kombi	0,250%	4	3,78
Kombi	0,250%	5	3,80
Kombi	0,250%	6	3,80
Kombi	0,500%	1	2,00
Kombi	0,500%	2	2,00
Kombi	0,500%	3	2,00
Kombi	0,500%	4	2,00
Kombi	0,500%	5	2,00
Kombi	0,500%	6	2,00
Kombi	0,750%	1	2,00
Kombi	0,750%	2	2,00
Kombi	0,750%	3	2,00
Kombi	0,750%	4	2,00
Kombi	0,750%	5	2,00
Kombi	0,750%	6	2,00
Kombi	1,000%	1	2,00
Kombi	1,000%	2	2,00
Kombi	1,000%	3	2,00
Kombi	1,000%	4	2,00
Kombi	1,000%	5	2,00
Kombi	1,000%	6	2,00

Tabelle 12: Ergebnisse der mikrobiologischen Vorversuche für *Brochothrix thermopshacta*

Öl	Behandlung	Charge	*Br. thermosphacta* lg KbE/ml
Ausgangskeimzahl		1	8,06
Ausgangskeimzahl		2	8,02
Ausgangskeimzahl		3	8,09
Ausgangskeimzahl		4	8,09
Ausgangskeimzahl		5	8,06
Ausgangskeimzahl		6	8,00
Nelke	Positivkontrolle	1	9,26
Nelke	Positivkontrolle	2	8,91
Nelke	Positivkontrolle	3	8,77
Nelke	Positivkontrolle	4	8,79
Nelke	Positivkontrolle	5	8,86
Nelke	Positivkontrolle	6	10,77
Nelke	Kontrolle Tween	1	8,80
Nelke	Kontrolle Tween	2	8,86
Nelke	Kontrolle Tween	3	8,21
Nelke	Kontrolle Tween	4	8,95
Nelke	Kontrolle Tween	5	8,99
Nelke	Kontrolle Tween	6	8,97
Nelke	0,125%	1	8,90
Nelke	0,125%	2	8,70
Nelke	0,125%	3	8,76
Nelke	0,125%	4	8,81
Nelke	0,125%	5	8,85
Nelke	0,125%	6	8,84
Nelke	0,250%	1	8,65
Nelke	0,250%	2	8,45
Nelke	0,250%	3	8,71
Nelke	0,250%	4	8,78
Nelke	0,250%	5	8,55
Nelke	0,250%	6	8,67
Nelke	0,500%	1	3,24
Nelke	0,500%	2	2,74
Nelke	0,500%	3	2,30
Nelke	0,500%	4	2,30
Nelke	0,500%	5	2,30
Nelke	0,500%	6	2,78
Nelke	0,750%	1	2,00
Nelke	0,750%	2	2,00
Nelke	0,750%	3	2,00
Nelke	0,750%	4	2,00
Nelke	0,750%	5	2,00
Nelke	0,750%	6	2,00
Nelke	1,000%	1	2,00
Nelke	1,000%	2	2,00
Nelke	1,000%	3	2,00

Öl	Behandlung	Charge	*Br. thermosphacta* lg KbE/ml
Nelke	1,000%	4	2,00
Nelke	1,000%	5	2,00
Nelke	1,000%	6	2,00
Muskat	Positivkontrolle	1	8,93
Muskat	Positivkontrolle	2	8,66
Muskat	Positivkontrolle	3	8,85
Muskat	Positivkontrolle	4	8,77
Muskat	Positivkontrolle	5	8,96
Muskat	Positivkontrolle	6	8,65
Muskat	Kontrolle Tween	1	8,92
Muskat	Kontrolle Tween	2	8,99
Muskat	Kontrolle Tween	3	8,74
Muskat	Kontrolle Tween	4	8,95
Muskat	Kontrolle Tween	5	8,88
Muskat	Kontrolle Tween	6	8,08
Muskat	0,125%	1	8,82
Muskat	0,125%	2	8,81
Muskat	0,125%	3	8,91
Muskat	0,125%	4	8,77
Muskat	0,125%	5	8,78
Muskat	0,125%	6	8,84
Muskat	0,250%	1	8,49
Muskat	0,250%	2	8,67
Muskat	0,250%	3	8,63
Muskat	0,250%	4	8,59
Muskat	0,250%	5	8,39
Muskat	0,250%	6	8,61
Muskat	0,500%	1	7,83
Muskat	0,500%	2	7,86
Muskat	0,500%	3	7,95
Muskat	0,500%	4	7,90
Muskat	0,500%	5	7,67
Muskat	0,500%	6	7,32
Muskat	0,750%	1	7,42
Muskat	0,750%	2	7,45
Muskat	0,750%	3	6,21
Muskat	0,750%	4	6,96
Muskat	0,750%	5	6,99
Muskat	0,750%	6	7,36
Muskat	1,000%	1	6,57
Muskat	1,000%	2	6,85
Muskat	1,000%	3	6,71
Muskat	1,000%	4	5,15
Muskat	1,000%	5	5,06
Muskat	1,000%	6	5,41
Kombi	Positivkontrolle	1	8,62
Kombi	Positivkontrolle	2	8,58

Öl	Behandlung	Charge	*Br. thermosphacta* lg KbE/ml
Kombi	Positivkontrolle	3	8,60
Kombi	Positivkontrolle	4	8,77
Kombi	Positivkontrolle	5	8,80
Kombi	Positivkontrolle	6	8,87
Kombi	Kontrolle Tween	1	8,55
Kombi	Kontrolle Tween	2	8,70
Kombi	Kontrolle Tween	3	8,56
Kombi	Kontrolle Tween	4	8,75
Kombi	Kontrolle Tween	5	8,76
Kombi	Kontrolle Tween	6	8,87
Kombi	0,125%	1	7,42
Kombi	0,125%	2	6,82
Kombi	0,125%	3	7,28
Kombi	0,125%	4	6,86
Kombi	0,125%	5	7,02
Kombi	0,125%	6	6,82
Kombi	0,250%	1	6,28
Kombi	0,250%	2	6,16
Kombi	0,250%	3	6,32
Kombi	0,250%	4	2,30
Kombi	0,250%	5	2,00
Kombi	0,250%	6	2,00
Kombi	0,500%	1	2,00
Kombi	0,500%	2	2,00
Kombi	0,500%	3	2,00
Kombi	0,500%	4	2,00
Kombi	0,500%	5	2,00
Kombi	0,500%	6	2,00
Kombi	0,750%	1	2,00
Kombi	0,750%	2	2,00
Kombi	0,750%	3	2,00
Kombi	0,750%	4	2,00
Kombi	0,750%	5	2,00
Kombi	0,750%	6	2,00
Kombi	1,000%	1	2,00
Kombi	1,000%	2	2,00
Kombi	1,000%	3	2,00
Kombi	1,000%	4	2,00
Kombi	1,000%	5	2,00
Kombi	1,000%	6	2,00

Tabelle 13: Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche aus Charge 1

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
0		Referenz	1,3	1,7	1,7	1,7
0		Referenz	1,8	1,7	1,7	1,7
0		Referenz	1,0	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	2,0	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	1,8	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	1,2	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,4	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,2	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,0	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	2,5	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,0	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	2,0	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
5		Referenz	2,3	1,7	1,7	1,7
5	0,25%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
5	0,50%	Nelke	2,0	1,7	1,7	1,7
5	0,75%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
5	0,25%	Muskat	2,1	1,7	1,7	1,7
5	0,50%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
5	0,75%	Muskat	1,9	1,7	1,7	1,7
5	0,25%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
5	0,50%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
5	0,75%	Kombi	1,8	1,7	1,7	1,7
7		Referenz	4,5	2,4	3,7	3,7
7		Referenz	1,6	1,7	1,7	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
7		Referenz	2,1	1,7	3,5	3,5
7	0,25%	Nelke	1,1	1,7	1,7	3,2
7	0,25%	Nelke	1,9	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	1,6	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	1,2	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	1,4	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	0,7	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,0	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	2,6	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Muskat	3,7	3,1	3,1	1,7
7	0,75%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	3,0	1,7	1,7	2,3
7	0,25%	Kombi	6,0	3,9	3,6	2,3
7	0,50%	Kombi	1,2	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Kombi	0,7	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Kombi	0,7	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Kombi	2,1	1,7	1,7	1,7
10		Referenz	2,1	1,7	1,7	1,7
10		Referenz	1,5	1,7	1,7	1,7
10		Referenz	2,4	1,7	3,9	1,7
10	0,25%	Nelke	3,0	1,7	2,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,6	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	2,1	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	6,4	1,7	6,4	1,7
10	0,75%	Nelke	1,0	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	1,4	6,4	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	6,3	1,7	6,4	1,7
10	0,25%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	2,1	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	3,3	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	0,7	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
10	0,75%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	3,1	1,7	4,0	1,7
10	0,50%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Kombi	6,4	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Kombi	4,3	1,7	3,9	1,7
10	0,75%	Kombi	2,5	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Kombi	3,1	1,7	3,5	1,7
10	0,75%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
14		Referenz	3,1	1,7	1,7	1,7
14		Referenz	4,9	1,7	1,7	1,7
14		Referenz	1,4	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	2,1	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	7,2	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Nelke	6,3	1,7	6,3	1,7
14	0,50%	Nelke	6,9	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Nelke	6,5	1,7	6,2	1,7
14	0,75%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Nelke	5,0	1,7	6,7	1,7
14	0,75%	Nelke	2,6	2,7	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	4,6	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	6,3	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	0,7	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	5,6	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	3,2	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	5,8	1,7	6,2	1,7
14	0,75%	Muskat	6,8	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	0,7	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	2,0	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	2,5	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Kombi	4,5	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Kombi	6,0	1,7	5,8	1,7
14	0,50%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Kombi	6,4	1,7	4,4	1,7
14	0,75%	Kombi	6,0	1,7	6,8	1,7
14	0,75%	Kombi	1,0	1,7	1,7	1,7

Tabelle 14: Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche aus Charge 2

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
0		Referenz	1,7	1,7	1,7	1,7
0		Referenz	1,4	1,7	1,7	1,7
0		Referenz	1,2	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	1,8	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	1,6	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	2,1	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	1,3	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	2,0	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,0	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	1,4	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	0,7	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,9	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,4	1,7	1,7	1,7
5		Referenz	2,3	2,0	1,7	1,7
5	0,25%	Nelke	1,6	1,7	1,7	1,7
5	0,50%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
5	0,75%	Nelke	2,0	2,5	1,7	1,7
5	0,25%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
5	0,50%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
5	0,75%	Muskat	2,0	1,7	1,7	1,7
5	0,25%	Kombi	2,1	1,7	1,7	1,7
5	0,50%	Kombi	2,0	1,7	3,1	1,7
5	0,75%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
7		Referenz	1,8	1,7	1,7	1,7
7		Referenz	2,0	1,7	1,7	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
7		Referenz	1,9	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Nelke	2,7	3,3	1,7	1,7
7	0,25%	Nelke	1,7	2,0	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	1,9	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	1,6	2,3	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	2,1	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	1,4	2,0	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Muskat	1,4	1,7	3,6	1,7
7	0,75%	Muskat	1,7	2,2	1,7	1,7
7	0,75%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	1,4	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	1,5	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Kombi	2,2	1,7	3,2	1,7
7	0,50%	Kombi	3,1	1,7	4,0	1,7
7	0,50%	Kombi	4,3	2,3	5,0	1,7
7	0,75%	Kombi	3,2	1,7	3,2	1,7
7	0,75%	Kombi	1,8	1,7	2,3	1,7
7	0,75%	Kombi	2,9	1,7	3,2	1,7
10		Referenz	1,8	1,7	1,7	1,7
10		Referenz	1,3	2,5	1,7	1,7
10		Referenz	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,4	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	1,4	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	5,3	4,1	4,3	1,7
10	0,75%	Nelke	1,6	2,0	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	1,3	2,0	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	2,2	2,0	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	1,6	2,0	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	3,5	3,7	1,7	1,7
10	0,75%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
10	0,75%	Muskat	1,4	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	1,9	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	1,3	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Kombi	3,7	1,7	4,3	1,7
10	0,50%	Kombi	5,0	2,0	5,3	1,7
10	0,50%	Kombi	4,2	1,7	4,8	1,7
10	0,75%	Kombi	3,3	1,7	4,3	1,7
10	0,75%	Kombi	4,2	1,7	5,0	1,7
10	0,75%	Kombi	2,6	1,7	4,5	1,7
14		Referenz	1,7	1,7	1,7	1,7
14		Referenz	1,4	1,7	1,7	1,7
14		Referenz	2,7	4,5	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	1,5	2,0	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	1,3	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	4,6	3,9	1,7	1,7
14	0,50%	Nelke	3,0	2,4	1,7	1,7
14	0,50%	Nelke	2,0	1,7	2,0	1,7
14	0,50%	Nelke	1,2	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Nelke	1,5	2,3	1,7	1,7
14	0,75%	Nelke	2,1	1,7	5,0	1,7
14	0,75%	Nelke	1,2	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	0,7	1,7	2,0	1,7
14	0,25%	Muskat	1,1	1,7	2,0	1,7
14	0,25%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	3,6	1,7	4,2	1,7
14	0,50%	Muskat	1,4	2,0	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	1,0	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	1,5	2,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	0,7	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	1,3	1,7	2,0	1,7
14	0,25%	Kombi	2,1	2,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	1,6	1,7	2,0	1,7
14	0,50%	Kombi	3,2	5,0	5,8	1,7
14	0,50%	Kombi	3,5	2,8	5,9	1,7
14	0,50%	Kombi	3,8	2,0	6,0	3,4
14	0,75%	Kombi	4,6	1,7	5,4	1,7
14	0,75%	Kombi	4,1	1,7	5,6	1,7
14	0,75%	Kombi	4,2	1,7	5,3	1,7
21		Referenz	4,2	1,7	1,7	1,7
21		Referenz	6,3	3,9	1,7	1,7
21	0,25%	Nelke	3,8	2,0	1,7	1,7
21	0,25%	Nelke	1,6	2,9	1,7	1,7
21	0,50%	Nelke	3,9	2,0	1,7	1,7
21	0,50%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
21	0,75%	Nelke	6,6	4,2	2,9	1,7
21	0,75%	Nelke	1,5	3,6	2,0	1,7
21	0,25%	Muskat	4,4	1,7	4,7	1,7
21	0,25%	Muskat	3,6	1,7	1,7	1,7
21	0,50%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
21	0,50%	Muskat	1,3	1,7	1,7	1,7
21	0,75%	Muskat	6,2	4,9	1,7	1,7
21	0,75%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
21	0,25%	Kombi	6,3	1,7	1,7	1,7
21	0,25%	Kombi	2,9	1,7	3,1	1,7
21	0,50%	Kombi	6,2	1,7	4,8	1,7
21	0,50%	Kombi	5,0	1,7	4,4	1,7
21	0,75%	Kombi	4,1	1,7	4,7	1,7
21	0,75%	Kombi	1,3	1,7	4,3	1,7

Tabelle 15: Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche aus Charge 3

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
0		Referenz	1,4	1,7	1,7	1,7
0		Referenz	1,6	1,7	1,7	1,7
0		Referenz	1,8	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	1,6	1,7	1,7	1,7
2		Referenz	2,1	2,0	1,7	1,7
2		Referenz	2,0	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	2,1	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Nelke	1,5	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Nelke	2,0	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	2,3	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	1,9	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	2,2	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Muskat	2,1	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	1,9	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	2,0	2,0	1,7	1,7
2	0,50%	Muskat	2,1	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	2,1	2,0	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	2,0	3,8	1,7	1,7
2	0,75%	Muskat	1,1	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	1,9	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	2,4	1,7	1,7	1,7
2	0,25%	Kombi	2,2	3,5	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,50%	Kombi	2,0	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	2,0	2,3	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,8	1,7	1,7	1,7
2	0,75%	Kombi	1,7	1,7	1,7	1,7
7		Referenz	2,3	2,5	2,0	1,7
7		Referenz	2,1	2,3	1,7	1,7
7		Referenz	2,2	1,7	2,0	1,7
7	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Nelke	2,0	2,3	1,7	1,7
7	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	2,6	2,3	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	2,1	2,0	1,7	1,7
7	0,50%	Nelke	2,3	2,5	2,0	1,7
7	0,75%	Nelke	2,1	2,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Nelke	2,2	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
7	0,25%	Muskat	1,9	1,7	1,7	1,7
7	0,25%	Muskat	3,1	2,3	3,2	1,7
7	0,50%	Muskat	1,6	2,3	1,7	1,7
7	0,50%	Muskat	3,7	1,7	2,3	1,7
7	0,50%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Muskat	1,8	1,7	2,0	1,7
7	0,75%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
7	0,75%	Muskat	1,9	3,0	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	3,7	3,0	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	1,8	3,8	1,7	1,7
7	0,25%	Kombi	2,1	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Kombi	1,9	1,7	1,7	1,7
7	0,50%	Kombi	2,2	2,0	2,0	1,7
7	0,50%	Kombi	1,8	2,0	1,7	1,7
7	0,75%	Kombi	2,0	2,2	1,7	1,7
7	0,75%	Kombi	2,2	2,0	2,3	1,7
7	0,75%	Kombi	2,2	2,3	2,7	1,7
10		Referenz	1,5	2,0	1,7	1,7
10		Referenz	2,7	2,7	1,7	1,7
10		Referenz	1,4	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Nelke	1,7	2,0	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	2,0	3,1	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	2,1	4,3	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	3,8	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Nelke	4,0	3,9	3,1	1,7
10	0,25%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	2,5	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Muskat	2,0	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	2,0	1,7	2,2	1,7
10	0,50%	Muskat	4,1	4,4	1,7	1,7
10	0,50%	Muskat	3,7	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Muskat	1,6	3,6	1,7	1,7
10	0,75%	Muskat	1,9	5,4	1,7	4,2
10	0,75%	Muskat	1,7	5,4	2,9	1,7
10	0,25%	Kombi	1,9	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	1,8	1,7	1,7	1,7
10	0,25%	Kombi	2,3	2,2	2,6	1,7
10	0,50%	Kombi	2,2	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Kombi	1,5	1,7	1,7	1,7
10	0,50%	Kombi	1,6	1,7	1,7	1,7
10	0,75%	Kombi	2,9	3,4	3,1	1,7
10	0,75%	Kombi	1,9	2,3	1,7	1,7
10	0,75%	Kombi	3,0	1,7	3,5	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
14		Referenz	5,2	1,7	4,9	1,7
14		Referenz	5,8	1,7	5,1	1,7
14		Referenz	5,3	1,7	4,7	1,7
14	0,25%	Nelke	2,4	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	1,9	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Nelke	5,9	5,8	4,0	1,7
14	0,50%	Nelke	2,1	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Nelke	1,7	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Nelke	4,3	4,0	2,0	1,7
14	0,75%	Nelke	4,5	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Nelke	5,3	4,2	1,7	1,7
14	0,75%	Nelke	2,5	2,0	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Muskat	1,7	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	1,5	1,7	1,7	1,7
14	0,50%	Muskat	2,1	5,9	4,9	1,7
14	0,50%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	1,9	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	1,8	1,7	1,7	1,7
14	0,75%	Muskat	1,6	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	1,9	1,7	1,7	1,7
14	0,25%	Kombi	1,9	1,7	2,0	1,7
14	0,25%	Kombi	4,0	2,4		1,7
14	0,50%	Kombi	5,0	3,2	4,3	1,7
14	0,50%	Kombi	5,2	1,7	5,4	1,7
14	0,50%	Kombi	5,1	1,7	4,1	1,7
14	0,75%	Kombi	5,1	3,1	1,7	1,7
14	0,75%	Kombi	5,3	1,7	5,0	1,7
14	0,75%	Kombi	4,0	3,2	3,9	1,7
21		Referenz	6,5	1,7	4,5	1,7
21		Referenz	6,7	5,2	5,4	1,7
21		Referenz	7,1	1,7	5,3	1,7
21	0,25%	Nelke	6,1	5,8	2,3	1,7
21	0,25%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
21	0,25%	Nelke	4,4	1,7	4,2	1,7
21	0,50%	Nelke	6,8	1,7	1,7	1,7
21	0,50%	Nelke	6,8	5,8	2,3	6,0
21	0,50%	Nelke	2,6	5,4	1,7	1,7
21	0,75%	Nelke	6,6	6,0	5,2	1,7
21	0,75%	Nelke	6,8	1,7	5,3	1,7
21	0,75%	Nelke	1,8	1,7	1,7	1,7
21	0,25%	Muskat	4,7	2,6	4,4	1,7
21	0,25%	Muskat	5,6	4,2	2,3	1,7
21	0,25%	Muskat	6,7	2,8	5,3	5,8
21	0,50%	Muskat	2,2	1,7	3,1	1,7
21	0,50%	Muskat	7,3	6,0	5,0	1,7

Tag	Behandlung	Öl	GKZ lg KbE/g	*Br. thermosphacta* lg KbE/g	*Lc. sakei* lg KbE/g	*Ps. fragi* lg KbE/g
21	0,50%	Muskat	5,9	3,7	1,7	1,7
21	0,75%	Muskat	5,1	3,9	1,7	1,7
21	0,75%	Muskat	2,9	3,2	1,7	1,7
21	0,75%	Muskat	2,3	1,7	3,4	1,7
21	0,25%	Kombi	4,6	5,3	5,1	1,7
21	0,25%	Kombi	6,0	5,5	5,3	1,7
21	0,25%	Kombi	2,5	1,7	1,7	1,7
21	0,50%	Kombi	6,1	3,6	5,0	1,7
21	0,50%	Kombi	7,4	5,3	4,4	5,5
21	0,50%	Kombi	7,1	3,2	5,9	1,7
21	0,75%	Kombi	6,7	3,6	4,2	5,8
21	0,75%	Kombi	6,7	1,7	5,7	1,7
21	0,75%	Kombi	6,7	1,7	5,7	1,7

Tabelle 16: Ergebnisse der pH Werte als MW (n=3), alle Versuchschargen

Charge	Öl	Behandlung	Tag	pH MW
1	Referenz		0	6,24
1	Referenz		2	6,23
1	Nelke	0,25%	2	6,45
1	Nelke	0,50%	2	6,45
1	Nelke	0,75%	2	6,45
1	Muskat	0,25%	2	6,53
1	Muskat	0,50%	2	6,5
1	Muskat	0,75%	2	6,43
1	Kombi	0,25%	2	6,41
1	Kombi	0,50%	2	6,19
1	Kombi	0,75%	2	6,18
1	Referenz		7	6,17
1	Nelke	0,25%	7	6,19
1	Nelke	0,50%	7	6,19
1	Nelke	0,75%	7	6,10
1	Muskat	0,25%	7	6,10
1	Muskat	0,50%	7	6,19
1	Muskat	0,75%	7	6,31
1	Kombi	0,25%	7	6,30
1	Kombi	0,50%	7	6,28
1	Kombi	0,75%	7	6,37
1	Referenz		10	6,17
1	Nelke	0,25%	10	6,30
1	Nelke	0,50%	10	6,16
1	Nelke	0,75%	10	6,21
1	Muskat	0,25%	10	6,30
1	Muskat	0,50%	10	6,24
1	Muskat	0,75%	10	6,16
1	Kombi	0,25%	10	6,26
1	Kombi	0,50%	10	6,23
1	Kombi	0,75%	10	6,15
1	Referenz		14	6,26
1	Nelke	0,25%	14	6,31
1	Nelke	0,50%	14	6,29
1	Nelke	0,75%	14	6,15
1	Muskat	0,25%	14	6,32
1	Muskat	0,50%	14	6,30
1	Muskat	0,75%	14	6,25
1	Kombi	0,25%	14	6,27
1	Kombi	0,50%	14	6,21
1	Kombi	0,75%	14	6,21
2	Referenz		0	6,30
2	Referenz		2	6,30
2	Nelke	0,25%	2	6,30
2	Nelke	0,50%	2	6,30
2	Nelke	0,75%	2	6,30

Charge	Öl	Behandlung	Tag	pH MW
2	Muskat	0,25%	2	6,30
2	Muskat	0,50%	2	6,29
2	Muskat	0,75%	2	6,28
2	Kombi	0,25%	2	6,27
2	Kombi	0,50%	2	6,30
2	Kombi	0,75%	2	6,27
2	Referenz		7	6,25
2	Nelke	0,25%	7	6,31
2	Nelke	0,50%	7	6,28
2	Nelke	0,75%	7	6,27
2	Muskat	0,25%	7	6,25
2	Muskat	0,50%	7	6,27
2	Muskat	0,75%	7	6,37
2	Kombi	0,25%	7	6,30
2	Kombi	0,50%	7	6,31
2	Kombi	0,75%	7	6,29
2	Referenz		10	6,27
2	Nelke	0,25%	10	6,32
2	Nelke	0,50%	10	6,28
2	Nelke	0,75%	10	6,28
2	Muskat	0,25%	10	6,28
2	Muskat	0,50%	10	6,32
2	Muskat	0,75%	10	6,27
2	Kombi	0,25%	10	6,26
2	Kombi	0,50%	10	6,28
2	Kombi	0,75%	10	6,26
2	Referenz		14	6,27
2	Nelke	0,25%	14	6,31
2	Nelke	0,50%	14	6,29
2	Nelke	0,75%	14	6,15
2	Muskat	0,25%	14	6,32
2	Muskat	0,50%	14	6,30
2	Muskat	0,75%	14	6,25
2	Kombi	0,25%	14	6,27
2	Kombi	0,50%	14	6,21
2	Kombi	0,75%	14	6,21
2	Referenz		21	6,11
2	Nelke	0,25%	21	6,11
2	Nelke	0,50%	21	6,17
2	Nelke	0,75%	21	6,25
2	Muskat	0,25%	21	6,18
2	Muskat	0,50%	21	6,16
2	Muskat	0,75%	21	6,34
2	Kombi	0,25%	21	6,23
2	Kombi	0,50%	21	6,17
2	Kombi	0,75%	21	6,42
3	Referenz		0	6,37
3	Referenz		2	6,27

Charge	Öl	Behandlung	Tag	pH MW
3	Nelke	0,25%	2	6,26
3	Nelke	0,50%	2	6,23
3	Nelke	0,75%	2	6,23
3	Muskat	0,25%	2	6,30
3	Muskat	0,50%	2	6,29
3	Muskat	0,75%	2	6,27
3	Kombi	0,25%	2	6,25
3	Kombi	0,50%	2	6,26
3	Kombi	0,75%	2	6,29
3	Referenz		7	6,31
3	Nelke	0,25%	7	6,30
3	Nelke	0,50%	7	6,25
3	Nelke	0,75%	7	6,25
3	Muskat	0,25%	7	6,36
3	Muskat	0,50%	7	6,32
3	Muskat	0,75%	7	6,31
3	Kombi	0,25%	7	6,35
3	Kombi	0,50%	7	6,33
3	Kombi	0,75%	7	6,35
3	Referenz		10	6,30
3	Nelke	0,25%	10	6,30
3	Nelke	0,50%	10	6,36
3	Nelke	0,75%	10	6,33
3	Muskat	0,25%	10	6,31
3	Muskat	0,50%	10	6,29
3	Muskat	0,75%	10	6,35
3	Kombi	0,25%	10	6,27
3	Kombi	0,50%	10	6,28
3	Kombi	0,75%	10	6,28
3	Referenz		14	6,27
3	Nelke	0,25%	14	6,29
3	Nelke	0,50%	14	6,24
3	Nelke	0,75%	14	6,28
3	Muskat	0,25%	14	6,25
3	Muskat	0,50%	14	6,30
3	Muskat	0,75%	14	6,26
3	Kombi	0,25%	14	6,28
3	Kombi	0,50%	14	6,23
3	Kombi	0,75%	14	6,25
3	Referenz		21	6,29
3	Nelke	0,25%	21	6,33
3	Nelke	0,50%	21	6,38
3	Nelke	0,75%	21	6,35
3	Muskat	0,25%	21	6,32
3	Muskat	0,50%	21	6,33
3	Muskat	0,75%	21	6,32
3	Kombi	0,25%	21	6,31
3	Kombi	0,50%	21	6,34

Charge	Öl	Behandlung	Tag	pH MW
3	Kombi	0,75%	21	6,28

Tabelle 17: Ergebnisse des a_W-Wertes der Brühwurst als Mittelwerte (n=3), alle Versuchschargen

Charge	Öl	Behandlung	Tag	aW-Wert MW
1	Referenz		0	0,974
1	Referenz		0	0,974
1	Referenz		9	0,9716
1	Nelke	0,25%	9	0,9725
1	Nelke	0,50%	9	0,9728
1	Nelke	0,75%	9	0,9727
1	Muskat	0,25%	9	0,9715
1	Muskat	0,50%	9	0,9719
1	Muskat	0,75%	9	0,9719
1	Kombi	0,25%	9	0,9723
1	Kombi	0,50%	9	0,9733
1	Kombi	0,75%	9	0,9725
1	Referenz		15	0,9719
1	Nelke	0,25%	15	0,972
1	Nelke	0,50%	15	0,9722
1	Nelke	0,75%	15	0,9729
1	Muskat	0,25%	15	0,9721
1	Muskat	0,50%	15	0,9733
1	Muskat	0,75%	15	0,9727
1	Kombi	0,25%	15	0,9726
1	Kombi	0,50%	15	0,9703
1	Kombi	0,75%	15	0,9723
2	Referenz		0	0,974
2	Referenz		0	0,9736
2	Referenz		9	0,9781
2	Nelke	0,25%	9	0,9775
2	Nelke	0,50%	9	0,9728
2	Nelke	0,75%	9	0,9737
2	Muskat	0,25%	9	0,97295
2	Muskat	0,50%	9	0,9743
2	Muskat	0,75%	9	0,9732
2	Kombi	0,25%	9	0,973
2	Kombi	0,50%	9	0,973
2	Kombi	0,75%	9	0,9726
2	Referenz		15	0,972
2	Nelke	0,25%	15	0,972
2	Nelke	0,50%	15	0,9724
2	Nelke	0,75%	15	0,9729
2	Muskat	0,25%	15	0,9721
2	Muskat	0,50%	15	0,9722
2	Muskat	0,75%	15	0,9733
2	Kombi	0,25%	15	0,9727
2	Kombi	0,50%	15	0,97265
2	Kombi	0,75%	15	0,9703
3	Referenz		0	0,9726

Charge	Öl	Behandlung	Tag	aW-Wert MW
3	Referenz		0	0,9722
3	Referenz		9	0,9712
3	Nelke	0,25%	9	0,97195
3	Nelke	0,50%	9	0,9725
3	Nelke	0,75%	9	0,9738
3	Muskat	0,25%	9	0,9721
3	Muskat	0,50%	9	0,9713
3	Muskat	0,75%	9	0,9728
3	Kombi	0,25%	9	0,9727
3	Kombi	0,50%	9	0,97295
3	Kombi	0,75%	9	0,97275
3	Referenz		15	0,97195
3	Nelke	0,25%	15	0,9726
3	Nelke	0,50%	15	0,9707
3	Nelke	0,75%	15	0,9751
3	Muskat	0,25%	15	0,9725
3	Muskat	0,50%	15	0,97325
3	Muskat	0,75%	15	0,97505
3	Kombi	0,25%	15	0,973
3	Kombi	0,50%	15	0,97355
3	Kombi	0,75%	15	0,9715

Tabelle 18: L*-Wert (Helligkeit) als Mittelwert (n=3), alle Versuchschargen

Charge	Öl	Behandlung	Tag	L*-Wert MW
1	Referenz		0	62,33
1	Referenz		0	62,33
1	Referenz		9	61,795
1	Nelke	0,25%	9	57,665
1	Nelke	0,50%	9	63,55
1	Nelke	0,75%	9	62,495
1	Muskat	0,25%	9	65,57
1	Muskat	0,50%	9	65,94
1	Muskat	0,75%	9	65,365
1	Kombi	0,25%	9	64,07
1	Kombi	0,50%	9	64,34
1	Kombi	0,75%	9	66,02
1	Referenz		15	64,31
1	Nelke	0,25%	15	64,575
1	Nelke	0,50%	15	64,03
1	Nelke	0,75%	15	65,78
1	Muskat	0,25%	15	66,685
1	Muskat	0,50%	15	66,81
1	Muskat	0,75%	15	66,735
1	Kombi	0,25%	15	66,44
1	Kombi	0,50%	15	66,925
1	Kombi	0,75%	15	66,925
2	Referenz		0	58,77
2	Referenz		0	59,06
2	Referenz		9	62,08
2	Nelke	0,25%	9	61,895
2	Nelke	0,50%	9	62,305
2	Nelke	0,75%	9	62,03
2	Muskat	0,25%	9	62,31
2	Muskat	0,50%	9	62,425
2	Muskat	0,75%	9	61,795
2	Kombi	0,25%	9	62,265
2	Kombi	0,50%	9	61,7
2	Kombi	0,75%	9	61,75
2	Referenz		15	64,31
2	Nelke	0,25%	15	64,575
2	Nelke	0,50%	15	64,03
2	Nelke	0,75%	15	65,78
2	Muskat	0,25%	15	66,685
2	Muskat	0,50%	15	66,81
2	Muskat	0,75%	15	66,735
2	Kombi	0,25%	15	66,44
2	Kombi	0,50%	15	66,925
2	Kombi	0,75%	15	66,925
3	Referenz		0	62,055
3	Referenz		0	62,47

Charge	Öl	Behandlung	Tag	L*-Wert MW
3	Referenz		9	64,955
3	Nelke	0,25%	9	64,71
3	Nelke	0,50%	9	64,885
3	Nelke	0,75%	9	64,685
3	Muskat	0,25%	9	64,9
3	Muskat	0,50%	9	64,78
3	Muskat	0,75%	9	64,935
3	Kombi	0,25%	9	64,94
3	Kombi	0,50%	9	64,685
3	Kombi	0,75%	9	64,78
3	Referenz		15	64,095
3	Nelke	0,25%	15	64,79
3	Nelke	0,50%	15	64,16
3	Nelke	0,75%	15	63,45
3	Muskat	0,25%	15	64,09
3	Muskat	0,50%	15	63,58
3	Muskat	0,75%	15	64,86
3	Kombi	0,25%	15	65,01
3	Kombi	0,50%	15	64,615
3	Kombi	0,75%	15	64,64

Tabelle 19: a*-Wert (Rotwert) als Mittelwert (n=3), alle Versuchschargen

Charge	Öl	Behandlung	Tag	a* -Wert MW
1	Referenz		0	5,835
1	Referenz		0	5,835
1	Referenz		9	5,965
1	Nelke	0,25%	9	5,47
1	Nelke	0,50%	9	5,625
1	Nelke	0,75%	9	6,59
1	Muskat	0,25%	9	6,785
1	Muskat	0,50%	9	6,795
1	Muskat	0,75%	9	7
1	Kombi	0,25%	9	6,78
1	Kombi	0,50%	9	6,915
1	Kombi	0,75%	9	6,58
1	Referenz		15	5,74
1	Nelke	0,25%	15	5,42
1	Nelke	0,50%	15	5,66
1	Nelke	0,75%	15	6,085
1	Muskat	0,25%	15	5,765
1	Muskat	0,50%	15	5,875
1	Muskat	0,75%	15	5,87
1	Kombi	0,25%	15	6,385
1	Kombi	0,50%	15	5,51
1	Kombi	0,75%	15	5,9
2	Referenz		0	6,63
2	Referenz		0	6,42
2	Referenz		9	6,675
2	Nelke	0,25%	9	6,035
2	Nelke	0,50%	9	5,975
2	Nelke	0,75%	9	6,04
2	Muskat	0,25%	9	5,77
2	Muskat	0,50%	9	6
2	Muskat	0,75%	9	6,185
2	Kombi	0,25%	9	5,64
2	Kombi	0,50%	9	6,155
2	Kombi	0,75%	9	6,175
2	Referenz		15	5,74
2	Nelke	0,25%	15	5,42
2	Nelke	0,50%	15	5,665
2	Nelke	0,75%	15	6,085
2	Muskat	0,25%	15	5,765
2	Muskat	0,50%	15	5,875
2	Muskat	0,75%	15	5,87
2	Kombi	0,25%	15	6,385
2	Kombi	0,50%	15	5,51
2	Kombi	0,75%	15	5,9
3	Referenz		0	5,585
3	Referenz		0	5,515

Charge	Öl	Behandlung	Tag	a* -Wert MW
3	Referenz		9	5,36
3	Nelke	0,25%	9	5,49
3	Nelke	0,50%	9	5,24
3	Nelke	0,75%	9	5,345
3	Muskat	0,25%	9	5,495
3	Muskat	0,50%	9	5,485
3	Muskat	0,75%	9	5,235
3	Kombi	0,25%	9	5,01
3	Kombi	0,50%	9	5,575
3	Kombi	0,75%	9	5,69
3	Referenz		15	5,44
3	Nelke	0,25%	15	5,625
3	Nelke	0,50%	15	5,865
3	Nelke	0,75%	15	5,66
3	Muskat	0,25%	15	5,05
3	Muskat	0,50%	15	5,415
3	Muskat	0,75%	15	4,975
3	Kombi	0,25%	15	4,94
3	Kombi	0,50%	15	5,715
3	Kombi	0,75%	15	5,92

Tabelle 20: b*-Wert (Gelbwert) als Mittelwert (n=3), alle Versuchschargen

Charge	Öl	Behandlung	Tag	b* -Wert MW
1	Referenz		0	9,15
1	Referenz		0	9,15
1	Referenz		9	8,55
1	Nelke	0,25%	9	7,87
1	Nelke	0,50%	9	8,82
1	Nelke	0,75%	9	8,525
1	Muskat	0,25%	9	8,95
1	Muskat	0,50%	9	8,915
1	Muskat	0,75%	9	9,08
1	Kombi	0,25%	9	8,715
1	Kombi	0,50%	9	8,87
1	Kombi	0,75%	9	9,355
1	Referenz		15	8,885
1	Nelke	0,25%	15	8,885
1	Nelke	0,50%	15	8,85
1	Nelke	0,75%	15	9,18
1	Muskat	0,25%	15	9,75
1	Muskat	0,50%	15	9,54
1	Muskat	0,75%	15	9,56
1	Kombi	0,25%	15	9,25
1	Kombi	0,50%	15	9,825
1	Kombi	0,75%	15	9,585
2	Referenz		0	9,54
2	Referenz		0	9,56
2	Referenz		9	9,225
2	Nelke	0,25%	9	9,27
2	Nelke	0,50%	9	9,18
2	Nelke	0,75%	9	9,16
2	Muskat	0,25%	9	9,3
2	Muskat	0,50%	9	9,13
2	Muskat	0,75%	9	9,22
2	Kombi	0,25%	9	9,365
2	Kombi	0,50%	9	9,365
2	Kombi	0,75%	9	9,355
2	Referenz		15	8,885
2	Nelke	0,25%	15	8,885
2	Nelke	0,50%	15	8,85
2	Nelke	0,75%	15	9,18
2	Muskat	0,25%	15	9,75
2	Muskat	0,50%	15	9,54
2	Muskat	0,75%	15	9,56
2	Kombi	0,25%	15	9,25
2	Kombi	0,50%	15	9,825
2	Kombi	0,75%	15	9,585
3	Referenz		0	9,295
3	Referenz		0	9,455

Charge	Öl	Behandlung	Tag	b* -Wert MW
3	Referenz		9	9,33
3	Nelke	0,25%	9	9,285
3	Nelke	0,50%	9	9,27
3	Nelke	0,75%	9	9,415
3	Muskat	0,25%	9	9,335
3	Muskat	0,50%	9	9,18
3	Muskat	0,75%	9	9,74
3	Kombi	0,25%	9	9,656
3	Kombi	0,50%	9	9,17
3	Kombi	0,75%	9	9,32
3	Referenz		15	9,12
3	Nelke	0,25%	15	9,1
3	Nelke	0,50%	15	9,23
3	Nelke	0,75%	15	9,23
3	Muskat	0,25%	15	9,245
3	Muskat	0,50%	15	9,12
3	Muskat	0,75%	15	9,545
3	Kombi	0,25%	15	9,29
3	Kombi	0,50%	15	9,275
3	Kombi	0,75%	15	9,42

Tabelle 21: Ergebnisse der Sensorik für das Merkmal Geschmack (n=10), alle Versuchschargen

Tag	Charge	Prüfer	Nelke 0,25%	Nelke 0,5%	Nelke 0,75%	Muskat 0,25%	Muskat 0,5%	Muskat 0,75%	Kombi 0,25%	Kombi 0,5%	Kombi 0,75%
2	1	1	1	2	4	3	3	5	2	4	5
2	1	2	2	4	3	3	4	2	1	2	1
2	1	3	2	1	2	1	2	4	1	3	2
2	1	4	0	3	5	0	2	2	0	2	4
2	1	5	1	4	3	2	1	5	4	3	3
2	1	6	1	1	4	1	2	3	3	3	3
2	1	7	0	5	1	3	3	5	5	5	5
2	1	8	2	1	5	1	0	5	0	3	3
2	1	9	0	3	5	0	2	2	0	2	4
2	1	10	1	4	3	2	1	5	4	3	3
6	1	1	1	1	5	3	5	5	0	3	2
6	1	2	1	1	2	0	2	2	0	2	2
6	1	3	1	0	1	0	2	2	0	0	3
6	1	4	0	3	2	4	4	4	1	1	2
6	1	5	1	0	0	2	1	0	1	4	3
6	1	6	2	1	0	3	3	1	2	4	1
6	1	7	0	4	3	3	3	1	0	3	1
6	1	8	2	2	1	3	3	3	3	4	2
6	1	9	4	5	5	2	5	5	2	5	4
6	1	10	3	1	1	2	4	1	0	1	2
2	2	1	1	1	4	1	1	2	2	2	3
2	2	2	2	1	3	2	3	3	1	2	3
2	2	3	1	1	4	2	1	1	0	2	2
2	2	4	2	1	4	3	4	2	3	4	4
2	2	5	1	1	3	2	0	2	1	0	1
2	2	6	0	2	4	1	1	2	1	3	3
2	2	7	3	3	1	2	1	0	1	2	2
2	2	8	0	2	5	3	0	3	0	4	4
2	2	9	0	1	2	1	2	4	2	4	4
2	2	10	0	1	1	1	1	2	0	1	2
6	2	1	1	3	3	1	2	3	1	2	2
6	2	2	4	1	0	1	3	3	0	3	4
6	2	3	1	1	4	3	4	1	0	3	4
6	2	4	3	3	4	3	4	3	2	4	3
6	2	5	1	2	1	1	2	2	2	1	1
6	2	6	5	1	4	5	5	2	2	3	2
6	2	7	0	3	3	2	4	3	1	2	3
6	2	8	1	5	3	3	4	3	4	3	4
6	2	9	1	1	2	1	2	3	0	2	3
6	2	10	0	3	4	2	3	1	0	4	4
9	2	1	3	4	3	3	2	0	1	5	4
9	2	2	1	2	4	1	3	0	0	3	2
9	2	3	2	3	4	1	3	4	2	3	4
9	2	4	1	0	1	0	0	3	0	0	0

Tag	Charge	Prüfer	Nelke 0,25%	Nelke 0,5%	Nelke 0,75%	Muskat 0,25%	Muskat 0,5%	Muskat 0,75%	Kombi 0,25%	Kombi 0,5%	Kombi 0,75%
9	2	5	0	2	3	3	3	3	1	3	1
9	2	6	2	3	5	0	1	0	0	4	3
9	2	7	2	1	4	2	3	3	1	3	3
9	2	8	3	2	4	4	3	1	2	4	4
9	2	9	1	3	3	4	2	1	1	3	3
9	2	10	1	0	4	1	2	3	3	1	4
2	3	1	2	1	4	4	5	3	2	3	3
2	3	2	3	0	5	2	3	3	1	2	2
2	3	3	4	1	3	2	4	4	3	3	1
2	3	4	1	1	0	2	3	3	1	1	2
2	3	5	1	2	4	3	3	4	1	3	2
2	3	6	2	3	1	1	4	2	1	2	0
2	3	7	1	4	3	3	2	3	1	2	3
2	3	8	1	2	4	3	3	1	0	3	2
2	3	9	3	2	1	3	0	1	1	1	2
2	3	10	3	5	2	2	5	3	1	1	3
6	3	1	0	2	3	1	3	3	1	2	2
6	3	2	3	2	4	3	2	2	2	2	1
6	3	3	2	4	0	2	5	5	4	4	4
6	3	4	0	3	0	1	2	3	1	0	0
6	3	5	3	2	4	2	3	4	3	5	5
6	3	6	2	1	2	4	3	1	3	1	2
6	3	7	0	4	1	2	4	3	1	0	1
6	3	8	1	2	2	1	2	3	1	2	3
6	3	9	2	1	1	3	2	4	0	1	1
6	3	10	0	1	2	1	2	3	1	2	4
9	3	1	2	0	2	1	4	2	1	1	1
9	3	2	2	3	4	2	5	4	1	5	4
9	3	3	2	2	1	2	4	1	1	1	0
9	3	4	0	3	0	3	4	4	4	0	1
9	3	5	0	0	1	0	2	1	0	0	1
9	3	6	0	1	2	2	3	3	1	2	3
9	3	7	2	2	2	3	4	4	3	4	3
9	3	8	2	2	1	3	2	5	2	2	1
9	3	9	0	1	3	3	4	2	0	2	1
9	3	10	1	1	2	1	1	3	0	2	3
14	3	1	1	2	1	0	2	2	1	2	2
14	3	2	4	1	2	4	3	2	1	3	1
14	3	3	0	0	0	1	3	4	3	4	5
14	3	4	0	0	2	0	2	3	0	0	1
14	3	5	3	2	2	0	1	1	1	3	1
14	3	6	1	1	2	3	3	4	1	1	1
14	3	7	1	1	1	4	3	2	1	3	4
14	3	8	1	2	2	1	2	3	1	2	3
14	3	9	0	3	2	3	4	3	1	1	0
14	3	10	1	2	2	0	1	2	1	1	2

Tabelle 22: Ergebnisse der Sensorik für das Merkmal Geruch (n=10), alle Versuchschargen

Tag	Charge	Prüfer	Nelke 0,25%	Nelke 0,5%	Nelke 0,75%	Muskat 0,25%	Muskat 0,5%	Muskat 0,75%	Kombi 0,25%	Kombi 0,5%	Kombi 0,75%
2	1	1	2	4	4	3	4	5	3	4	5
2	1	2	4	5	2	4	5	1	3	3	1
2	1	3	2	2	3	2	2	4	1	2	1
2	1	4	1	4	5	3	5	4	2	1	2
2	1	5	2	4	3	2	3	5	3	5	3
2	1	6	2	2	4	2	2	4	2	5	5
2	1	7	0	5	0	0	1	3	5	5	0
2	1	8	2	1	4	3	0	4	1	4	3
2	1	9	2	4	3	2	3	5	3	5	3
2	1	10	2	2	4	2	2	4	2	5	5
9	1	1	0	0	1	0	4	4	0	0	1
9	1	2	1	0	2	1	2	3	1	1	3
9	1	3	0	2	3	0	2	4	0	0	3
9	1	4	0	4	3	4	4	4	1	0	0
9	1	5	0	0	0	1	1	0	2	3	2
9	1	6	0	3	4	4	5	2	1	3	2
9	1	7	1	1	3	0	0	0	1	1	1
9	1	8	1	2	1	2	2	1	2	3	1
9	1	9	2	5	4	0	4	4	2	4	3
9	1	10	3	2	2	1	3	2	0	3	1
2	2	1	1	1	4	1	2	2	1	3	3
2	2	2	3	1	3	1	3	4	2	3	4
2	2	3	0	0	3	3	2	3	1	2	2
2	2	4	3	2	4	3	4	2	3	4	4
2	2	5	0	2	3	1	1	2	2	1	0
2	2	6	0	2	4	1	2	3	2	3	3
2	2	7	3	4	1	3	2	1	2	3	3
2	2	8	1	4	4	2	1	5	0	4	4
2	2	9	0	2	2	2	1	3	2	4	4
2	2	10	0	1	1	2	1	2	2	2	3
6	2	1	1	2	2	1	3	3	1	2	3
6	2	2	4	1	0	0	2	1	0	2	4
6	2	3	1	1	4	0	0	0	0	2	1
6	2	4	3	3	4	2	4	3	2	4	3
6	2	5	0	1	2	0	0	1	1	1	2
6	2	6	5	1	4	5	5	1	2	4	3
6	2	7	0	2	2	2	4	3	1	2	3
6	2	8	1	4	4	2	3	2	2	3	4
6	2	9	2	1	3	2	2	3	1	2	3
6	2	10	0	4	3	3	4	1	0	4	4
9	2	1	2	2	5	1	0	2	0	4	5
9	2	2	0	2	4	2	4	1	1	4	2
9	2	3	0	2	3	2	3	4	1	2	3
9	2	4	1	0	1	2	0	2	0	0	0

Tag	Charge	Prüfer	Nelke 0,25%	Nelke 0,5%	Nelke 0,75%	Muskat 0,25%	Muskat 0,5%	Muskat 0,75%	Kombi 0,25%	Kombi 0,5%	Kombi 0,75%
9	2	5	0	0	2	3	2	3	2	3	1
9	2	6	2	2	4	0	2	0	0	4	3
9	2	7	1	1	3	1	3	1	1	3	3
9	2	8	2	1	4	3	1	0	1	3	3
9	2	9	2	5	3	4	2	1	2	4	3
9	2	10	1	0	4	0	1	3	2	1	4
2	3	1	3	3	4	3	4	3	3	4	4
2	3	2	4	0	5	3	5	4	2	3	5
2	3	3	0	1	3	1	2	1	1	3	2
2	3	4	3	1	1	2	3	3	3	3	3
2	3	5	2	1	3	2	4	4	1	3	2
2	3	6	2	1	1	4	3	3	3	3	0
2	3	7	1	4	3	3	3	4	1	2	3
2	3	8	2	2	5	2	3	2	1	3	3
2	3	9	4	5	3	4	2	2	2	2	3
2	3	10	3	4	2	2	5	3	2	2	4
6	3	1	0	1	1	1	2	3	0	1	2
6	3	2	2	1	3	1	1	1	1	1	0
6	3	3	0	2	3	0	3	4	2	4	3
6	3	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0
6	3	5	3	4	5	2	4	5	2	5	4
6	3	6	3	0	1	3	3	1	4	0	2
6	3	7	0	4	1	4	3	2	0	1	1
6	3	8	0	1	2	1	2	3	1	1	2
6	3	9	3	2	2	2	2	4	1	2	3
6	3	10	0	1	1	1	2	2	0	1	2
9	3	1	3	1	0	4	5	2	3	2	4
9	3	2	2	2	3	1	5	4	1	4	3
9	3	3	2	1	2	1	3	2	1	0	0
9	3	4	1	3	1	4	4	2	3	2	0
9	3	5	1	1	1	0	2	1	0	0	1
9	3	6	0	1	2	1	3	3	1	2	2
9	3	7	1	1	1	1	2	4	1	4	2
9	3	8	0	2	1	1	2	4	3	2	2
9	3	9	0	2	3	3	4	2	0	2	1
9	3	10	0	1	2	1	1	2	0	1	3
14	3	1	0	1	1	2	2	2	1	1	1
14	3	2	3	0	1	3	2	1	1	2	1
14	3	3	0	0	0	1	1	2	1	1	2
14	3	4	0	0	2	3	3	3	0	0	3
14	3	5	1	1	3	0	0	1	0	0	0
14	3	6	2	1	3	2	2	4	1	2	3
14	3	7	2	1	1	4	3	2	2	3	4
14	3	8	0	1	2	0	1	2	1	2	3
14	3	9	0	0	1	0	0	0	0	0	0
14	3	10	2	3	4	1	2	3	2	3	3

Tabelle 23: Ergebnisse über positiven Kaufentscheid der Prüfer zu jedem Produkt in %; alle Versuchschargen

	Refe-renz	Nelke 0,25%	Nelke 0,5%	Nelke 0,75%	Muskat 0,25%	Muskat 0,5%	Muskat 0,75%	Kombi 0,25%	Kombi 0,5%	Kombi 0,75%
Charge 1	100%	75%	25%	12,50 %	62,50 %	62,50 %	25%	75%	12,50 %	37,50 %
	100%	70%	60%	30 %	50%	20%	30%	90%	40%	30%
Charge 2	100%	80%	70%	20%	80%	80%	20%	80%	50%	20%
	100%	80%	30%	20%	60%	10%	50%	70%	40%	10%
	100%	90%	60%	10%	60%	40%	50%	100%	20%	20%
Charge 3	100%	60%	60%	50%	40%	20%	50%	80%	50%	50%
	100%	60%	70%	50%	60%	60%	20%	80%	80%	60%
	100%	90%	70%	80%	50%	30%	40%	90%	80 %	70%
Endnote	100,00%	75,63 %	55,63 %	34,06 %	57,81 %	40,31 %	35,63 %	83,13 %	46,56 %	37,19 %

Danksagung

Herrn Univ.-Prof. Günter Klein danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, die wissenschaftliche Betreuung und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Frau Dr. Theda von Müffling sei für ihre gute Betreuung in Form von Ratschlägen, Diskussionen und Anregungen gedankt. Sie halfen mir bei der Planung, Organisation und Durchführung meiner Arbeit.

Den vielen helfenden Händen bei meinen Versuchen, und auch sonst, danke ich sehr, insbesondere Dietmar Köke für die Herstellung der Brühwurst, Bettina Engel-Abé, Marion Busse und Ana Belismelis für die Hilfe bei der Untersuchung meiner Wurstproben.

Meinen lieben Kolleginnen Dr. Nadine Sudhaus, Dr. Anja Kastner und Dr. Annika Boulaaba danke ich besonders für das immer gewährte offene Ohr, dass sie mir immer hilfreich zur Seite standen und darüber hinaus für jeden Spaß zu haben waren.

Mein besonderer Dank gilt meinen Mitdoktoranden und Büromitbewohnern Nathalie, Ruth, Johanna, Kerstin, Antje, Mareike, Christiane, Johanna, Karen und Marcus für die schöne Zeit, die Ausflüge des Mädchenpensionates und das viele Lachen. Ohne euch wäre es nicht Dasselbe gewesen.

Manfred Merle danke ich für die Hilfe bei PC-Problemen jeglicher Art.

Dr. Martin Beyerbach aus dem Institut für Epidemiologie, Biometrie und Informationsverarbeitung danke ich für die Ratschläge und Informationen bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse.

Der Fritz-Ahrberg-Stiftung, Hannover danke ich für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Anke, Arne, Barbara, Tanja, Julia und Jenny, ich danke euch für Freundschaft, Hilfsbereitschaft und Geduld bei blöden Fragen und für die Möglichkeit praktisch so viel von euch lernen zu dürfen.

Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen für Liebe, scheinbar immerwährende Zuversicht und die Unterstützung, die es mir möglich machte, Veterinärmedizin zu studieren.

Meiner Schwester Estefania danke ich für ihre zahlreichen Aufmunterungen, ihre lieben Worte in schweren Zeiten, die Gespräche, die mir halfen, einen klaren Kopf zu bewahren und, dass sie mir beibrachte nach rechts und links zu schauen.

Dir Falko danke ich für deine endlose Geduld und dein liebevolles Verständnis. Du hast den Glauben an mich nie aufgegeben. Danke für deine Unterstützung während meiner Promotion und in allen Lebenslagen. Du machst mich glücklich.