Hygienische Risiken beim Auftauen von tiefgefrorenem Fleisch und Schlachtgeflügel = Hygienic risks during thawing of deep frozen meat and poultry

Autor(en): **Wellauer-Weber, Barbara / Weise, Zita / Schuler, Ursula**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **81 (1990)**

Heft 6

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982632

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **81**, 655–683 (1990)

Barbara Wellauer-Weber, Zita Weise, Ursula Schuler, O. Geiges und *W. Schmidt-Lorenz,* Institut für Lebensmittelwissenschaft, Eidg. Technische Hochschule, Zürich

Hygienische Risiken beim Auftauen von tiefgefrorenem Fleisch und Schlachtgeflügel

Hygienic Risks During Thawing of Deep Frozen Meat and Poultry

Einleitung

Grossstückige tiefgefrorene Lebensmittel wie Fleisch und Geflügel müssen vor der Zubereitung wie Dressieren, Würzen, Kochen oder Braten aufgetaut werden. Am raschesten erfolgt das Auftauen in speziellen Umluftöfen, die allerdings nur in grösseren Küchen zur Verfügung stehen, oder in Mikrowellengeräten, die aber in vielen Haushalten noch nicht vorhanden sind und für die inhomogene Produkte wie Geflügelschlachtkörper nur bedingt geeignet sind. In kleineren Küchen, insbesondere im Haushalt und in der Gastronomie, wird aus Gründen der hygienischen Sicherheit dringend ein ausschliessliches Auftauen im Kühlschrank oder Kühlraum empfohlen. Das kann allerdings je nach Grösse der Stücke viele Stunden bis Tage dauern und erfordert entsprechende Vorausplanung. Notfalls ist das Auftauen dicht verpackter Stücke auch in fliessendem kalten Wasser möglich. In der Praxis wird aber vor allem tiefgefrorenes Geflügel oft über Nacht bei Raumtemperatur aufgetaut, obwohl davor immer wieder gewarnt wird. Nach allgemeiner Erfahrung besteht bei längerer Exposition von Lebensmitteln bei Temperaturen zwischen 10 und 45 °C immer die Gefahr der Vermehrung nicht nur von Verderbsbakterien, sondern auch von potentiell toxigenen und toxiinfektiösen Arten, bei Schlachtgeflügel vor allem auch von Salmonellen in der Haut oder den Randschichten und im Tausaft.

Bisher gibt es aber – soweit bekannt – keine eindeutigen experimentellen Belege über eine signifikante Bakterienvermehrung während des Auftauens bei Raumtemperaturen auf der Oberfläche tiefgefrorener Fleischstücke und Geflügelschlachtkörper oder im Tausaft.

Ziel vorliegender Arbeit war die experimentelle Prüfung, ob und inwieweit bei tiefgefrorenen 1- und 2-kg-Rindfleisch-Stücken sowie Broilern (1,2 kg) und Pu-

ten (4,5 kg) beim Auftauen bei 5 und 20 °C, teilweise auch noch bei 15 und 28 °C, eine Bakterienvermehrung erfolgt, und ob nach Beimpfung von Rindfleisch und Broilern eine Vermehrung von *Escherichia coli, Salmonella enteritidis* oder *Listeria innocua* unter diesen Auftaubedingungen möglich ist.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial

Rindfleisch

5- bzw. 10-kg-Stücke aus der Unterspälte (M. glutaeobiceps) 2 Tage nach der Schlachtung vom Schlachthof bezogen und nach 3 bis 6 Tagen Lagerung im Kühlraum bei +4 °C zurechtgeschnitten.

Die 5-kg-Stücke wurden aufgeteilt in 4 gleich grosse 1-kg-Würfel mit einer Kantenlänge von annähernd je 10 cm, die 10-kg-Stücke in 4 gleich grosse 2-kg-Würfel mit einer Kantenlänge von je 12,5 cm. Zusätzlich wurden 8-kg-Stücke in backsteinähnliche Form von 15 × 15 × 35 cm geschnitten.

Der pH-Wert der 1-kg-Stücke betrug 5,7 und lag bei den länger eingelagerten 2- und 8-kg-Stücken zwischen 6,0 und 6,2, im Mittel bei 6,1.

Frische, unverpackte und gekühlte Broiler (Poulets, Brathähnchen)

ohne Hals und Innereien mit einem Gewicht von 1,1 bis 1,2 kg 2 Tage nach der Schlachtung aus dem Einzelhandel bezogen.

Tiefgefrorene Puter (Truthahn)

ohne Hals und Innereien mit einem Gewicht von 4,4 bis 4,5 kg aus der Tiefkühltruhe des Einzelhandels bezogen.

Der pH-Wert von Haut und Brustmuskulatur aller Geflügelproben lag nach dem Auftauen zwischen 5,9 und 6,1, im Mittel bei 6,0.

Zur Beimpfung verwendete Bakterienstämme

Escherichia coli	ATCC 11266
Salmonella enteritidis	von der Schweizerischen Salmonellenzentrale Bern im Laufe der Routinediagnostik isoliert
Listeria innocua	vom Kantonalen Laboratorium Zürich als Frischisolat aus Fleisch bezogen.

Präparation der Probestücke zur Temperaturmessung während des Auftauens

Die Temperatur-Messungen und -Aufzeichnungen erfolgten mit

- Thermoelementen: Thermocoax Typ 2 ABAC der Firma Sodern AG Durchmesser 1 mm, Länge 28–30 cm und einem
- Portable Hybrid Recorder, Model 3087, Yokogawa Hokushin Electric mit programmierbarem 150-mm-Schreiber und 12 Kanal analog/digitaler Datenaufzeichnung.

Alle Probestücke wurden unverpackt jeweils einzeln mit Schnüren auf einem Gefrierschrankkorb (plastifiziertes Drahtgitter) festgebunden und je ein Thermoelement auf der Oberfläche und im Kern fixiert.

Beim Rindfleisch lagen die Oberflächen-Thermoelemente in der Muskulatur etwa 2–3 mm unter der Oberfläche. Bei den Geflügelschlachtkörpern waren sie in der Brustmuskelregion unter der annähernd 2 mm dicken Haut fixiert.

Bei den Rindfleischblöcken lagen die Kernthermoelemente im geometrischen Mittelpunkt der quadratischen Fleischwürfel. Da die ungefrorenen Fleischwürfel beim Auflegen auf den Gitterkorb etwas zusammenfielen, war der Mittelpunkt bei den 1-kg-Stücken 40 mm, bei den 2-kg-Stücken 50 mm und bei den 8-kg-Stükken annähernd 65 mm von den unteren und oberen Oberflächen entfernt.

Bei den Broilern und Puten wurden die Kernthermoelemente in der Mitte der annähernd 20 bzw. 60 mm dicken Brustmuskulatur fixiert. Hierzu wurden die tiefgefrorenen Puten bei Zimmertemperatur soweit angetaut, dass sich die Thermoelemente einführen liessen.

Nach Anbringen der Thermoelemente wurden die Probestücke auf den Gittern im Gefrierschrank auf eine Kerntemperatur von -20 ± 1 °C tiefgefroren und danach 24 h im Gefrierschrank belassen.

Zum kontrollierten Auftauen wurden die Gitterkörbe mit den tiefgefrorenen Probestücken und fixierten Thermoelementen in grösseren Klimakammern bei Kühltemperaturen von 5 ± 1 °C oder 20 ± 2 °C, in einem 250-l-Kühlschrank mit Umluftventilator bei 15 ± 1 °C oder einem 170-l-Brutschrank bei 28 ± 1 °C auf ein Plastikbecken aufgesetzt und mit einer Plastikfolie so abgedeckt, dass diese die Probestücke nicht berührte.

Im Plastikbecken standen zwei Petrischalen (∅ 140 mm) zum Auffangen des Tausaftes. Auch hier war ein Thermoelement zur Verfolgung der Tausafttemperatur angebracht. In einigen Versuchsserien wurden die Probestücke ohne Gitterkorb direkt in das Plastikbecken gelegt, so dass sich der Tausaft unter der aufgelagerten Probenunterseite ansammelte.

Mit einem weiteren Thermoelement wurde die Lufttemperatur in den Auftauräumen kontrolliert.

Jede Versuchsserie wurde mehrfach durchgeführt. Dabei wurden jeweils zwei gleiche Probestücke unter identischen Bedingungen aufgetaut: Das mit Thermoelementen versehene diente zur Temperaturmessung, das andere zu wiederholten Probennahmen für die Koloniezahlbestimmungen.

Koloniezahlbestimmungen während des Auftauens

Zu Beginn und 3- bis 8mal im Laufe des Auftauens wurden an verschiedenen Stellen der Probestücke mit einem Stanzeisen (Ø 36 mm) jeweils zwei 10-cm^2-Stücke aus der oberen Oberfläche ausgestanzt. Davon wurden beim Rindfleisch mit steriler Pinzette und Skalpell 2 mm dicke Oberflächenschichten mit längs verlaufenden Muskelfasern, beim Geflügel ausschliesslich die Haut herauspräpariert.

Die Oberflächenprobestücke wurden einzeln mit 50 ml Verdünnungslösung (0,1% Pepton und 0,85% NaCl) im Stomacher eine Minute lang homogenisiert, davon dezimale Verdünnungsreihen angelegt und jeweils zwei Platten pro Verdünnungsstufe entweder mit 0,1 ml im Oberflächenausstrichverfahren oder mit 1 ml im Gussplattenverfahren beschickt. Aliquote Anteile des Tausaftes wurden mit einer Pipette direkt aus den Petrischalen entnommen und dezimal verdünnt.

Die Gesamtkoloniezahlen (GKZ) wurden nach Oberflächenkultur auf Plate Count Agar (PC) (BBL 11638) und 2 Tagen Bebrütung bei 30 °C bestimmt.

Die *Pseudomonas*-Koloniezahlen wurden ebenfalls im Oberflächenverfahren auf *Pseudomonas Aeromonas*-Selective-Agar Base (GSP) (Merck 10230) mit Zusatz von Penicillin-G-Natrium (100 000 i. E. l^{-1}) nach 3 Tagen Bebrütung bei 20 °C ermittelt.

Die Enterobakteriazeen-Koloniezahlen wurden nach Gusskultur mit Overlayer mit Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) (Merck 10275) nach 18 bis 24 h Bebrütung bei 37 °C bestimmt.

Für die Platten jeder separaten Verdünnungsreihe der beiden Probestücke wurde das gewogene Mittel ($\bar{x}_{Gew}$) der Koloniezahlen berechnet. Die in den Abbildungen angegebenen Werte sind die arithmetischen Mittel der beiden gewogenen Mittelwerte.

Beimpfung der Probestücke mit Testbakterien

Von 24-h-Kulturen der drei Teststämme in Hirn-Herz-Infusion (Oxoid CM 225) bei 37 °C wurden jeweils 10 ml zu 1000 ml Verdünnungslösung in einem Plastikbeutel zugemischt. Die zu beimpfenden Fleischstücke oder frischen Geflügelschlachtkörper wurden in die Bakteriensuspension eingetaucht, mehrfach gewendet, nach dem Herausnehmen abtropfen gelassen, in einen neuen Plastikbeutel überführt, dieser mit einer Klammer verschlossen und sofort bei –20 °C eingefroren. Es wurden jeweils vier Rindfleischstücke und acht Geflügelschlachtkörper nacheinander mit der gleichen Bakteriensuspension beimpft.

Jeweils zwei Rindfleischstücke und vier Broiler wurden nach 24 h Lagerung bei –20 °C, zwei bzw. vier andere Proben nach 3 Wochen langer Gefrierlagerung aufgetaut. Nur bei den mit Salmonellen beimpften Rindfleischstücken erfolgte keine dreiwöchige Gefrierlagerung.

Das Auftauen der beimpften Probestücke, die Probenahmen, Homogenisationen und dezimalen Verdünnungen sowie die Bestimmungen der Gesamt- und

Pseudomonaden-Koloniezahlen erfolgten wie bei den unbeimpften Probestükken. Bei den Broilern wurden die Oberflächen- und Tausaftproben abwechselnd jeweils von zwei parallel aufgetauten Probestücken entnommen.

Zusätzlich wurden die Koloniezahlen der aufgeimpften Testkeime wie folgt bestimmt:

E. coli

1. VRBG-Agar nach Schweiz. LM-Buch (1), Gusskultur mit 1 ml der dezimalen Verdünnungsstufen mit Overlayer, 18 bis 24 h Bebrütung bei 37 °C.
2. TSA + VRBG-Agar: Ausstrich von 0,1 ml der dezimalen Verdünnungsstufen auf die Oberfläche von Trypton-Soja-Agar (TSA) (Oxoid CM 131) und 2 h Bebrütung bei 37 °C nach *Speck* und *Ray* (2). Danach Überschichtung mit VRBG-Agar und Koloniezählung nach 18–24 h Bebrütung bei 37 °C.
3. TSB + VRBG: Zugabe von 1 ml des Homogenisates zu 9 ml Tryptone-Soya-Broth (TSB) (Oxoid 129) und Exposition für 2 h bei Raumtemperatur nach *Mossel* et al. (3). Davon Herstellung einer dezimalen Verdünnungsreihe und Ansatz von VRBG-Gusskulturen mit Overlayer wie bei 1.

S. enteritidis

1. BG-Agar: Oberflächenkulturen mit 0,1 ml der dezimalen Verdünnungsstufen auf Brilliant Green Agar (modified) (BG) (Oxoid CM 329), der nach *White* und *Hall* (4) 100 min im Dampftopf aufgelöst worden war. Koloniezählungen nach 48 h Bebrütung bei 37 °C.
2. BG + Res.: Oberflächenkulturen mit 0,1 ml der dezimalen Verdünnungsstufen auf mit 5 ml Resuscitant Agar nach *White* und *Hall* (4) übergossenen und danach bei 50 °C für 20 min getrockneten Filterpapieren Whatman Grade 1 (Ø 85 cm). Nach 1 h Standzeit bei Raumtemperatur Auflegen der beimpften Filterpapiere auf Platten mit doppelt konzentrierten Brilliant Green Agar (modified) (BG) und 18–24 h Bebrütung bei 37 °C.
   Resuscitant Agar (Res.): 1,8 g Tryptone (Oxoid L 42); 1,2 g Hefeextrakt (BBL 1192); 4,3 g Natriumpyruvat; 1,7 g Natriumglycerophosphat, 0,4 g Magnesiumsulfat; 30 g Agar (Oxoid L 13); 1000 ml aqua dest. Der Agar wurde im Dampftopf in 500 ml Wasser gelöst, die übrigen Zusätze in weiteren 500 ml. Nach Mischung beider Lösungen wurde auf pH 7,4 eingestellt und 15 min bei 115 °C autoklaviert.
3. TSI-Agar – Oberflächenkulturen mit 0,1 ml der dezimalen Verdünnungsreihen auf Triple Sugar Iron Agar (TSI) (BBL 14749), Koloniezählungen nach 48 h Bebrütung bei 37 °C.

L. innocua

Oberflächenkulturen von 0,1 ml der dezimalen Verdünnungsstufen auf Listeria-Selektivagar (Merck 10986), Koloniezählungen nach 48 h Bebrütung bei 37 °C.

Resultate

Temperaturverlauf während des Auftauens

In Abbildung 1 sind als Beispiele die Temperaturverläufe in der Oberflächenschicht und im Kern von 2-kg-Rindfleischwürfeln während des Auftauens bei den drei Expositionstemperaturen 5, 15 und 28 °C sowie bei einem 1- und 8-kg-Stück bei 20 °C gegenübergestellt. In allen Fällen war sowohl an der Oberfläche als auch im Kern ein relativ rascher Temperaturanstieg von –20 °C bis in den Bereich von etwa –5 bis –3 °C erfolgt. An der Oberfläche nahm die Temperatur dann nach einer mehr oder weniger ausgeprägten Krümmung nahezu gradlinig bis zur Expositionstemperatur zu. Im Kern verlief der Temperaturanstieg bis etwa –5 bis –3 °C etwas langsamer als an der Oberfläche, zeigte dann aber einen ausgeprägten flacheren Anstieg bis in den Bereich um –2 °C mit nachfolgendem zweiten steilen Anstieg. Diese doppelt gekrümmte Temperaturkurve im Kern war am stärksten bei den Auftautemperaturen von 5 °C ausgeprägt und wurde mit steigender Auftautemperatur zunehmend kürzer. Bei dem 8-kg-Stück war sie bei der Auftautemperatur von 20 °C fast genauso lang wie bei dem 2-kg-Stück bei 15 °C, beim 1-kg-Stück dagegen deutlich kürzer. Prinzipiell gleiche Temperaturverläufe waren beim Auftauen der tiefgefrorenen Geflügelschlachtkörper zu verzeichnen wie die Abbildungen 5 und 6 zeigen, bei denen ebenso wie für die 1-kg-Rindfleischstücke in den Abbildungen 3 und 4 die Temperaturkurven von Oberfläche und Kern separat aufgezeichnet sind.

Die beiden wichtigsten Daten für die Praxis sind die Zeiten, nach denen bei den verschiedenen Produkten und Auftautemperaturen 0 °C im Kern und an der Oberfläche erreicht war, die Produkte also aufgetaut und nicht mehr gefroren waren. In Abbildung 2A sind diese in jeweils mehrfach durchgeführten Versuchsserien festgestellten, mittleren Auftauzeiten für die Rindfleischstücke, in Abbildung 2B für Broiler und Puten in Abhängigkeit von den Auftautemperaturen von 5, 15, 20 und 28 °C dargestellt. Danach lagen die Auftauzeiten auf eine Kerntemperatur von 0 °C bei den kompakten 1-kg-Rindfleischwürfeln in gleicher Grössenordnung wie bei den fleischigen Hohlkörpern der 1,2-kg-Broiler, das heisst bei der Auftautemperatur von 5 °C bei 23,5 h und von 20 °C bei 7,2 h. Die Auftauzeiten auf eine Oberflächentemperatur von 0 °C waren bei der Auftautemperatur von 20 °C mit 4 h ebenfalls gleich, bei der Auftautemperatur von 5 °C mit 18,5 h beim Rindfleisch und 11 h bei den Broilern unterschiedlich.

Prinzipiell sehr ähnliche Zeiten bis im Kern und an der Oberfläche 0 °C erreicht wurde, waren in Abhängigkeit von der Auftautemperatur bei den 4,5-kg-Puten und 2-kg-Rindfleischstücken gegeben. Die Auftauzeiten waren deutlich länger als bei den 1-kg-Stücken.

Insgesamt waren die Auftauzeiten, bis 0 °C erreicht war, im Kern zwischen 1,5- und 2fach länger als an der Oberfläche.

Wichtig für die Praxis sind ausserdem noch die Zeiten der beginnenden Tausaftbildung. Bei den 1-kg-Rindfleischstücken entsprachen sie den 0 °C-Auftauzei-

ten auf der Oberfläche, bei den 2-kg-Stücken lagen sie etwas darüber. Bei den Broilern lagen sie fast in der Mitte zwischen den 0 °C-Auftauzeiten an Oberfläche und im Kern, bei den Puten dagegen deutlich höher.

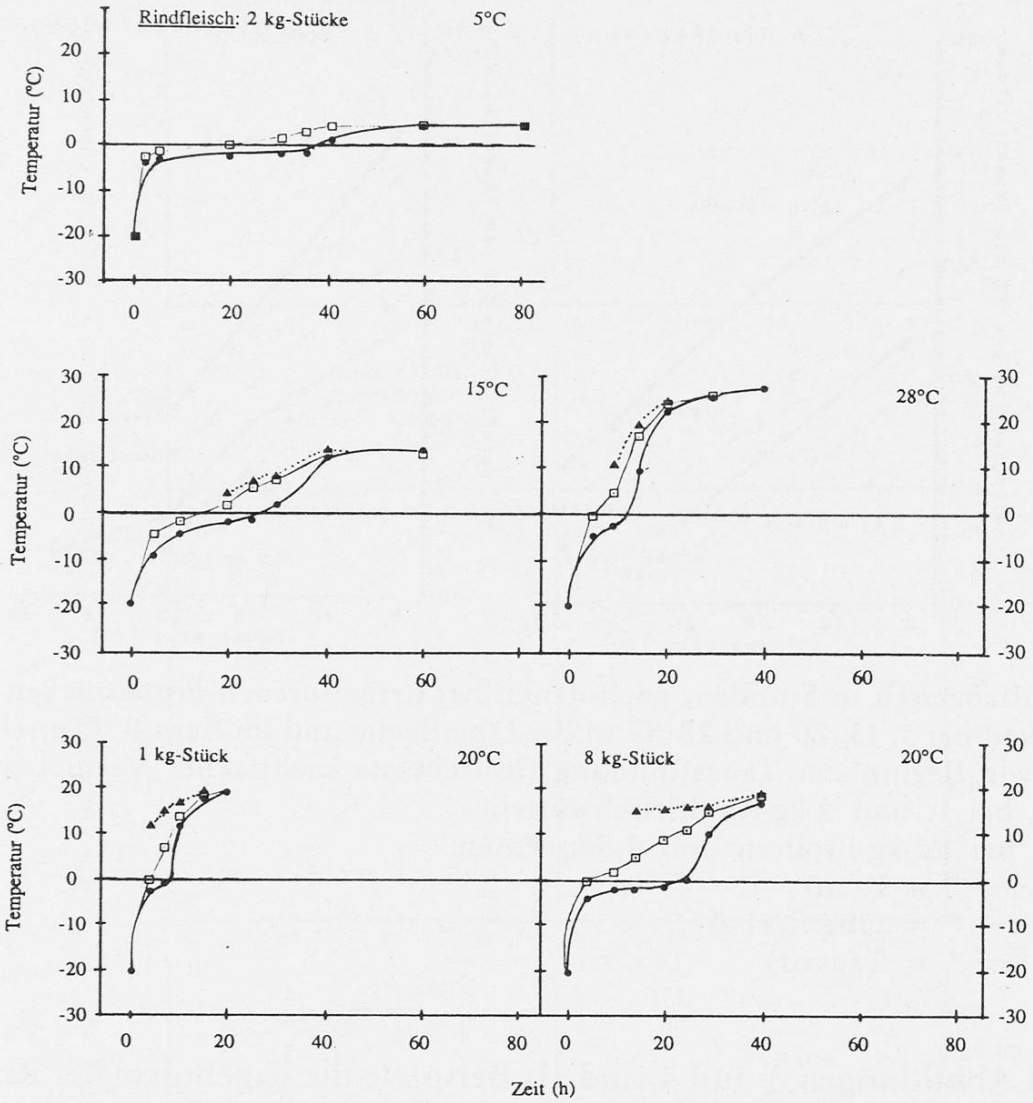

Abb. 1. Temperaturverlauf an der Oberfläche, im Kern und im Tausaft von tiefgefrorenen 2-kg-Rindfleischwürfeln beim Auftauen bei 5, 15 und 28 °C sowie von 1- und 8-kg-Probestücken bei 20 °C
(● —— ● = Kern)
(□ —— □ = Oberfläche)
(▲ . . . . ▲ = Tausaft)

Bakterienvermehrung während des Auftauens

Bei allen Auftauversuchen wurden mehrfach jeweils zwei weitgehend gleiche Probestücke unter identischen Bedingungen vorbehandelt, eingefroren und aufgetaut. Eines diente zur Temperaturmessung, das andere ohne Temperaturson-

den zur mehrfachen Probenahme aus der Oberflächenschicht und – soweit vorhanden – vom Tausaft. Neben den Gesamtkoloniezahlen wurden zusätzlich noch die Koloniezahlen der Pseudomonaden und Enterobakteriazeen bestimmt.

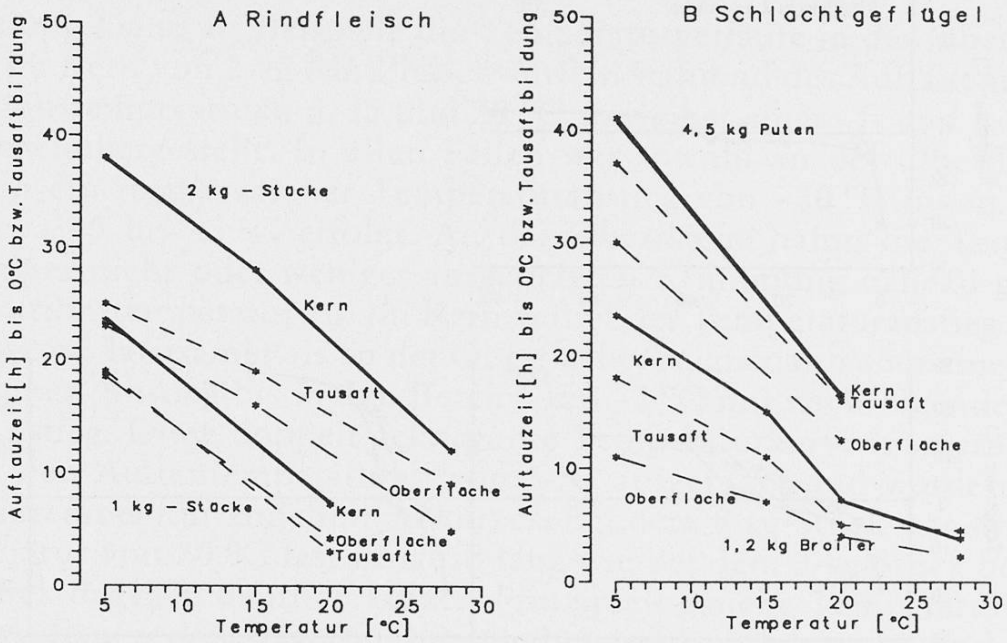

Abb. 2. Auftauzeiten in Stunden, nach denen bei tiefgefrorenen Probestücken nach Auftauen bei 5, 15, 20 und 28 °C an der Oberfläche und im Kern 0 °C erreicht wurde, sowie Beginn der Tausaftbildung (Mittelwerte mehrfacher Versuchsserien)
A. bei 1- und 2-kg-Rindfleischwürfeln
B. bei 1,2-kg-Broilern und 4,5-kg-Puten
(* —— * = Kern)
(* - - - * = Oberfläche)
(* ----- * = Tausaft)

In den Abbildungen 3 und 4 sind als Beispiele die Ergebnisse bei Rindfleischproben, in den Abbildungen 5 und 6 bei Geflügelschlachtkörpern gegeben. Dabei sind im oberen Teil jeweils die Gesamtkoloniezahlen (GKZ) und der Temperaturverlauf in der Oberflächenschicht bzw. Haut, im unteren Teil die Gesamtkoloniezahlen im Tausaft sowie die Temperaturverläufe im Tausaft und in der Mitte der Probestücke in Abhängigkeit von der Auftauzeit aufgezeichnet.

Beim *Auftauen bei 5 °C* waren bei allen Probestücken die Gesamtkoloniezahlen in der Oberfläche 30 bis 60 h nach Auftaubeginn konstant, die Koloniezahlen der Pseudomonaden und Enterobakteriazeen dagegen bis nach 34 Tagen unter 50 KBE cm^{-2} geblieben. Nur bei den Puten lagen die Koloniezahlen der Pseudomonaden zunächst zwei Zehnerpotenzen unter den Gesamtkoloniezahlen und zeigten, nachdem im Kern 0 °C erreicht war, einen deutlichen Anstieg um zwei Zehnerpotenzen und hatten nach 65 h nahezu die Höhe der Gesamtkoloniezahlen erreicht (Abb. 6). Auch im Tausaft war in keinem Fall eine signifikante Zunahme der Gesamt- und Enterobakteriazeen-Koloniezahlen, sondern, nachdem

0 °C im Kern erreicht war, ähnlich wie beim Puter in der Haut, eine geringe Zunahme der sehr niedrigen Pseudomonaden-Koloniezahlen zu verzeichnen (Abb. 5 und 6).

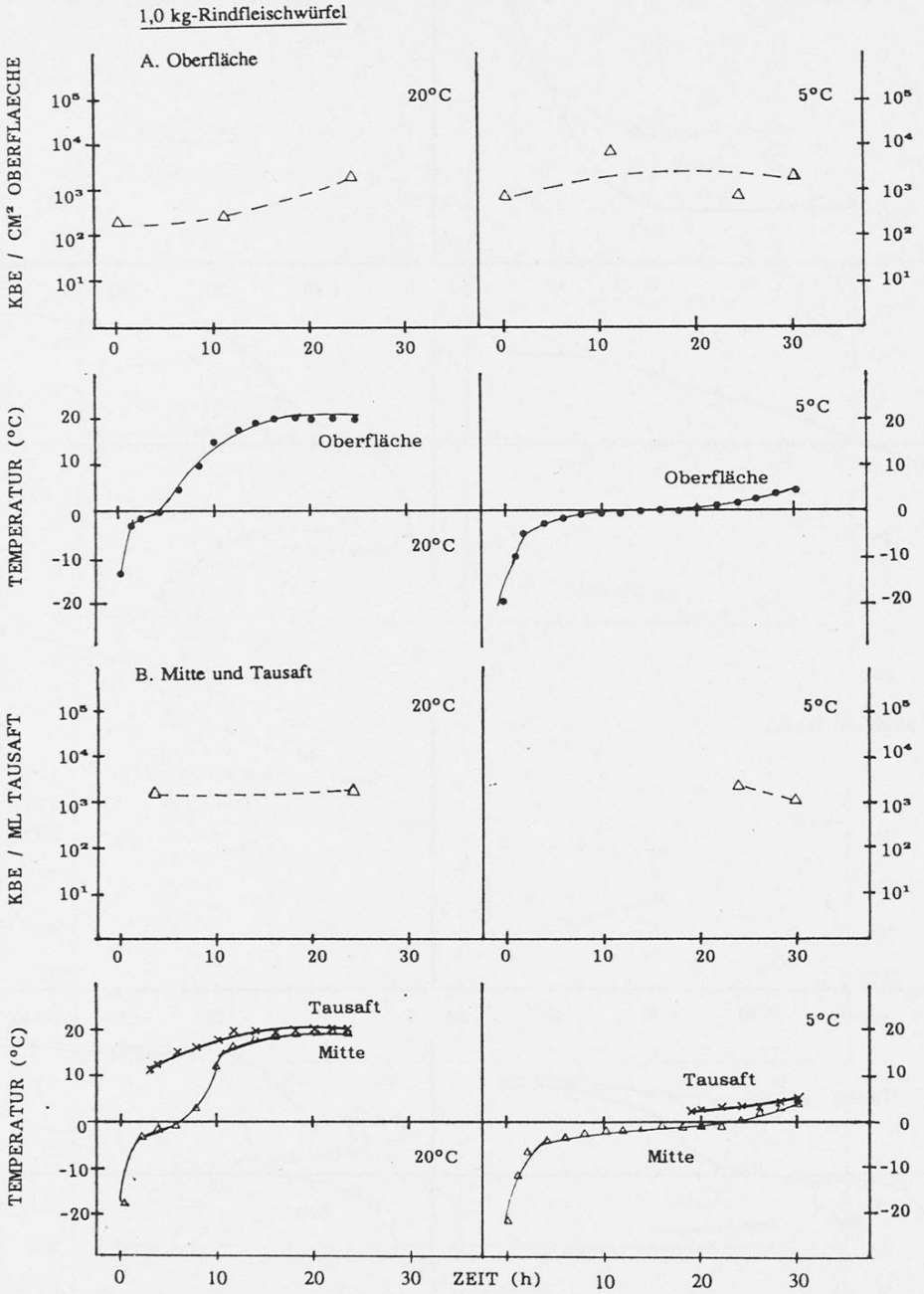

Abb. 3. 1-kg-Rindfleischwürfel, Temperaturverlauf und Gesamtkoloniezahlen während des Auftauens der tiefgefrorenen Probestücke bei 5 und 20 °C
A. in der Oberflächenschicht
B. im Tausaft und Kern (nur Temperaturen)
(△ - - - - - △ = Gesamt-Koloniezahlen)

Beim *Auftauen bei 15 °C* der 2-kg-Rindfleischstücke und Broiler setzte ein Anstieg der Gesamtkoloniezahlen in den Oberflächenschichten bzw. Haut und im Tausaft ebenso wie beim Auftauen bei 5 °C erst ein, nachdem in Oberfläche und Kern die Expositionstemperatur von 15 °C erreicht war.

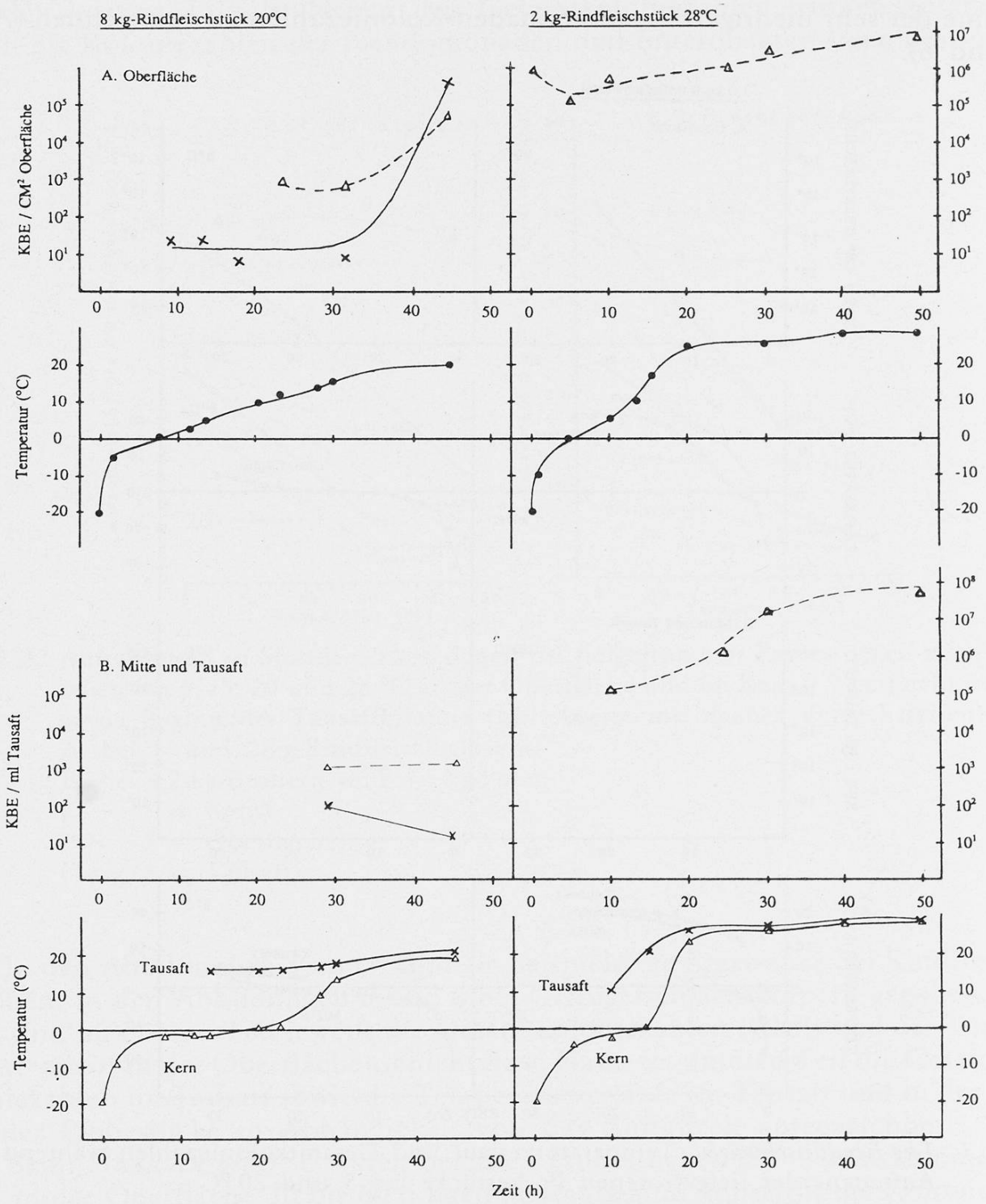

Abb. 4. 8- und 2-kg-Rindfleischproben, Temperaturverlauf, Gesamt- und Pseudomonaden-Koloniezahlen während des Auftauens der tiefgefrorenen Probestücke bei 20 und 28 °C

A. in der Oberflächenschicht

B. im Tausaft und Kern (nur Temperaturen)

(△ ----- △ = Gesamt-Koloniezahl)

(X —— X = Pseudomonaden)

Bei den *Auftautemperaturen von 20 und 28 °C* war bei allen geprüften Probestücken eine Zunahme der Gesamtkoloniezahlen sowohl in den Oberflächenschichten bzw. Haut als auch im Tausaft erst einige Stunden, nachdem 0 °C im Kern erreicht war, nachweisbar.

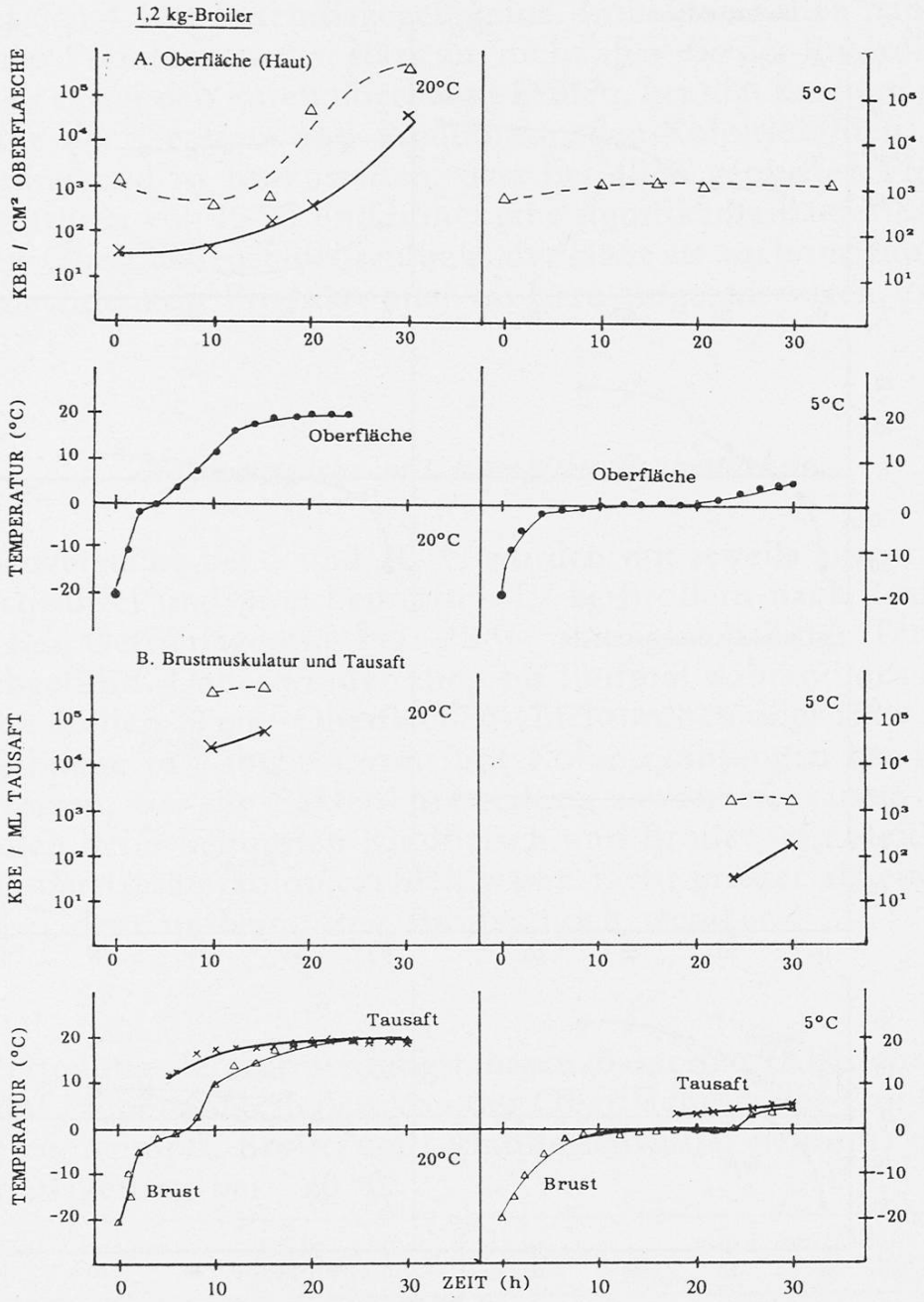

Abb. 5. 1,2-kg-Broiler, Temperaturverlauf, Gesamt- und Pseudomonaden-Koloniezahlen während des Auftauens der tiefgefrorenen Probestücke bei 5 und 20 °C
A. in der Haut
B. im Tausaft und Kern (nur Temperaturen)
(△ ----- △ = Gesamt-Koloniezahl)
(X —— X = Pseudomonaden)

Bei den 1-kg-Rindfleischstücken (Abb. 3) war bei 20 °C die Zunahme relativ gering. Bei den 8-kg-Stücken gab es im Tausaft keine, dagegen in den Oberflächenschichten eine deutliche Zunahme der Gesamtkoloniezahlen um zwei Zehnerpotenzen und der Pseudomonaden-Koloniezahlen um vier Zehnerpotenzen, allerdings erst nach über 40 h nach Auftaubeginn (Abb. 4).

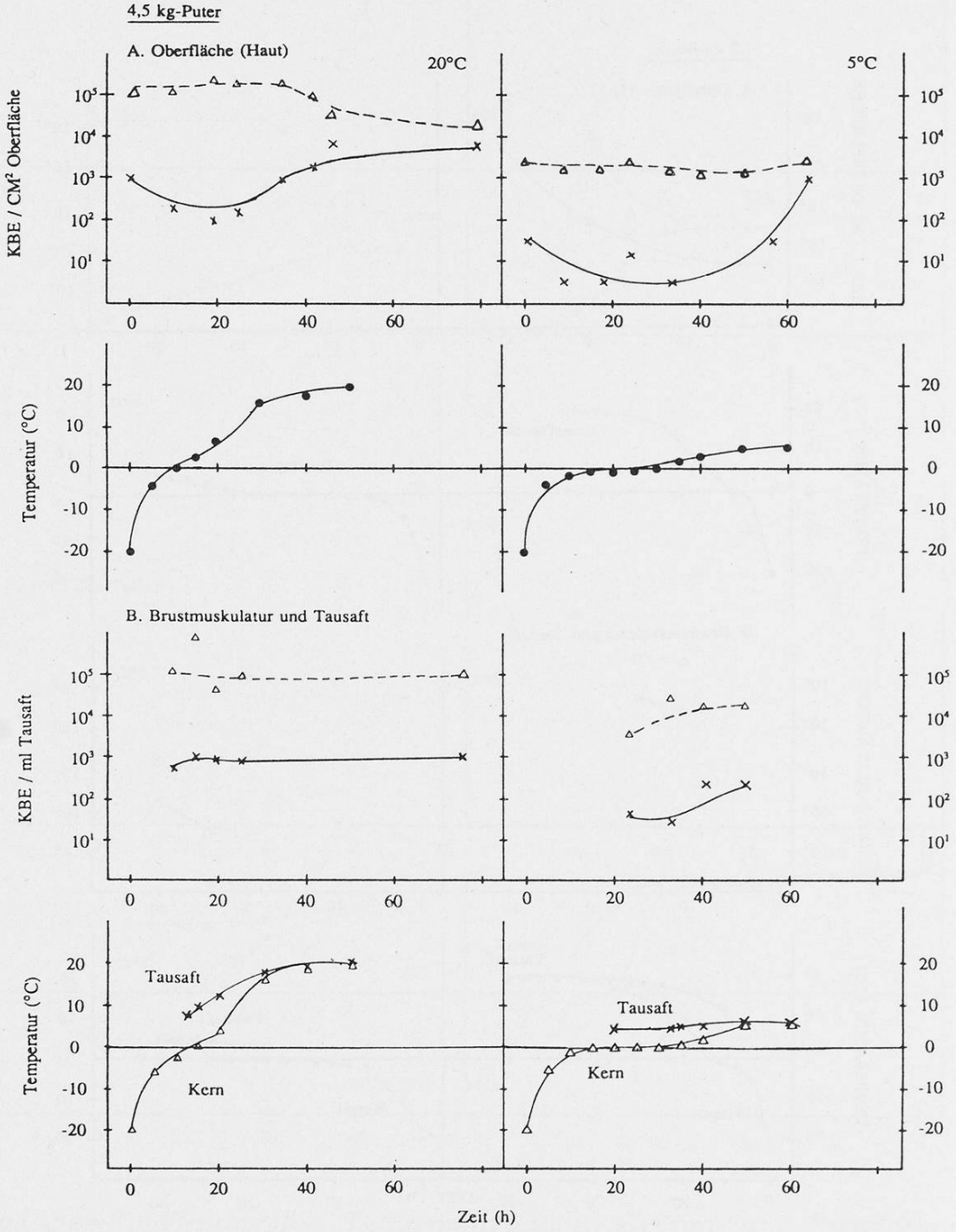

Abb. 6. 4,5-kg-Puter, Temperaturverlauf, Gesamt- und Pseudomonaden-Koloniezahlen während des Auftauens der tiefgefrorenen Probestücke bei 5 und 20 °C
A. in der Haut
B. im Tausaft und Kern (nur Temperaturen)
(△ ----- △ = Gesamt-Koloniezahl)
(X —— X = Pseudomonaden)

Bei den bei 28 °C aufgetauten 2-kg-Rindfleischstücken, die auf der Oberfläche mit über 10^6 KBE cm^{-2} aussergewöhnlich hoch kontaminiert waren, war nach Erreichen von 0 °C im Kern eine deutliche Zunahme der Koloniezahlen vor allem im Tausaft erfolgt (Abb. 4).

Bei den Broilern war beim Auftauen bei 20 °C einige Stunden nachdem im Kern 0 °C erreicht war, eine stärkere Zunahme der Gesamtkoloniezahlen zu verzeichnen, bei den 4,5-kg-Puten dagegen keine. In beiden Fällen nahmen die Koloniezahlen der Pseudomonaden stark zu, nicht aber die der Enterobakteriazeen. Im Tausaft gab es bei den Puten überhaupt keinen, bei den Broilern nur einen geringen Anstieg der Gesamt- und Pseudomonaden-Koloniezahlen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass bei allen geprüften Produkten und Auftautemperaturen von 15 °C und höher eine signifikante Bakterienvermehrung sowohl in den Oberflächenschichten bzw. der Haut als auch im Tausaft erst einige Stunden, nachdem die Produkte auch im Kern aufgetaut waren, eingesetzt hatte.

Auftauversuche mit beimpften Probestücken

Die Auftauversuche bei 5 und 20 °C wurden mit jeweils einem beimpften 1-kg-Rindfleischwürfel und zwei beimpften 1,2-kg-Broilern nach 24stündiger und nach 3 Wochen Gefrierlagerung bei –20 °C ohne gleichzeitige Temperaturmessungen durchgeführt. Dabei wurden drei- bis fünfmal während des Auftauens an verschiedenen Stellen 10 cm^2 Oberflächenschichtproben oder Haut entnommen. Wie die Ergebnisse in Tabelle 1 von fünf Koloniezählungen bei jeweils einem Probestück zeigen, war die Bakterienverteilung sowohl bei einem unbeimpften Broiler als auch beim beimpften Rindfleisch und Broiler sehr gleichmässig. Die Unterschiede der Gesamtkoloniezahlen waren nicht grösser als eine halbe Zehnerpotenz, bei dem umbeimpften Broiler noch weniger.

Tabelle 1. Verteilung der vermehrungsfähigen Bakterien (KBE cm^{-2}) bei jeweils fünf Probenahmestellen von der Oberfläche dreier Probestücke (Broiler unbeimpft, Broiler und Rindfleischwürfel beimpft) nach 24 h Gefrierlagerung bei –20 °C

Probenahme Stellen-Nr.	Broiler unbeimpft	mit *E. coli* beimpft Broiler	Rindfleischwürfel
1	$1{,}9 \times 10^3$	$3{,}9 \times 10^4$	$6{,}8 \times 10^4$
2	$2{,}0 \times 10^3$	$4{,}0 \times 10^4$	$7{,}7 \times 10^4$
3	$1{,}3 \times 10^3$	$4{,}3 \times 10^4$	$1{,}5 \times 10^5$
4	$1{,}6 \times 10^3$	$1{,}6 \times 10^4$	$1{,}3 \times 10^5$
5	$2{,}5 \times 10^3$	$2{,}5 \times 10^4$	$8{,}2 \times 10^4$

Rindfleisch

Bei den *Rindfleischproben* war bei allen drei Teststämmen beim Auftauen bei 5 °C auch nach 30 h weder auf der Oberfläche noch im Tausaft eine Vermehrung nachweisbar (Abb. 7–9). Die Gesamtkoloniezahlen waren ebenfalls konstant geblieben und lagen in gleicher Grössenordnung wie die der aufgeimpften drei Arten. Die Koloniezahlen der Pseudomonaden lagen mit 10^3 KBE cm^{-2} überall sehr niedrig.

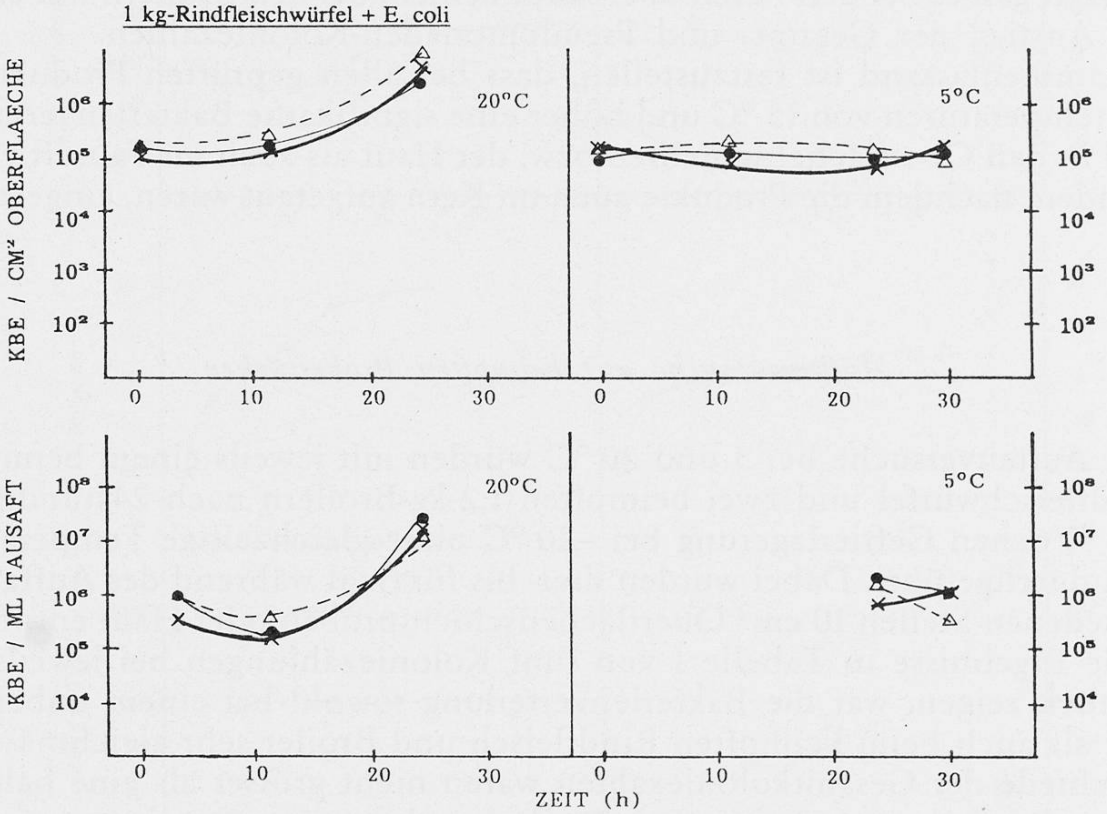

Abb. 7. 1-kg-Rindfleischwürfel mit E. coli beimpft. E. coli-Koloniezahlen in der Oberflächenschicht und im Tausaft während des Auftauens der Probestücke bei 5 und 20 °C nach 24stündiger Gefrierlagerung bei –20 °C
(X —— X auf VRBG-Agar, ● —— ● TSA + VRBG-Agar = mit 2 h Resuscitation auf Trypton-Soja-Agar, △ ----- △ TSB + VRBG-Agar, mit 2 h Resuscitation in Trypton-Soja-Bouillon)

Beim Auftauen bei 20 °C war bei *S. enteritidis* und *L. innocua* nach 24 h praktisch keine Vermehrung und auch keine Zunahme der Gesamtkoloniezahlen erfolgt. Nur im Tausaft war in beiden Fällen nach 24 h ein deutlicher Anstieg der Pseudomonaden-Koloniezahlen bis auf 10^5 KBE ml^{-1} nachweisbar (Abb. 9).

Nur bei *E. coli* setzte 12 h nach Auftaubeginn, das heisst also erst 5 h nachdem im Kern 0 °C erreicht war und die Probestücke voll aufgetaut waren, eine deutliche Vermehrung sowohl an der Oberfläche als auch im Tausaft ein. Gleichzeitig

war eine Zunahme der Pseudomonaden auf etwa 10^5 bzw. 10^6 KBE cm^{-2} bzw. ml^{-1} zu verzeichnen. Insgesamt lagen die Koloniezahlen im Tausaft stets etwa eine Zehnerpotenz höher als an der Oberfläche.

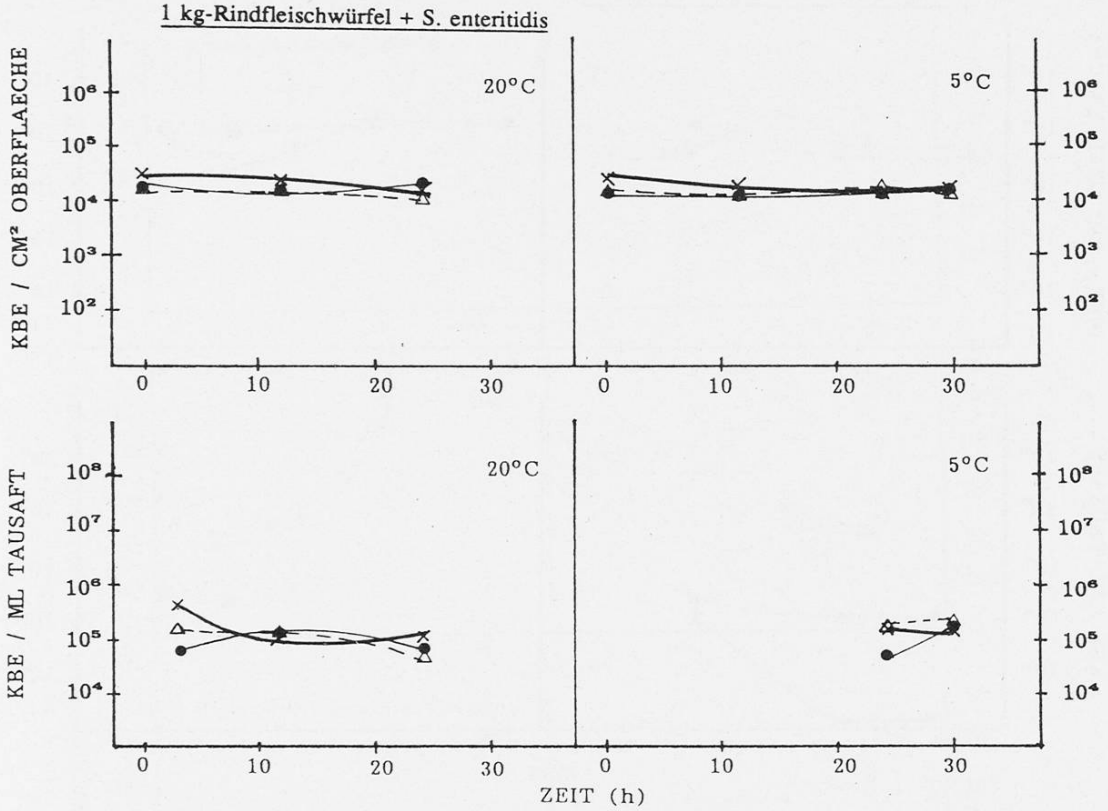

Abb. 8. 1-kg-Rindfleischwürfel mit S. enteritidis beimpft, S. enteritidis-Koloniezahlen in der Oberflächenschicht und im Tausaft während des Auftauens der Probestücke bei 5 und 20 °C nach 24stündiger Gefrierlagerung bei -20 °C (X —— X TSI auf Dreizukkereisenagar, ● —— ● BG + Res. nach.1 h auf Brilliantgrün-Agar, △ ----- △ BG auf modifiziertem Brilliantgrün-Agar)

Nach 3wöchiger Gefrierlagerung war bei den mit *E. coli* und *L. innocua* beimpften Probestücken die Ergebnisse nahezu gleich wie in den Abbildungen 7 und 9 für die nur 24 h bei -20 °C gelagerten Proben dargestellt. Bei den mit *S. enteritidis* beimpften Proben war keine Nachprüfung nach 3 Wochen Gefrierlagerung erfolgt.

Sowohl bei *E. coli* als auch bei *S. enteritidis* wurden mit den angewandten jeweils drei verschiedenen Nachweisverfahren nahezu identische Koloniezahlen erhalten.

Broiler

Bei den beimpften *Broilern* war bei der Expositionstemperatur von 5 °C ebenfalls keine Vermehrung erfolgt. Bei der Auftautemperatur von 20 °C war die 12 h nach Auftaubeginn einsetzende Vermehrung deutlich stärker als bei den Rindfleischproben (Abb. 10—12). Ausserdem war bei den mit *E. coli* und *S. enteritidis*

beimpften Probestücken eine deutliche Wirkung der 3wöchigen Gefrierlagerung zu verzeichnen.

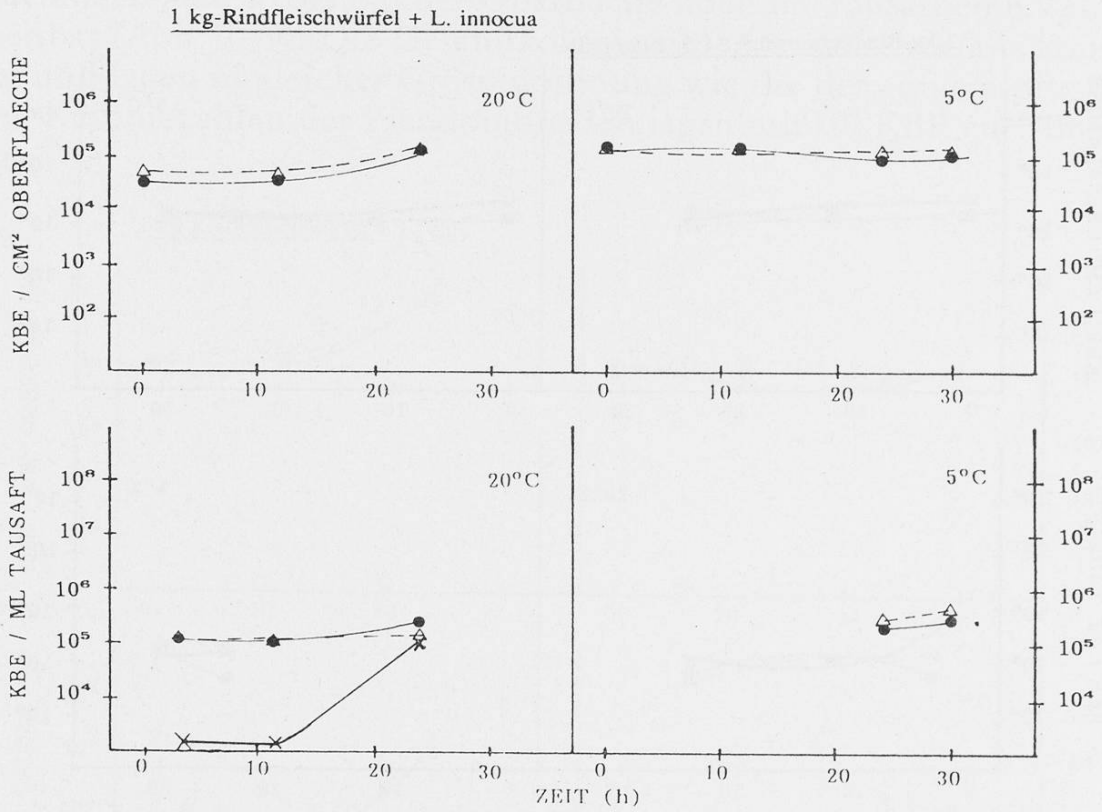

Abb. 9. 1-kg-Rindfleischwürfel mit L. innocua beimpft, Gesamt-, Pseudomonaden- und *L. innocua*-Koloniezahlen in der Oberflächenschicht und im Tausaft während des Auftauens der Probestücke bei 5 und 20 °C nach 24stündiger Gefrierlagerung bei –20 °C
(● —— ● L. innocua, X —— X Pseudomonaden, △ ----- △ Gesamtkoloniezahlen)

Nur bei den mit *L. innocua* beimpften Broilern war der Verlauf der Koloniezahlen während des Auftauens bei 5 und 20 °C bei den 24 h und 3 Wochen tiefgefrorenen Proben weitgehend gleich. Im Tausaft waren bei beiden Auftautemperaturen die Koloniezahlen um über zwei Zehnerpotenzen höher als in der Haut. Beim Auftauen bei 20 °C nahmen 12 h nach Auftaubeginn neben *L. innocua* vor allem die Koloniezahlen der Pseudomonaden stark zu (Abb. 12).

Bei den mit *E. coli* beimpften und 24 h bei –20 °C tiefgefrorenen Broilern setzte bei der Auftautemperatur von 20 °C etwa 12 h nach Auftaubeginn im Tausaft eine starke Vermehrung von *E. coli* ein. In der Haut war die Vermehrung deutlich langsamer (Abb. 10A). In den 3 Wochen tiefgefrorenen Proben lagen die *E. coli*-Koloniezahlen in der Haut eine Zehnerpotenz niedriger (Abb. 10B) und zeigten lediglich nach der Resuscitations-Methode mit zweistündiger Vorbrütung in einem Flüssignährboden (TSB + VRBG) eine deutliche Zunahme. Im Tausaft lagen die *E. coli*-Koloniezahlen nach 3 Wochen Gefrierlagerung in gleicher Grös-

senordnung wie bei den nur 24 h eingefrorenen Proben. Die nach 12 h einsetzende Vermehrung war nur bei der TSB + VRBG-Methode gleich stark wie bei den kürzer eingefrorenen Proben, bei den beiden anderen Verfahren deutlich langsamer.

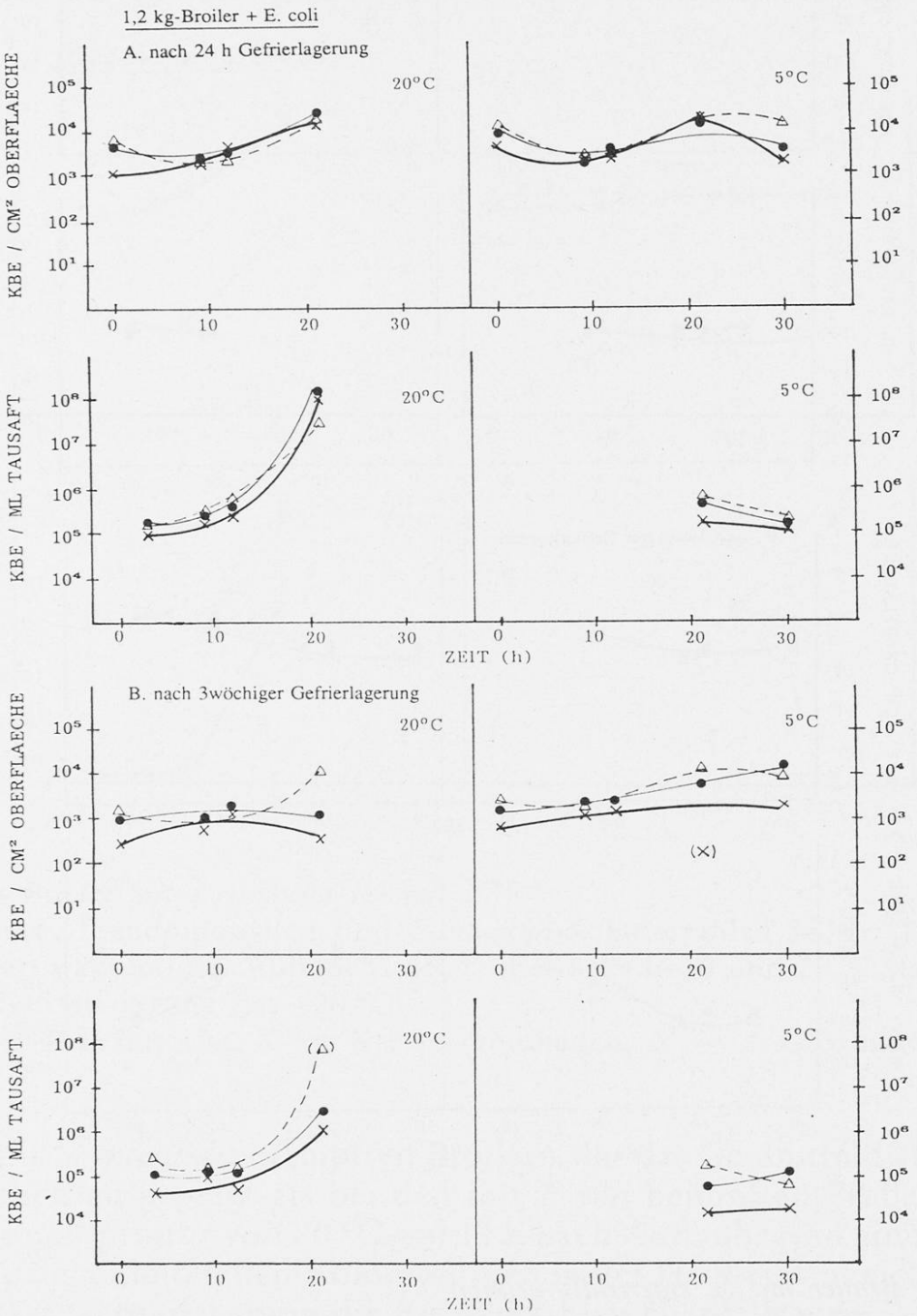

Abb. 10. *1,2-kg-Broiler mit E. coli beimpft, E. coli*-Koloniezahlen in der Haut und im Tausaft während des Auftauens der Probestücke bei 5 und 20 °C
A. nach 24stündiger Gefrierlagerung bei –20 °C
B. nach dreiwöchiger Gefrierlagerung bei –20 °C
(X —— X auf VRBG-Agar, ● —— ● TSA + VRBG-Agar mit 2 h Resuscitation auf Trypton-Soja-Agar, △ ----- △ TSB + VRBG-Agar mit 2 h Resuscitation in Trypton-Soja-Bouillon)

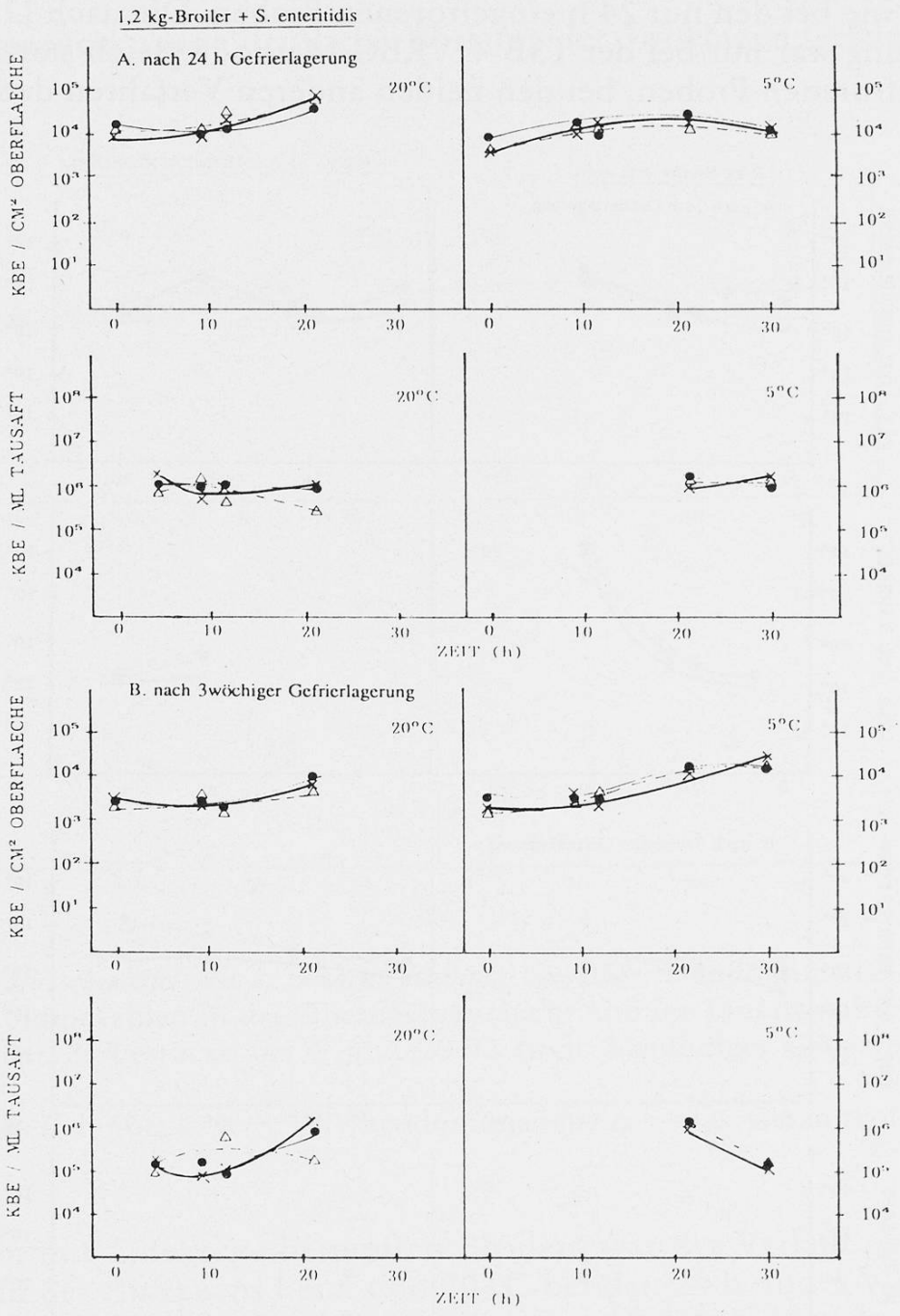

Abb. 11. *1,2-kg-Broiler mit S. enteritidis beimpft*
S. enteritidis-Koloniezahlen in der Haut und im Tausaft während des Auftauens der Probestücke bei 5 und 20 °C
A. nach 24stündiger Gefrierlagerung bei –20 °C
B. nach dreiwöchiger Gefrierlagerung bei –20 °C
(X —— X) TSI auf Dreizuckereisenagar
(● —— ●) BG + Res. nach 1 h Resuscitation auf Resuscitation Agar Brilliantgrün-Agar
(△ ----- △) BG auf modifiziertem Brilliantgrün-Agar

Bei der Auftautemperatur von 5 °C lagen nach 3wöchiger Gefrierlagerung die *E. coli*-Koloniezahlen in Haut und Tausaft ebenfalls annähernd eine Zehnerpotenz niedriger als bei den nur 24 h tiefgefrorenen Proben. Sie nahmen aber in der Haut während der 30stündigen Auftauzeit fast um eine Zehnerpotenz zu.

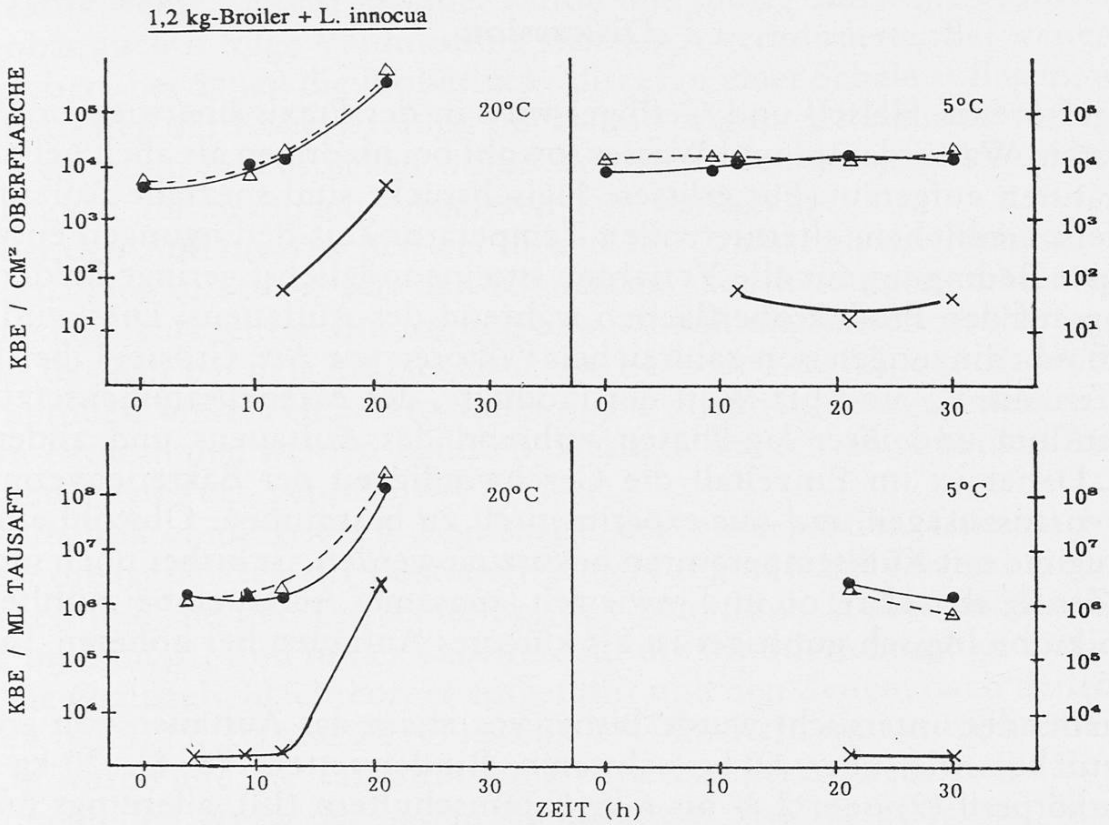

Abb. 12. 1,2-kg-Broiler mit L. innocua beimpft
Gesamt-, Pseudomonaden und *L. innocua*-Koloniezahlen in der Haut und im Tausaft während des Auftauens der Probestücke bei 5 und 20 °C nach 24stündiger Gefrierlagerung bei –20 °C
(● —— ● L. innocua, X —— X Pseudomonaden, △ ----- △ Gesamtkoloniezahlen)

Bei den mit *S. enteritidis* beimpften Broilern war das Gesamtbild ähnlich, aber weniger deutlich ausgeprägt als bei den mit *E. coli* beimpften Proben (Abb. 11). Bei der Auftautemperatur von 20 °C war 12 h nach Auftaubeginn eine nur schwache Zunahme der Salmonellen-Koloniezahlen in der Haut zu verzeichnen, wobei nach 3wöchiger Gefrierlagerung die Koloniezahlen ebenfalls eine Zehnerpotenz niedriger lagen. Dasselbe war für die Koloniezahlen im Tausaft der Fall. Dabei war in den 24 h gefrorenen Proben im Tausaft keine Zunahme der Salmonellen-Koloniezahlen nachweisbar, in den 3 Wochen gefrorenen Proben setzte sie etwa 12 h nach Auftaubeginn ein.

Beim Auftauen bei 5 °C war nach dreiwöchiger Gefrierlagerung ein ähnlicher Effekt wie bei den mit *E. coli* beimpften Proben nachweisbar, das heisst um etwa eine Zehnerpotenz niedrigere Salmonellen-Koloniezahlen in der Haut zu Auf-

taubeginn mit einer Wiederzunahme um eine Zehnerpotenz innerhalb 30 h nach Auftaubeginn. Im Tausaft nahmen die Salmonellen dagegen ab.

Diskussion

Tiefgefrorenes Fleisch und Geflügel wird in der Praxis überwiegend in Luft, aber auch in Wasserdampf und Wasser sowohl bei niedrigen als auch bei höheren Temperaturen aufgetaut. Für grössere Fleischstücke sind spezielle Auftauregime mit unterschiedlichen, alternierenden Temperatur-Zeit-Bedingungen entwickelt. Wichtigste Bedingung für alle Verfahren ist eine möglichst geringe Bakterienvermehrung auf den Produktoberflächen während des Auftauens. Dies wird neben den Auftaubedingungen von zahlreichen Faktoren wie Art, Grösse, Oberflächenbeschaffenheit, a_w- und pH-Wert der Produkte, der Artenzusammensetzung der Bakterienflora und ihrer lag-Phasen während des Auftauens und anderen bestimmt. Daher ist im Einzelfall die Geschwindigkeit der Bakterienvermehrung schwer vorauszusagen und nur experimentell zu bestimmen. Obwohl allgemein Auftauregime mit Kühltemperaturen bevorzugt werden, ist bisher noch nicht einmal eindeutig abgeklärt, ob und inwieweit langsames Auftauen bei Kühltemperaturen mikrobiologisch günstiger ist als kürzeres Auftauen bei höheren Temperaturen (5).

Eingehender untersucht wurde bisher vor allem das Auftauen von grösseren Fleischstücken wie über 50 kg schweren Rindervierteln (6—8), 20-kg-Lamm-Schlachtkörpern (9) oder 2,8- bis 6-kg-Lammschultern (10), allerdings mehr aus technologischer und weniger aus mikrobiologischer Sicht. *Klose* et al. (11) prüften das Auftauen von 2,5 bis 12 kg schweren Puten bei Auftautemperaturen von 12, 22 und 25 °C.

In den zahlreichen Untersuchungen über die letalen und subletalen Wirkungen von Gefrieren und Auftauen bei Bakterien wie insbesondere Enterobakteriazeen wurden dagegen immer nur wenige Milliliter oder Gramm der in Wasser (12—15), Nährlösungen (2, 3), Milch (16), Rind- und Geflügelhackfleisch (4) oder auf dünnen Fleischscheiben suspendierten (17) Testbakterien und damit vergleichsweise nur sehr kurze Auftauzeiten geprüft.

Bei den hier untersuchten 1,2 und 4 kg schweren Fleisch- und Geflügelproben, wie sie in Haushalts- und Restaurantküchen wahrscheinlich am häufigsten aufgetaut werden, erfolgten die Probenahmen zur Bestimmung der Oberflächen-Koloniezahlen immer nur vom gleichen Probestück, um mögliche Unterschiede der Ausgangskeimbelastung von Parallelproben auszuschliessen. Bei Broilern gleicher Herstellungschargen ist nach eigenen Erfahrungen (18) zwar mit sehr gleichmässiger Aussenkontamination zu rechnen. Trotzdem kann beim Bezug im Einzelhandel die Keimbelastung sehr unterschiedlich sein, wie das Beispiel der gleichzeitig gekauften, bei 5 und 20 °C aufgetauten Puten in Abbildung 6 zeigt. Dagegen war die Keimbelastung über der gesamten Oberfläche sowohl der einzelnen Rindfleischproben als auch der Broiler (18) sehr gleichmässig. Bei den

beimpften Probestücken konnten die Oberflächenproben von jeweils zwei parallel aufgetauten Broilern entnommen werden, weil durch das Eintauchen in die Testbakteriensuspension eine sehr gleichmässige Keimverteilung erreicht wurde. Beim gesondert aufgefangenen Tausaft konnten bei den bei 20 °C aufgetauten Geflügelschlachtkörpern (Abb. 5, 6) nur wenige Analysen durchgeführt werden, da relativ wenig Tausaft gebildet wurde und dieser durch die Probenahmen und offenbar auch infolge Verdunstung sich rasch verminderte. Bei weiteren Auftauversuchen, bei denen die Probestücke direkt in einer Schale auflagen, war ein weiterer Anstieg der Koloniezahlen im Tausaft wie in der Haut zu verzeichnen. Bei den beimpften Probestücken wurde weit mehr Tausaft gebildet und stand genügend auch für mehrfache Analysen zur Verfügung.

Bei den Auftauversuchen bei 15 und 28 °C mussten die Probestücke zur Probeentnahme kurzfristig aus den Klimaschränken herausgenommen werden, wodurch eine kurzzeitige Erwärmung bzw. Abkühlung unvermeidbar war. Dies war nicht der Fall bei den Auftauversuchen bei 5 und 20 °C, bei denen die Oberflächenproben ohne Temperaturänderungen direkt in den begehbaren Klimakammern entnommen werden konnten. Deshalb wurden diese beiden Auftautemperaturen bevorzugt geprüft.

Die mikrobiologischen Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen, das heisst die lag-Phasen der Bakterienvermehrung in h bei den unbeimpften Probestücken und die der Testkeime bei den beimpften Proben in den Oberflächen und im Tausaft, sind in der Tabelle 2 für die Rindfleischproben und in Tabelle 3 für die Geflügelschlachtkörper aufgeführt und den Zeiten, nach denen beim Auftauen bei 5, 15, 20 und 28 °C jeweils 0 °C im Kern und an den Oberflächen erreicht wurde und die Tausaftbildung einsetzte, gegenübergestellt. Es sind die experimentellen Werte der in den Abbildungen 3—12 dargestellten einzelnen Auftauversuche, die teilweise von den in Abbildung 2 aufgeführten Mittelwerten mehrfacher Versuchsserien etwas abweichen. Insgesamt sind es nur Anhaltswerte, die bei den 1-kg-Proben um ± 1 h, bei den 2- bis 4-kg-Stücken um ± 3 bis 4 h variieren können.

Bei der Auftautemperatur von 5 °C setzte die Bakterienvermehrung erst nach vielen Stunden, nachdem auch im Kern 5 °C erreicht war, ein. Beim Auftauen bei 15 °C begann die Bakterienvermehrung erst 30 bis 50 h nach Auftaubeginn. Bei der Auftautemperatur von 20 °C setzte die Bakterienvermehrung bei den 1-kg-Probestücken 10 bis 12 h, bei den 2-, 4,5- und 8-kg-Stücken erst 24 bis 30 h nach Auftaubeginn ein. Beim Auftauen bei 28 °C dauerte es bei den 1,2-kg-Broilern 9 h und bei den 2-kg-Rindfleischproben 12 bis 18 h, bis im Tausaft bzw. auf den Oberflächen eine Bakterienvermehrung einsetzte.

Während die Auftauzeiten exakt bestimmbar waren, konnten die lag-Zeiten bis zum Beginn der Bakterienvermehrung nach den experimentellen Werten nur ungefähr abgeschätzt werden, insbesondere wenn, wie bei den 1-kg-Rindfleischwürfeln bei 20 °C, die Koloniezahlen 24 h nach Auftaubeginn nur um annähernd eine Zehnerpotenz zugenommen hatten (Abb. 3). Beim Tausaft lagen die Zeiten der beginnenden Bakterienvermehrung nach Beginn der Tausaftbildung in annähernd gleicher Grössenordnung und waren oft noch erheblich länger.

Tabelle 2. 1- und 2-kg-Rindfleischwürfel, 24 h bei –20 °C tiefgefroren. Zeiten in Stunden nach denen bei den Auftautemperaturen von 5, 15, 20 und 28 °C im Kern und an der Oberfläche 0 °C erreicht wurde, Beginn der Tausaftbildung und lag-Phasen der Bakterienvermehrung bei unbeimpften und beimpften Probestücken unter diesen Auftaubedingungen (Werte für 5, 20 und 28 °C aus den Abb. 3, 4, 7–9)

	Zeiten in h bei den Auftautemperaturen von			
	5 °C	15 °C	20 °C	28 °C
1-kg-Würfel				
0 °C im Kern	24		7	
0 °C auf Oberfläche	19		4	
lag-Phase GKZ auf Oberfläche	> 24		12	
lag-Phase *E. coli* (10^5) auf Oberfläche			12	
lag-Phase *S. enteritidis* (10^4) auf Oberfläche			> 24	
lag-Phase *L. innocua* (10^4) auf Oberfläche	> 30		12	
Beginn Tausaftbildung	19		3	
lag-Phase GKZ im Tausaft	> 30		> 24	
lag-Phase *E. coli* (10^6)			12	
lag-Phase *S. enteritidis* (10^5)			> 24	
lag-Phase *L. innocua* (10^5)	> 30		> 12	
2-kg-Würfel			(8 kg)	
0 °C im Kern	38	28	20	15
0 °C auf Oberfläche	20	16	8	5
lag-Phase GKZ auf Oberfläche	100	50	30	18
Beginn Tausaftbildung	25	20	14	10
lag-Phase GKZ im Tausaft	> 160	50	> 30	12

Abweichend davon blieben bei den Puten beim Auftauen bei 5 und 20 °C die Gesamtkoloniezahlen in der Haut und im Tausaft konstant oder nahmen sogar ab. Dafür war eine deutliche Zunahme der Pseudomonaden zu verzeichnen. Durch Gefrieren und Auftauen wie auch durch längere Gefrierlagerung werden vor allem die gramnegativen Bakterien geschädigt, so dass dann in der Flora aufgetauter Produkte grampositive Bakterien dominieren (5, 19–21). Offensichtlich konnten sich die gramnegativen Bakterien während des Auftauens in der Putenhaut und im Tausaft nicht vermehren. Dies erfolgt wahrscheinlich nur beim Auftauen grösserer Fleischstücke bei Kühltemperaturen mit weit längeren Auftauzeiten, wobei sich dann eine Mischflora aus Milchsäurebakterien und Pseudomonaden ergeben kann (8).

Eine deutliche lag-Phase der Vermehrung nach dem Auftauen wurde bereits mehrfach sowohl bei Bakterien-Reinkulturen (22, 23) als auch bei tiefgefrorenem

Fleisch (23, 24) beobachtet. Dies ist zweifellos die Hauptursache dafür, dass auch bei höheren Auftautemperaturen die Bakterienvermehrung auf der Oberfläche erst einige Stunden später, nachdem die Produkte auch im Kern völlig aufgetaut sind, beginnt. Dagegen kann im Tausaft die Vermehrung sofort ohne lag-Phase einsetzen, wie das Beispiel der 2-kg-Rindfleischwürfel beim Auftauen bei 28 °C zeigt (Abb. 4). Dies war aber offenbar doch eine Ausnahme, weil hier ungewöhnlich hoch kontaminiertes Fleisch verwandt wurde. Bei allen anderen Proben war die lag-Phase im Tausaft deutlich länger als an der Oberfläche, weil die Tausaftbildung meist später einsetzte als auf der Oberfläche 0 °C erreicht war.

Tabelle 3. 1,2-kg-Broiler und 4,5-kg-Puten, 24 h bei −20 °C tiefgefroren. Zeiten in Stunden, nach den bei den Auftautemperaturen von 5, 15, 20 und 28 °C im Kern und in der Haut 0 °C erreicht wurde, Beginn der Tausaftbildung und lag-Phasen der Bakterienvermehrung bei unbeimpften und beimpften Probestücken unter diesen Auftaubedingungen (Werte für 5 und 20 °C aus den Abb. 5 und 6)

	Zeiten in h bei den Auftautemperaturen von			
	5 °C	15 °C	20 °C	28 °C
Broiler (1,2 kg)				
0 °C im Kern	20	15	7	4
0 °C in der Haut	12	7	4	2
lag-Phase GKZ in der Haut	> 30	30	12	9
lag-Phase *E. coli* (10^3) in der Haut			12	
lag-Phase *S. enteritidis* (10^4) in der Haut			12	
lag-Phase *L. innocua* (10^4) in der Haut	> 30		10	
Beginn der Tausaftbildung	18	12	5	5
lag-Phase GKZ im Tausaft	> 30	40	10	9
lag-Phase *E. coli* (10^5) im Tausaft			12	
lag-Phase *S. enteritidis* (10^6) im Tausaft			> 22	
lag-Phase *L. innocua* (10^6) im Tausaft	> 30		12	
Puter (4,5 kg)				
0 °C im Kern	30		17	
0 °C in der Haut	25		12	
lag-Phase GKZ in der Haut	> 65		> 75	
lag-Phase Pseud.-KZ in der Haut	42		24	
Beginn Tausaftbildung	24		11	
lag-Phase GKZ im Tausaft	25		> 75	
lag-Phase Pseud.-KZ im Tausaft	35		> 75	

Besonders bemerkenswert ist, dass die drei Testbakterien trotz sehr hoher Anfangskeimzahlen in der Grössenordnung von durchschnittlich 10^4 KBE cm^{-2} beim

Auftauen bei 20 °C gleich lange lag-Phasen – 12 h gerechnet vom Auftaubeginn – hatten wie die Gesamtkoloniezahlen bei den unbeimpften Probestücken. Nur bei *L. innocua* auf den Broilern war die lag-Phase mit etwa 10 h etwas kürzer und bei *S. enteritidis* beim Rindfleisch sehr viel länger. Dass auf der Oberfläche und im Tausaft des Rindfleisches im Gegensatz zu den Broilern nur eine relativ schwache Vermehrung von *S. enteritidis* und *L. innocua* erfolgte, dürfte auf den relativ niedrigen pH-Wert zurückzuführen sein. Nach *Grau* (25) wurden auf Rindfleisch mit niedrigerem pH-Wert (<6,0) bei 25 °C die lag-Phasen von *E. coli* und *S. typhimurium* zunehmend länger und die Vermehrungsgeschwindigkeit langsamer. Insgesamt war auf der Oberfläche die Vermehrung relativ langsam. Nach 21 bis 24 h hatten die Koloniezahlen der Testbakterien lediglich um ein bis zwei, im Tausaft aber um zwei bis drei Zehnerpotenzen zugenommen. Wahrscheinlich ist dafür eine partielle Austrocknung verantwortlich, da die Luft in der Klimakammer nicht auf einen höheren Feuchtigkeitsgehalt eingestellt war. Die Tausaftbildung setzte bei 20 °C bereits 3 bis 4 h nach Auftaubeginn ein, weil die Oberflächen Wasser aus der Beimpfungslösung aufgenommen hatten. Gleichzeitig resultierte daraus eine stärkere Keimanreicherung. Im Tausaft lagen die Koloniezahlen bei allen drei Teststämmen über eine bis zwei Zehnerpotenzen höher als an den Oberflächen. Warum sowohl beim Rindfleisch als auch den Broilern beim Auftauen bei 20 °C auch 21 bis 24 h nach Auftaubeginn keine Vermehrung von *S. enteritidis* im Tausaft erfolgte, ist vorerst nicht zu erklären. Möglicherweise setzte die Vermehrung erst danach ein und wurde nicht mehr erfasst.

Ostovar und *Bremier* (26) fanden beim Auftauen von tiefgefrorenen Fleisch- und Geflügelprodukten und Fertiggerichten in Portionspackungen 12 h nach dem Auftauen bei 26 ± 2 °C eine Zunahme der Koloniezahlen von *Staphylococcus aureus* um zwei Zehnerpotenzen. Da solche Produkte bei 26 °C bereits in weniger als einer Stunde aufgetaut sind, dürften dabei die lag-Phasen zwischen 7 und 9 Stunden gedauert haben, also ähnlich wie hier für die Gesamtkoloniezahlen in der Haut von unbeimpften Broilern beim Auftauen bei 28 °C gefunden wurde. Nach einigen zusätzlichen Versuchen (Ergebnisse nicht dargestellt) ist auch bei mit *S. enteritidis* beimpften Broilern beim Auftauen bei 28 °C mit einer lag-Phase der Vermehrung in der Grössenordnung von 9 bis 10 h nach Auftaubeginn zu rechnen.

Hervorzuheben ist, dass bei den psychrotrophen Listerien beim Auftauen bei 5 °C auch 30 h nach Auftaubeginn keine Vermehrung nachweisbar war.

Die hier zum quantitativen Nachweis von *E. coli* angewandten Verfahren zur Wiederbelebung von durch das Gefrieren und Auftauen subletal geschädigter Zellen ergaben mit einer Ausnahme gleiche Koloniezahlen wie auf dem selektive Substanzen enthaltenden VRBG-Agar. Dasselbe war bei Anwendung der von *White* and *Hall* (4) für den Nachweis von Salmonellen in tiefgefrorenem Rindfleisch und Geflügel empfohlenen beiden Resuscitations-Verfahren im Vergleich zu dem Indikatormedium ohne Hemmstoffe der Fall. Lediglich bei den mit *E. coli* beimpften und drei Wochen bei –20 °C gelagerten Proben waren 21 h nach Auftaubeginn mit der 2stündigen Vorbebrütung des Homogenisates nach *Mossel* (3) vor allem im Tausaft um zwei Zehnerpotenzen höhere Koloniezahlen nach-

weisbar. Dies ist sicherlich nicht zu werten, weil hier wahrscheinlich eine zusätzliche Vermehrung der sich im Tausaft gerade in der log-Phase befindlichen Zellen in der Vorbebrütungslösung erfolgt war.

Insgesamt war nach der Beimpfung der Probestücke keine Bestimmung der Ausgangskoloniezahlen in den frischen, ungefrorenen Proben erfolgt. Es war daher auch keine Aussage darüber möglich, ob und inwieweit die Keime durch Gefrieren und Auftauen geschädigt wurden. Bei den nur 24 h bei –20 °C eingefrorenen Proben wurden mögliche subletale Schäden offenbar in der nährstoffreichen Oberflächenschicht bzw. Haut und im Tausaft im Laufe der relativ langen Auftauzeiten wieder regeneriert. Dagegen war bei den drei Wochen bei –20 °C gelagerten und mit *E. coli* oder *S. enteritidis* beimpften Broilern die Reduktion der Anfangskoloniezahlen um annähernd eine Zehnerpotenz beim Auftauen bei 20 °C und auch 5 °C offensichtlich auf die schädigende Wirkung längerer Gefrierlagerung zurückzuführen. Eine mit der Gefrierlagerdauer zunehmenden Inaktivierung hatten bereits *Mackey* et al. (17) bei *E. coli* in Rindfleisch und *Schmidt* (27) bei Salmonellen im Schweinehackfleisch beobachtet. Der Wiederanstieg der Koloniezahlen von *E. coli* und *S. enteritidis* in der Broilerhaut ausschliesslich beim Auftauen bei 5 °C ist sicherlich nicht auf eine Vermehrung, sondern auf eine zunehmende Regeneration der Gefrierlagerungsschäden zurückzuführen. Dafür spricht auch, dass bei den mit *E. coli* beimpften Broilern die nach den beiden Wiederbelebungsverfahren erhaltenen Koloniezahlen etwas höher als auf dem hemmstoffhaltigen VRBG-Agar lagen. Warum dies nicht beim Rindfleisch erfolgt war, bleibt vorerst unklar.

Die hier bei den unbeimpften und beimpften Probestücken angewandte Auftautemperatur von 20 °C entspricht am ehesten den praktischen Bedingungen in Haushalts- und Restaurantküchen, in denen vor allem tiefgefrorenes Geflügel meist über Nacht bei Raumtemperatur aufgetaut wird. Mit Ausnahme weniger Hochsommerwochen dürften unter europäischen Verhältnissen in unklimatisierten Räumen die Nachttemperaturen durchschnittlich bei 20 °C und tiefer und seltener höher liegen.

Die hier angegebenen Zeiten vom Auftaubeginn bis zum Erreichen einer Kerntemperatur von 0 °C einerseits und bis zum Beginn der Bakterienvermehrung andererseits gelten für bei –20 °C tiefgefrorene 1- bzw. 2-kg-Rindfleischwürfel oder 1,2-kg-Broiler bzw. 4,5-kg-Puten ohne Innereien. Bei anderen Formaten, Gewichten, Produkten oder Gefriertemperaturen sind Abweichungen davon in der Grössenordnung von wenigen Stunden möglich. Insgesamt ist eine ausreichende Sicherheit gegeben, dass keine signifikante Bakterienvermehrung auf der Oberfläche oder im Tausaft erfolgt, solange beim Auftauen eine Kerntemperatur zwischen 0 °C und 10 bis 12 °C nicht überschritten wird.

Die Produkte wurden hier der Einfachheit halber wie allgemein üblich als aufgetaut bezeichnet, wenn im Kern 0 °C erreicht war. Der Gefrierpunkt von Muskelfleisch liegt aber im Bereich von –1,0 °C. Zur küchentechnischen Verarbeitung muss tiefgefrorenes Fleisch und Geflügel aber nicht unbedingt vollständig aufgetaut werden, sondern kann noch leicht gefroren oder auch nur angetaut sein (28). Danach wäre beim Auftauen bei 5 °C eine Weiterverarbeitung von 1-kg-

Stücken bereits 12 bis 16 h, der 2- bis 4-kg-Stücke 15 bis 20 h und beim Auftauen bei 20 °C 5 bzw. 10 h nach Auftaubeginn möglich.

Konsequenzen für die Praxis

- Das Auftauen grösserer tiefgefrorener Fleischstücke und Geflügel bei Kühltemperaturen von 5 bis 10 °C ist das hygienisch sicherste Verfahren, weil die Vermehrung von Bakterien einschliesslich Listerien erst lange Zeit nachdem die Produkte völlig aufgetaut sind, einsetzt.
- Aber auch das Auftauen bei Raumtemperaturen von 18 bis 20 °C ist nach den vorliegenden Ergebnissen hygienisch noch ausreichend sicher, sofern bei 1 kg schweren Stücken eine Auftauzeit von etwa 8 bis 10 h, bei 2 bis 4 kg schweren Stücken von 15 bis 20 h nicht überschritten wird, weil die Bakterienvermehrung erst einige Stunden später beginnt. Sofern es küchentechnisch möglich ist, sind die Produkte nur anzutauen oder es ist nach etwa 6 h nach Auftaubeginn wiederholt zu kontrollieren, bis die Stücke aufgetaut sind und sie dann sofort weiter zu verarbeiten.
- Das eigentliche hygienische Risiko beim Auftauen ist die Kontamination der Umgebung und damit anderer Lebensmittel durch Tausaft und die aufgetauten Oberflächen. Das Auftauen muss in gesonderten Gefässen, das Vorbereiten der aufgetauten Stücke auf separaten, glatten Oberflächen erfolgen. Der Tausaft ist vorsichtig zu verwerfen. Alle benutzten Gefässe, Oberflächen und auch die Hände sind nach Abschluss der küchentechnischen Verarbeitung besonders sorgfältig zu reinigen. Bei Schlachtgeflügel ist gegebenenfalls noch eine Desinfektion anzuschliessen, insbesondere wenn eine grössere Anzahl gleichzeitig verarbeitet wird.

Zusammenfassung

Beim Auftauen von tiefgefrorenen (–20 °C) 1-kg-Rindfleischwürfeln und 1,2-kg-Broilern wurde bei den Auftautemperaturen von 5, 15, 20 und 28 °C eine Kerntemperatur von 0 °C nach 24, 15, 7 und 4 h gemessen; bei 2-kg-Rindfleischwürfeln und 4,5-kg-Puten nach 35, 28, 17 und 15 h. Die Bakterienvermehrung auf den Oberflächen und im Tausaft begann beim Auftauen bei 5 und 15 °C erst über 20 bzw. 15 h später, beim Auftauen bei 20 und 28 °C frühestens 5 h später.

Bei mit *E. coli, S. enteritidis* und *L. innocua* beimpften (10^4 KBE cm^{-2}) und tiefgefrorenen 1-kg-Rindfleischwürfeln und 1,2-kg-Broilern erfolgte beim Auftauen bei 5 °C keine Vermehrung der Testkeime auf der Oberfläche und im Tausaft. Beim Auftauen bei 20 °C begann die Vermehrung von *E. coli* 12 h, von *S. enteritidis* 12 bis 24 h und von *L. innocua* 10 h nach Auftaubeginn.

Das Auftauen grösserer tiefgefrorener Stücke bei Raumtemperatur ist danach hygienisch ausreichend sicher, sofern nur solange aufgetaut wird, bis im Kern 0 °C bis 10 °C nicht überschritten wird, was bei einem 1-kg-Stück ungefähr zwischen 7 und 10 h dauert.

Résumé

Lors de la décongélation de 1 kg de viande de bœuf en cubes et de 1,2 kg de viande de poulet d'engraissement (température de congélation –20 °C), la température au centre de 0 °C a été obtenue pour des températures ambiantes de 5, 15, 20 et 28 °C après 24, 15, 7 et 4 h respectivement. Pour 2 kg de viande de bœuf en cubes et 4,5 kg de dinde, le 0 °C a été atteint pour les mêmes températures ambiante respectivement après 35, 28, 17 et 15 h. Après le dégel, la multiplication des bactéries en surface et dans le jus de décongélation ne débuta, pour les températures ambiantes de 5 et 15 °C qu'après 20 et 15 h respectivement, et pour les températures de 20 et 28 °C pas avant un laps de 5 h.

Pour les morceaux de bœuf (1 kg) et de poulet d'engraissement (1,2 kg) inoculés avec *E. coli, S. enteritidis* et *L. innocua* (10^4 CFU cm^{-2}) puis congelés, aucune croissance de germes mentionnés ne se manifesta en surface et dans le jus pendant la décongélation à 5 °C. A 20 °C un début de croissance s'observa 12 h après le commencement de la décongélation pour *E. coli,* après 12–24 h pour *S. enteritidis* et après 10 h pour *L. innocua* respectivement.

La décongélation de morceaux plus grands à température ambiente (18 – 20 °C) est alors hygiéniquement sûre, pour autant que la température au centre ne dépasse pas 0 °C à 10 °C, ce qui dure 7 à 10 heures pour 1 kg de viande.

Summary

During thawing of deep frozen (–20 °C) 1 kg beef cubes and 1.2 kg broilers, a core temperature of 0 °C was reached at temperatures of 5, 15, 20 and 28 °C after 24, 15, 7 and 4 hours of thawing. In 2 kg beef portions and 4.5 kg turkeys, 0 °C in the cores was obtained after 35, 28, 17 and 15 hours of thawing. Multiplication of bacteria on the surfaces and in the drip juice started only 20 or 15 hours later at thawing temperatures of 5 and 15 °C, and 5 hours later at 20 and 28 °C resp.

No bacterial replication was observed during thawing at 5 °C on deep frozen 1 kg beef cubes and 1.2 kg broilers contaminated before freezing with 10^4 CFU cm^{-2} *E. coli, S. enteritidis* and *L. innocua.* During thawing at 20 °C, however, bacterial multiplication commenced after 12 hours with *E. coli,* 12 to 24 hours with *S. enteritidis,* and 10 hours with *L. innocua.*

Thawing of larger pieces of deep frozen meat or poultry at room temperature is therefore sufficiently safe as long as the core temperature of the meat does not exceed 0 °C to 10 °C, which lasts about 7 to 10 hours for a 1 kg piece.

Literatur

1. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 56, Mikrobiologie. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1985.
2. *Speck, M. L.* and *Ray, B.:* Repair and enumeration of injured coliforms by a plating procedure. Appl. Microbiol. **29**, 549–550 (1975).
3. *Mossel, D. A. A., Veldman, A.* and *Eelderink, I.:* Comparison of the effects of liquid medium repair and the incorporation of catalase in MacConkey type media on the recovery of *Enterobacteriaceae* sublethally stressed by freezing. J. Appl. Bacteriol. **49**, 405–419 (1980).

4. *White, C. A.* and *Hall, L. P.:* The effect of temperature abuse on *Staphylococcus aureus* and *Salmonellae* in raw beef and chicken substrates during frozen storage. Food Microbiol. **1**, 29–38 (1984).
5. *Lowry, P. D.* and *Gill, C. O.:* Microbiology of frozen meat and meat products. In: Robinson, R. K. (ed.), Microbiology of frozen foods. Elsevier Applied Science Publishers, London and New York 1985.
6. *James, St. J., Creed, Ph. G.* and *Roberts, T. A.:* Air thawing of beef quarters. J. Sci. Food. Agric. **28**, 1109–1119 (1977).
7. *Heinz, G.:* Auftauen von Gefrierrindfleisch im Luftstrom. Fleischwirtschaft **82**, 315–318 (1972).
8. *Fournand, J.* et *Morand-Fehr, C.:* Evolution de la flore microbienne superficielle de la viande bovine suivant les méthodes de décongelation. Revue gén. Froid **64**, 1035–1041 (1973).
9. *Creed, Ph. G., Bailey, C., James, St. J.* and *Harding, C. D.:* Air thawing of lamb carcasses. J. Food Technol. **14**, 181–191 (1979).
10. *Vanichseni, S., Haughey, D. P.* and *Nottingham, P. M.:* Water- and airthawing of frozen lamb shoulders. J. Food Technol. **7**, 259–270 (1972).
11. *Klose, A. A., Lineweaver, H.* and *Palmer, H. H.:* Thawing turkeys and ambient air temperatures. Food Technol. **22**, 198–112 (1968).
12. *Ray, B., Janssen, D. W.* and *Busta, F. F.:* Characterization of the repair of injury induced by freezing *Salmonella anatum.* Appl. Microbiol. **23**, 803–809 (1972).
13. *Ray, B.* and *Speck, M. L.:* Repair of injury induced by freezing *Escherichia coli* as influenced by recovery medium. Appl. Microbiol. **24**, 258–263 (1972).
14. *Raccach, M.* and *Juven, B. J.:* Effect of suspending and plating media on the recovery of *Salmonella gallinarum,* following freezing and thawing. J. Food Technol. **11**, 221–228 (1976).
15. *Ray, B., Speck, M. L.* and *Dobrogozsz, W. J.:* Cell wall lipopolysaccharide damage in *Escherichia coli* due to freezing. Cryobiology **13**, 153–160 (1976).
16. *Janssen, D. W.* and *Busta, F. F.:* Injury and repair of several *Salmonella* serotypes after freezing and thawing in milk solids. J. Milk Food Technol. **36**, 520–522 (1973).
17. *Mackey, B. M., Derrick, C. M.* and *Thomas, J. A.:* The recovery of sublethally injured *Escherichia coli* from frozen meat. J. Appl. Bacteriol. **48**, 315–324 (1980).
18. *Gallo, L., Schmitt, R. E.* and *Schmidt-Lorenz, W.:* Microbial spoilage of refrigerated fresh broilers. I. Bacterial flora and growth during storage. Lebensm.-Wiss. Technol. **21**, 216–223 (1988).
19. *Schmidt-Lorenz, W.* und *Gutschmidt, J.:* Mikrobielle und sensorische Veränderungen gefrorener Lebensmittel bei Lagerung im Temperaturbereich von -2,5 °C bis -10 °C. Lebensm.-Wiss. Technol. **1**, 26–43 (1968).
20. *Schmidt-Lorenz, W.* und *Gutschmidt, J.:* Mikrobielle und sensorische Veränderungen gefrorener Brathähnchen und Poularden bei Lagerung im Temperaturbereich von -2,5 °C bis -10 °C. Fleischwirtschaft **49**, 1033, 1041 (1969).
21. *Schmidt-Lorenz, W.:* Über die Bedeutung der Anwesenheit von Mikroorganismen in gefrorenen und tiefgefrorenen Lebensmitteln. Lebensm.-Wiss. Technol. **9**, 263–273 (1976).
22. *Squires, R. W.* and *Hartsell, S. E.:* Survival and growth initiation of defrosted *Escherichia coli* as affected by frozen storage menstrua. Appl. Microbiol. **3**, 40–46 (1955).
23. *Sulzbacher, W. H.:* Effect of freezing and thawing on the growth of bacteria in ground meat. Food Technol. **6**, 341–348 (1952).

24. *Kitchell, A. G.* and *Ingram, M.:* A comparison of bacterial growth on fresh meat and frozen meat after thawing. Ann. Inst. Pasteur, Lille, **8**, 121–130 (1956).
25. *Grau, F. H.:* Growth of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* on beef tissue at 25 °C. J. Food Sci. **48**, 1700–1704 (1983).
26. *Ostovar, K.* and *Bremier, M. J.:* Effect of thawing on growth of *Staphylococcus aureus* in frozen covenience food times. J. Milk Food Technol. **38**, 337–339 (1975).
27. *Schmidt, U.:* Vorkommen und Verhalten von Salmonellen in Hackfleisch vom Schwein. Fleischwirtschaft **68**, 44–50 (1988).
28. *Wirth, F.:* Temperaturbehandlung von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft **60**, 13–16 (1980).

Prof. Dr. W. Schmidt-Lorenz
Institut für Lebensmittelwissenschaft
ETH-Zentrum
CH-8092 Zürich