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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 79 (1988)

Heft: 1

Artikel: Untersuchungen über die Hitzeinaktivierung von Alkalischer Phosphatase, Alpha-Amylase, Salmonella typhimurium, Salmonella senftenberg 775 W, Pseudomonas aeruginosa und Staphylococcus aureus in Eigelb = Examination of the thermal inactivation of alkaline...

Autor: Jäckle, Margrit / Geiges, O. / Schmidt-Lorenz, W.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982575

Nutzungsbedingungen

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

Conditions d'utilisation

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

Terms of use

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

Download PDF: 13.07.2025

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

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **79**, 69–89 (1988)
Eingegangen 31. August 1987. Angenommen 2. Oktober 1987

Untersuchungen über die Hitzeinaktivierung von Alkalischer Phosphatase, Alpha-Amylase, Salmonella typhimurium, Salmonella senftenberg 775 W, Pseudomonas aeruginosa und Staphylococcus aureus in Eigelb

Examination of the Thermal Inactivation of Alkaline Phosphatase, Alpha-Amylase, *Salmonella typhimurium, Salmonella senftenberg* 775 W, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in Egg Yolk

Margrit Jäckle, O. Geiges und *W. Schmidt-Lorenz*
Institut für Lebensmittelwissenschaft, Eidg. Technische Hochschule, Zürich

Einleitung

Anlass zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität in Eigelb gab Artikel 174 Absatz 3 der eidgenössischen Lebensmittelverordnung (1). Danach dürfen «Eier und Eiprodukte als pasteurisiert bezeichnet werden, wenn das angewandte Hitzeverfahren alle vegetativen pathogenen Mikroorganismen abgetötet hat. Das ist der Fall, wenn durch die Behandlung beim Eigelb die Phosphatase inaktiviert wurde.»

Nach Schweizerischem Lebensmittelbuch (2) soll das von *Schormüller* und *Hothorn* (3, 4) entwickelte Aceton-Trockenverfahren zur Phosphatase-Aktivitätsbestimmung in Eigelb angewandt werden. Dabei haben die Autoren (3) zwei Methoden beschrieben und darauf hingewiesen, dass in Eigelb sowohl die alkalische Phosphatase als auch die saure Phosphatase, die sich durch unterschiedliche pH-Optima unterscheiden, vorkommen. Im Schweizerischen Lebensmittelbuch (2) wird nicht angegeben, welche der beiden Phosphatasen als Leitenzym zum Nachweis der Eigelbpasteurisation zu bestimmen ist. In der Milchwirtschaft, in der die Inaktivierung der Phosphatase seit mehr als 50 Jahren als Nachweis für eine ausreichende Hitzebehandlung der Milch gilt, wird auf Restaktivitäten der alkalischen Phosphatase (*Lear* und *Foster* (5)) und nicht der wesentlich hitzeresistenteren sauren Phosphatase (*Jenness* und *Patton* (6)) geprüft.

Nach den Angaben von *Stadelman* und *Cotterill* (7) kann in Eigelb die Phosphatase durch eine im mikrobiologischen Sinne ausreichende Pasteurisation nicht inaktiviert werden. Daher wurde zusätzlich die Alpha-Amylase-Aktivität in

Eigelb nach Hitzebehandlung der Eigelbmasse bei unterschiedlichen Temperatur-Zeit-Bedingungen bestimmt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, wie bei den vorausgegangenen Untersuchungen bei Vollei (8), die Bestimmung der Kinetik der Hitzeinaktivierung der alkalischen Phosphatase und Alpha-Amylase sowie von vier potentiell pathogenen Bakterien in Eigelb. Aufgrund der Korrelation zwischen den Hitzeinaktivierungswerten der beiden Enzyme und den Testbakterien konnte dann die Eignung des Phosphatase- bzw. des Alpha-Amylase-Tests zum Nachweis einer ausreichenden Hitzebehandlung von Eigelb kritisch beurteilt werden.

Material und Methoden

Eiprodukte

- *Schaleneier* der Provenienz BRD; Klasse: A; Gewicht: 52–64 Gramm; Alter: 2–3 Monate.
- Abreiben der Eischalen mit 3%iger Formaldehydlösung vor dem Aufschlagen.
- Herstellung der Eigelbmasse durch manuelles Aufschlagen von je 7 Schaleneiern und sorgfältige manuelle Trennung von Eiweiss und Eigelb.
- Homogenisation der Eigelbmasse mit Ultra-Turrax-Stabmixer während 20 Sekunden bei 20 000 rpm.
- Nach der Hitzebehandlung Mischen der Eigelbmasse 1:1 (w/v) mit Verdünnungslösung (0,9% NaCl, 0,1% Tryptone) zur besseren Pipettierbarkeit.
- Industriell aufgeschlagene, unpasteurisierte *Eigelbprodukte,* gekühlt in 2-kg-Kartons (+ 4 °C), angeliefert bis 24 Stunden nach Herstellung im Erzeugerbetrieb.

Testbakterien

- *Salmonella typhimurium* ATCC 13311
- *Salmonella senftenberg* 775 W NCTC 9959
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442
- *Staphylococcus aureus* No. 120 (Labor für Lebensmittel-Mikrobiologie ETH Zürich; isoliert aus Teigwaren)

Bestimmung der alkalischen Phosphatase- und Alpha-Amylase-Aktivitäten in Eigelb

Alkalische Phosphatase

- Bestimmung nach der Methode von *Bernt* (9) mit Dinatrium-phenylphosphat (SIGMA 104-0) als Substrat.
- Einstellung des pH-Wertes der Puffer-Substrat-Lösung auf 9,9, dem pH-Optimum der Eigelbphosphatase (*Schormüller* und *Hothorn* (3, 4)).

– Inkubation des Testansatzes bei 40 °C während 40 Minuten.
– Berechnung der Aktivität nach photometrischer Messung der pro Zeiteinheit freigesetzten Menge 4-Nitrophenol in alkalischer Lösung bei 405 nm.

Alpha-Amylase

– Bestimmung mit dem Phadebas^{R}-Amylase-Test (Pharmacia, Batch No IH 75740) nach *Jäckle* und *Geiges* (10).

Beimpfung, Pasteurisation, Koloniezahlbestimmungen und Auswertung

Die Beimpfung des Eigelbs mit den Testbakterien, die Hitzebehandlung der Eigelbmassen in Pasteurisationsbeuteln bei Temperaturen zwischen 59,5 °C und 65,5 °C, die Koloniezahlbestimmungen sowie die Auswertung der ermittelten Daten erfolgten genau gleich wie von *Jäckle* et al. (8) bei den vorausgegangenen Untersuchungen von Vollei beschrieben.

Resultate

Bestimmung der alkalischen Phosphatase- und Alpha-Amylase-Aktivitäten in Eigelb

Bei zehn untersuchten Schaleneiern wurden im Vergleich zu 15 industriell hergestellten Eigelbmassen für beide Enzym-Aktivitäten (Abb. 1 und 2) höhere Durchschnittswerte und zugleich auch die niedrigsten und höchsten Aktivitätswerte gemessen.

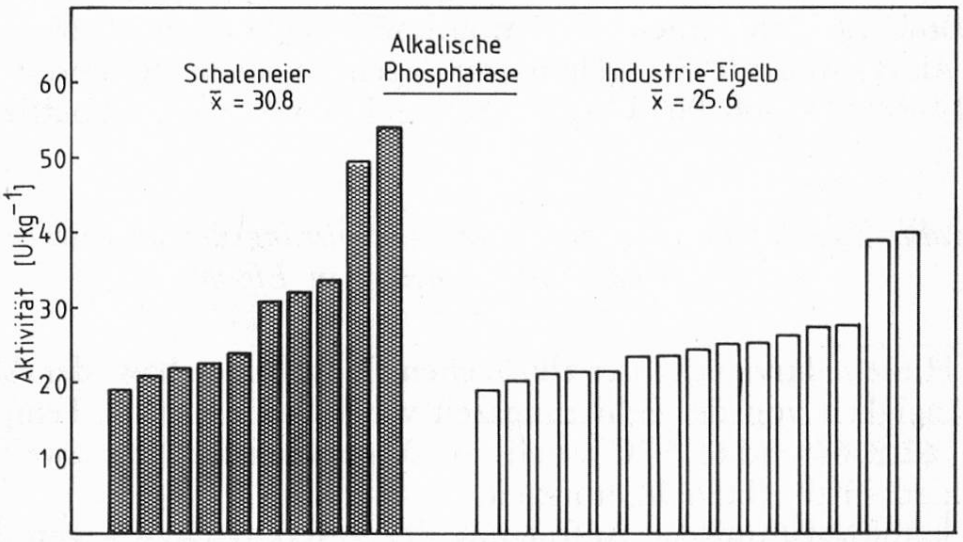


Abb. 1. Alkalische Phosphatase-Aktivität in Eigelb von 10 verschiedenen Schaleneiern und in 15 industriell hergestellten Eigelbmassen

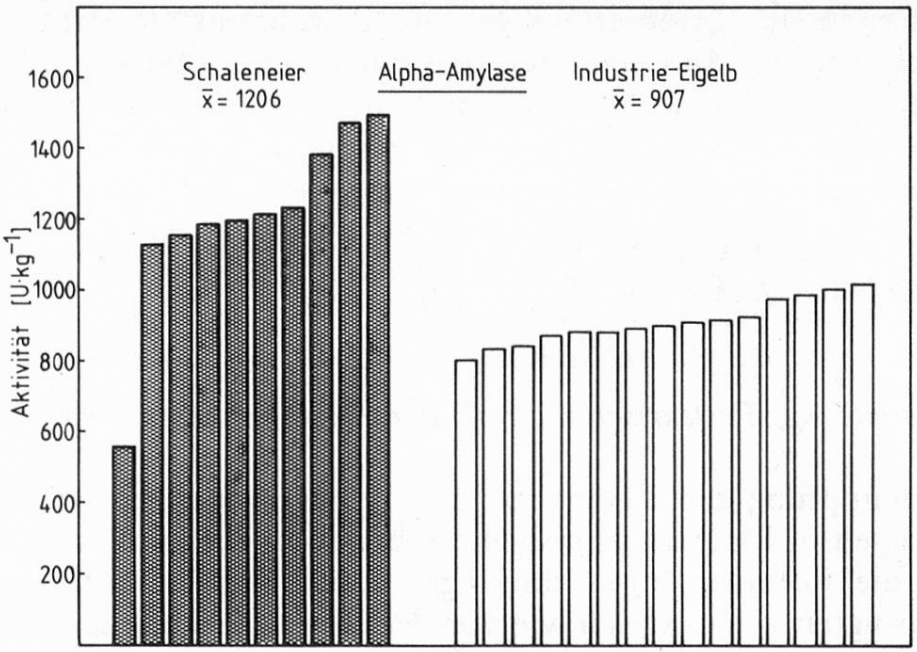


Abb. 2. Alpha-Amylase-Aktivität in Eigelb von 10 verschiedenen Schaleneiern und in 15 industriell hergestellten Eigelbmassen

Für die *alkalische Phosphatase* in Eigelb wurden bei den Schaleneiern bei insgesamt relativ niedrigen Aktivitäten mit Werten zwischen 19,0 und 54,1 U kg^{-1} erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Eiern nachgewiesen. Der Mittelwert betrug 30,8 U kg^{-1} mit einem Variationskoeffizienten von 40%.

Bei den industriell hergestellten Eigelbmassen wurde mit Werten zwischen 19,1 und 39,8 U kg^{-1} eine durchschnittliche Aktivität von 25,6 U kg^{-1} mit einer relativen Abweichung von 25% bestimmt.

In einem der zehn Schaleneier wurde mit nur 560 U kg^{-1} die niedrigste *Alpha-Amylase*-Aktivität in Eigelb überhaupt gemessen. In den anderen neun Eiern wurden Werte zwischen 1120 und 1497 U kg^{-1} ermittelt. Insgesamt betrug der Mittelwert 1206 U kg^{-1} mit einem Variationskoeffizienten von 22%.

Die Aktivitäten der 15 Eigelbmassen lagen zwischen 798 und 1013 U kg^{-1}. Bei einem Mittelwert von 907 U kg^{-1} ergab sich ein Variationskoeffizient von 7%.

Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Hitzeinaktivierung der alkalischen Phosphatase und Alpha-Amylase in Eigelb

Die Hitzeinaktivierung der alkalischen Phosphatase bzw. der Alpha-Amylase in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit wurde bei den fünf Temperaturen von 59,5, 61, 62,5, 64 und 65,5 °C jeweils im Doppel bei drei bzw. zwei Eigelbmassen unterschiedlicher Aktivität ermittelt.

Die halblogarithmische Auftragung der Restaktivitäten gegen die Zeit ergab bei allen geprüften Erhitzungstemperaturen Geraden, aus deren Steigungen dann die D-Werte ermittelt wurden. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse der

drei bzw. zwei Versuchsreihen mit jeweils unterschiedlichen Enzymaktivitäten der Eigelbmassen wurde für jede Bestimmung die Restaktivität als Prozent der Ausgangsaktivität (= 100%) berechnet und diese dann in den Abbildungen 3 und 4 in logarithmischem Massstab (log %-Aktivität) gegen die Zeit aufgetragen.

Als Beispiel für die experimentell bestimmte Kinetik der Hitzeinaktivierung der *alkalischen Phosphatase* sind in Abbildung 3 für die Temperaturen von 62,5 und 64 °C die Mittelwerte wie auch die Extremwerte der prozentualen Restaktivitäten aus den drei Einzelbestimmungen angegeben.

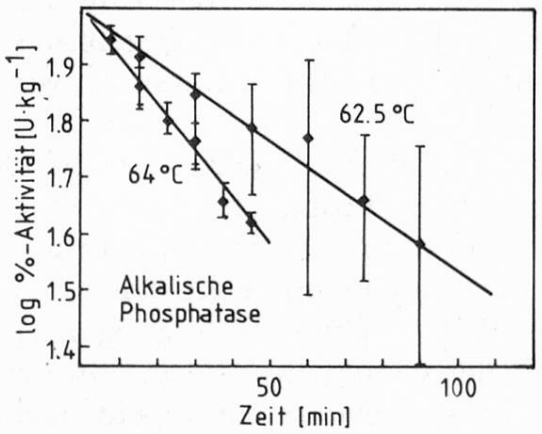


Abb. 3. Inaktivierung der alkalischen Phosphatase in Eigelb bei den Pasteurisationstemperaturen von 62,5 und 64 °C in Abhängigkeit von der Pasteurisationszeit (Restaktivitäten berechnet als Prozent der Ausgangsaktivität [= 100%]; Mittel- und Extremwerte aus 3 Versuchsreihen)

In Abbildung 4 sind die Inaktivierungskurven der alkalischen Phosphatase für alle fünf geprüften Erhitzungstemperaturen dargestellt.

Wenn das Eigelb in den Pasteurisationsbeuteln bei Temperaturen von 62,5, 64 bzw. 65,5 °C länger als 105, 45 bzw. 20 Minuten erhitzt wurde, war die Restaktivität der alkalischen Phosphatase infolge Koagulation der Eigelbmasse nicht mehr bestimmbar. Bei diesen Temperatur-Zeit-Bedingungen wurde das Enzym

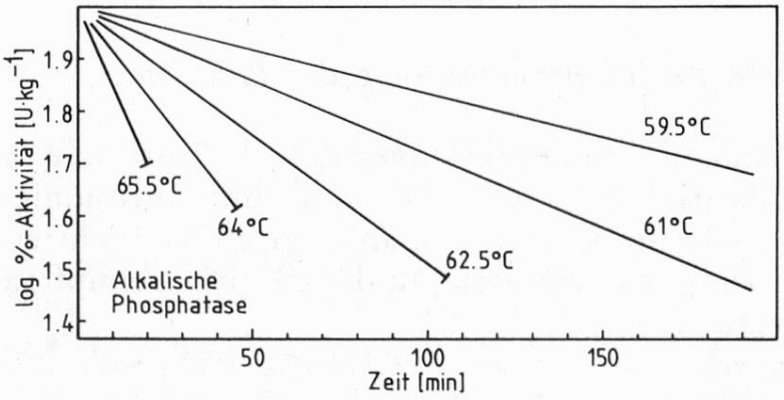


Abb. 4. Inaktivierung der alkalischen Phosphatase in Eigelb bei 5 Pasteurisationstemperaturen zwischen 59,5 und 65,5 °C in Abhängigkeit von der Pasteurisationszeit (—┤ Beginn der Eigelbkoagulation)

Parameter der ermittelten Regressionsgeraden:

Pasteurisations-Temperatur [°C]	Parameter der Regressionsgeraden b (10^{-3})	$r(n)$
59,5	- 1,67	- 0,992 (6)
61	- 2,57	- 0,999 (4)
62,5	- 4,48	- 0,989 (6)
64	- 8,53	- 0,994 (6)
65,5	- 14,20	- 0,979 (6)

aber nur zu 50, 58 bzw. 63 Prozent inaktiviert. Nach Hitzebehandlung der Eigelbmassen bei 59,5 °C während 180 Minuten und 61 °C während 120 Minuten erfolgte dagegen keine Koagulation des Eigelbs. Die alkalische Phosphatase wurde dabei nur um etwa die Hälfte inaktiviert.

Nach Auftragung der Zeiten der beginnenden Eigelbkoagulation in logarithmischem Massstab gegen die Temperatur war ein linearer Zusammenhang zwischen diesen Wertepaaren feststellbar (Abb. 7). Die ermittelte Regressionsgerade wies einen Achsenabschnitt von 17,02 und eine Steigung von −0,240 auf bei einem Korrelationskoeffizienten $r(3)$ von −0,999. Nach linearer Fortsetzung der Geraden in den niedrigen Temperaturbereich ist eine Koagulation der Eigelbmasse bei 59,5 °C erst nach 550 Minuten und bei 61 °C nach 240 Minuten Einwirkungszeit zu erwarten.

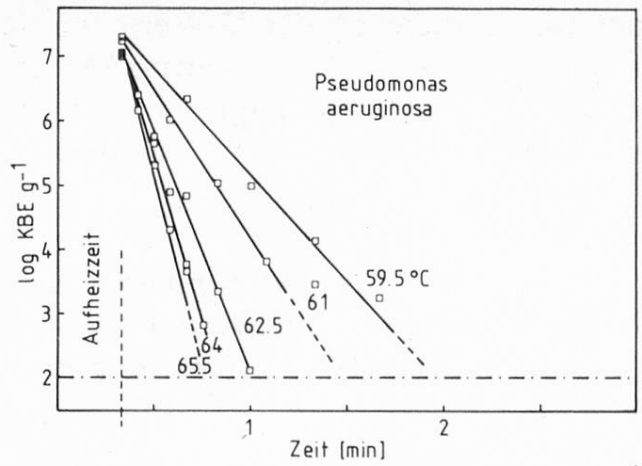
Die Inaktivierungskinetik der *Alpha-Amylase* verlief im Eigelb weitgehend gleich wie im Vollei (8). Im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase erfolgte bei den Temperatur-Zeit-Bedingungen zwischen 59,5 °C während 255 Minuten und 65,5 °C während 2 Minuten eine Inaktivierung des Enzyms unter die Nachweisgrenze des Phadebas^{R}-Amylase-Tests. Bei diesen Pasteurisationsbedingungen erfolgte keine Koagulation der Eigelbmasse. Nach der Gebrauchsinformation der Pharmacia Diagnostics (11) und Umrechnung der Serumwerte für Eigelb nach *Jäckle* und *Geiges* (10) entspricht die untere Nachweisgrenze einer Aktivität von 63 U kg^{-1}. Dabei wurde das Eigelb vor der Bestimmung der Enzymaktivität zur besseren Pipettierbarkeit im Verhältnis 1:1 (w/v) mit destilliertem Wasser verdünnt. Durch Verdünnen des Eigelbs im Verhältnis 1:3 und 1:5 konnte bei völliger Übereinstimmung zwischen berechneten und experimentell ermittelten Werten die Nachweisgrenze des Phadebas^{R}-Amylase-Tests auf 126 bzw. 189 U kg^{-1} angehoben werden.

Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Hitzeinaktivierung der Testkeime

In den Abbildungen 5 und 6 sind die Überlebenskurven der vier Testkeime in Eigelb in halblogarithmischem Massstab dargestellt. Die aufgeführten Koloniezahlen (KBE g^{-1}) sind jeweils Mittelwerte von zwei unabhängigen Versuchsreihen, in denen bei allen fünf Erhitzungstemperaturen mit der gleichen beimpften Eigelbmasse (pH 6,1) geprüft wurden.

Die Koloniezahlen von *Salmonella typhimurium, Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* wurden im untersuchten Temperaturbereich zwischen 59,5 und 65,5 °C innerhalb von einer bis drei Minuten um mehr als vier Zehnerpotenzen reduziert. Die Überlebenskurven dieser drei Testkeime verliefen eindeutig exponentiell. Für die Regressionsgeraden wurden Korrelationskoeffizienten r (n 3 bis 6) von 0,964 bis 0,999 bei einem Mittelwert von 0,988 berechnet.

Eine gleichwertige Keimzahlreduktion um 4 Zehnerpotenzen wurde bei *Salmonella senftenberg* 775 W erst nach 2 Minuten Erhitzung bei 65,5 °C erzielt. Bei der niedrigsten untersuchten Temperatur von 59,5 °C war dazu eine Erhitzungszeit von 30 Minuten erforderlich. Dabei wiesen die Überlebenskurven dieses



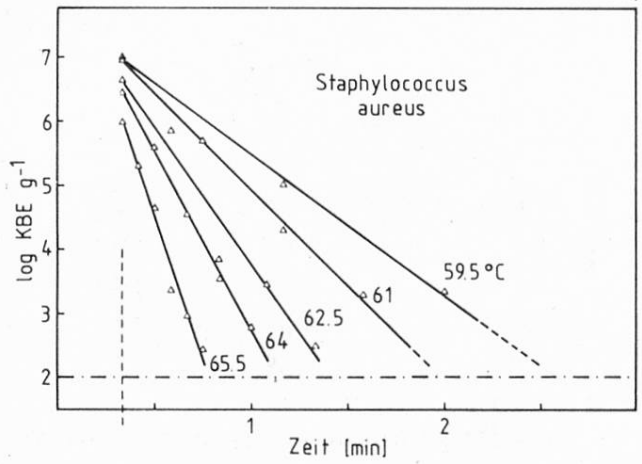
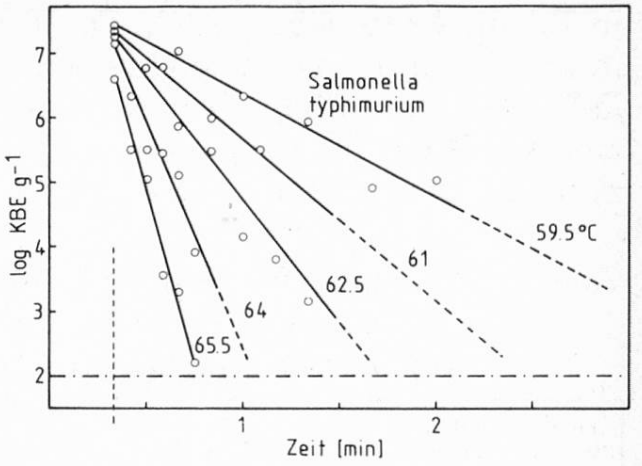


Abb. 5. Inaktivierung von *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* in Eigelb bei 5 Pasteurisations-Temperaturen zwischen 59,5 und 65,5 °C in Abhängigkeit von der Pasteurisationszeit



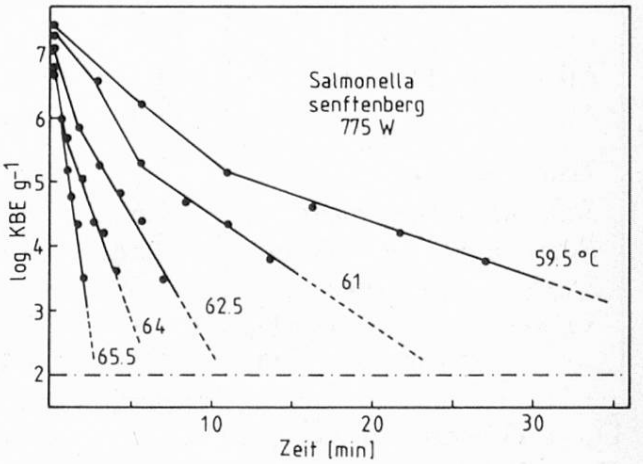


Abb. 6. Inaktivierung von *Salmonella typhimurium* und *Salmonella senftenberg* 775 W in Eigelb bei 5 Pasteurisations-Temperaturen zwischen 59,5 und 65,5 °C in Abhängigkeit von der Pasteurisationszeit

Stammes bei den niedrigeren Erhitzungstemperaturen zwischen 59,5 und 64 °C zwei unterschiedliche Steigungen auf. Nach anfangs steilerem exponentiellem Verlauf der Überlebenskurven war nach Reduktion der Koloniezahlen um eine bis über zwei Zehnerpotenzen ein deutlicher Knickpunkt mit nachfolgendem, flacheren, ebenfalls exponentiellen Kurvenverlauf zu verzeichnen. Bei der Erhitzungstemperatur von 65,5 °C verlief die Überlebenskurve exponentiell ohne Knickpunkt. Die Korrelationskoeffizienten der Regressionsgeraden lagen bei den flachen Ästen der Überlebenskurven mit einem Mittelwert von 0,991 zwischen 0,985 und 0,999, für den gesamten Bereich der Überlebenskurven mit einem etwas tieferen Mittelwert von 0,980 zwischen 0,969 und 0,994.

D- und z-Werte für die alkalische Phosphatase und Alpha-Amylase und die vier Testkeime nach Hitzeinaktivierung

Die mittels linearer Regression aufgrund der experimentell bestimmten Werte (Abb. 3–6) berechneten D-Werte der Enzymaktivitäten und der Testkeime sind

in Tabelle 1 gegenübergestellt. Die Temperaturabhängigkeit der D-Werte wurde in den D-Kurven (Decimal reduction time curve) (Abb. 7) durch Auftragung der D-Werte in logarithmischem Massstab gegen die Temperatur dargestellt. Die reziproken Werte der Steigungen der D-Kurven entsprechen den z-Werten der Enzymaktivitäten und der Testkeime.

Tabelle 1. D- und z-Werte der alkalischen Phosphatase und der Alpha-Amylase sowie der vier Testkeime *Salmonella typhimurium, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* und *Salmonella senftenberg* 775 W in Eigelb

Enzymaktivitäten bzw. Testkeime	D-Werte in Minuten bei 59,5 °C	61,0 °C	62,5 °C	64,0 °C	65,5 °C	z-Werte in °C
Enzymaktivitäten						
Alkalische Phosphatase	613	354	204	118	68	6,3
Alpha-Amylase	35,97	16,14	7,24	3,25	1,46	4,3
Testkeime						
Salmonella typhimurium	0,62	0,38	0,24	0,15	0,09	7,2
Pseudomonas aeruginosa	0,28	0,20	0,14	0,10	0,07	10,1
Staphylococcus aureus	0,49	0,35	0,25	0,17	0,12	10,0
Salmonella senftenberg D_2	11,61	5,56	2,66	1,27	0,61	4,7
775 W D_M	7,41	3,93	2,09	1,11	0,59	5,5

D_2 = D-Wert des zweiten flacher verlaufenden Astes der gebrochenen Überlebenskurve.
D_M = D-Wert der gesamten Überlebenskurve.

S. typhimurium, P. aeruginosa und *S. aureus* zeigten in Eigelb mit D-Werten von 0,61 Minuten und weniger bei der niedrigsten geprüften Temperatur von 59,5 °C relativ hohe Hitzeempfindlichkeit. *P. aeruginosa* war dabei im gesamten untersuchten Temperaturbereich am hitzeempfindlichsten. Die D-Kurven von *S. aureus* und *S. typhimurium* lagen etwa auf gleicher Höhe, wiesen aber unterschiedliche Steigungen auf, was zur Überschneidung der Kurven von 62 °C führte. Daraus resultierte für *S. aureus* bei Temperaturen über 62 °C, für *S. typhimurium* dagegen unter 62 °C eine etwas höhere Hitzeresistenz.

Für die Inaktivierung der Zellen von *S. senftenberg* 775 W waren im Vergleich zu den drei anderen Testkeimen 5- bis 40fach längere Pasteurisationszeiten erforderlich. Aufgrund der geknickten Überlebenskurven bei den Temperaturen zwischen 59,5 und 64 °C liessen sich im Prinzip drei verschiedene D-Werte ableiten: D_1 für den ersten steileren Ast, D_2 für den zweiten flacher verlaufenden Ast und D_M für die gesamten Überlebenskurven. In Tabelle 1 und Abbildung 7 sind im Hinblick auf die praktische Bedeutung nur die D_2- und D_M-Werte aufgeführt.

Beide Enzyme zeigten in Eigelb im untersuchten Temperaturbereich eine wesentlich höhere Hitzeresistenz als die Testkeime. Die D-Werte der Alpha-Amylase waren im Vergleich zu den D_M-Werten des hoch hitzeresistenten Stammes 775 W von *S. senftenberg* um den Faktor 2,5 bis 5 höher und diejenigen der alkalischen Phosphatase sogar um den Faktor 80 bis 115.

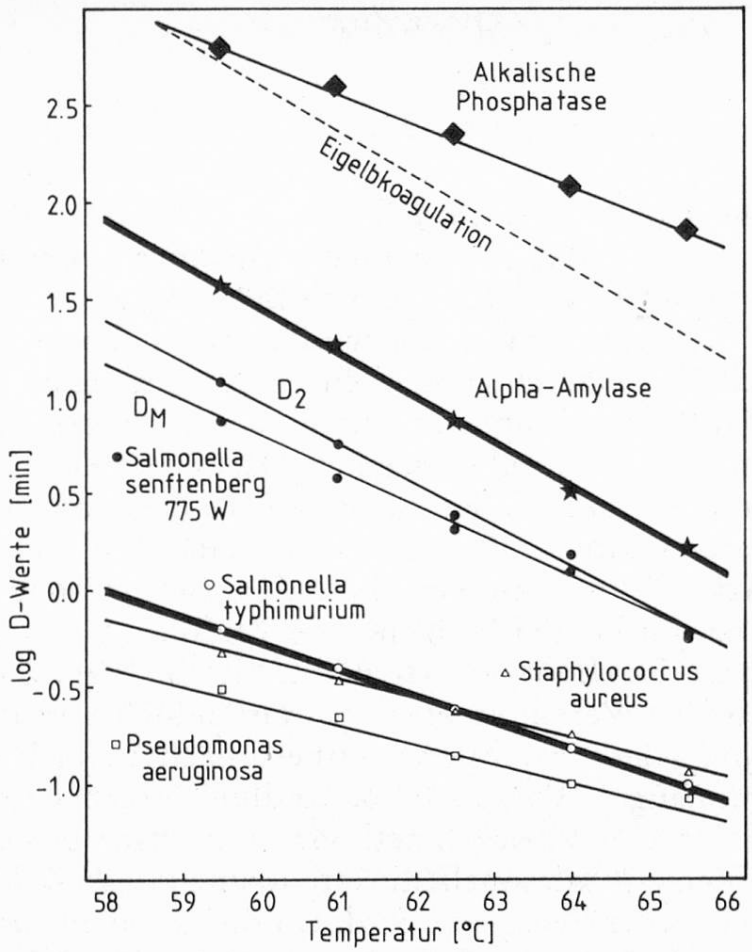


Abb. 7. D-Kurven (Decimal reduction time curve) für Alkalische Phosphatase, Alpha-Amylase, *Salmonella typhimurium, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* und *Salmonella senftenberg* 775 W in Eigelb

Parameter der ermittelten Regressionsgeraden:

Enzymaktivitäten bzw. Testkeime	Parameter der Regressionsgeraden a	b	r(5)
Enzymaktivitäten			
Alkalische Phosphatase	12,248	– 0,159	– 0,998
Alpha-Amylase	15,360	– 0,232	– 0,999
Testkeime			
Salmonella typhimurium	8,000	– 0,138	– 0,999
Pseudomonas aeruginosa	5,338	– 0,099	– 0,988
Staphylococcus aureus	5,639	– 0,100	– 0,997
Salmonella senftenberg D_2	13,758	– 0,213	– 0,996
775 W D_M	11,782	– 0,183	– 0,997

D_2 = D-Wert des zweiten flacher verlaufenden Astes der gebrochenen Überlebenskurven.
D_M = D-Wert der gesamten Überlebenskurven.

Die Temperaturabhängigkeit der D-Werte der alkalischen Phosphatase, von *S. typhimurium, S. aureus* und *P. aeruginosa* war mit z-Werten von 6 bis 10 °C relativ gering, die der Alpha-Amylase und von *S. senftenberg* 775 W mit Werten um 4 bis 5 °C etwas höher.

Diskussion

Methode zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität in Eigelb

Das im Schweizerischen Lebensmittelbuch (2) beschriebene Prinzip zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität in Eigelb entspricht dem von *Schormüller* und *Hothorn* (3) entwickelten Verfahren. Durch Behandlung des Eigelbs mit Acetonether und anschliessende Trocknung wird zunächst ein Acetontrockenfermentpräparat hergestellt. Dadurch können die im Ausgangsmaterial eng mit wasserunlöslichen Lipid-Proteinkomplexen verbundenen Phosphatasen (Morton (12), Ritter (13)) von diesen Störsubstanzen abgetrennt werden. Zur Herstellung der Enzymlösung werden dann die Phosphatasen aus den Acetontrockenpulvern bei Zimmertemperatur während 30 Minuten mit einer Pufferlösung extrahiert. Vom Filtrat, der Enzymlösung, wird ein Aliquot zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität eingesetzt. Im Vergleich zu anderen Verfahren hat sich diese Methode zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität in Eigelb als gut geeignet erwiesen (3). Für die Praxis ist das Verfahren aber zu umständlich und langwierig. Eine vollständige Entfernung der Störsubstanzen ist erst nach dreimaliger Aceton- und anschliessender zweimaliger Acetonetherbehandlung gegeben (3).

Die Anwendung der Acetontrockenmethode ist nur dann gerechtfertigt, wenn die Phosphatase bei den zur Salmonelleninaktivierung in Eigelb notwendigen Erhitzungsbedingungen sicher inaktiviert wird. Da dies nach entsprechenden Vorversuchen offensichtlich nicht der Fall war, wurde auf die Abtrennung der im Eigelb vorhandenen Lipide verzichtet. Das Eigelb, in dem die Phosphatase-Aktivität bzw. Restaktivität nach Hitzebehandlung bestimmt werden sollte, wurde lediglich 1:1 (w/v) mit Verdünnungslösung gemischt. Damit liess sich der Arbeits- und Zeitaufwand stark einschränken, es musste aber in Kauf genommen werden, dass der Test etwas unempfindlicher war.

Alkalische Phosphatase- und Alpha-Amylase-Aktivitäten in Eigelb

Die hier gefundenen erheblichen Streuungen der *alkalischen Phosphatase*-Aktivitäten in Eigelb mit Variationskoeffizienten von 41% bei den einzelnen Schaleneiern und von 25% bei industriell hergestellten Eigelbprodukten wurden ähnlich bereits von *Schormüller* und *Hothorn* (3, 4) festgestellt. Frische, einen Tag alte Eier wiesen denselben Streubereich von 44% auf wie mindestens 14 Tage alte Frischeier des Handels (3). Während einer über ein Jahr dauernden Lagerung der Eier bei unterschiedlichen Bedingungen waren in keinem Fall signifikante Änderungen der alkalischen Phosphatase-Aktivität in Eigelb, aber unabhängig vom Alter der Eier ganz erhebliche Aktivitätsschwankungen zwischen den einzelnen Eiern nachweisbar (4).

Bei der *Alpha-Amylase* in Eigelb waren in den vorliegenden Untersuchungen die Aktivitätsunterschiede mit einer prozentualen Standardabweichung von 23%

bei den Schaleneiern nicht so hoch. In den industriell hergestellten Eigelbprodukten waren die Unterschiede mit Abweichungen von 7% wesentlich geringer.

Solche ausgeprägten Aktivitätsunterschiede der Enzyme in den unpasteurisierten Produkten können von erheblicher Bedeutung sein, wenn zum Nachweis der Pasteurisation von Eigelb auf ihre Inaktivierung geprüft werden muss, da bei gleicher Hitzebehandlung unterschiedlich hohe Restaktivitäten resultieren.

Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Hitzeinaktivierung der alkalischen Phosphatase in Eigelb

Die Resultate zahlreicher Hitzeinaktivierungsuntersuchungen mit Milch von *Lear* und *Foster* (5), *Jenness* und *Patton* (6), *Monget* und *Laviolette* (14) sowie *Griffiths* (15) haben gezeigt, dass die alkalische Phosphatase als Indikator zur Feststellung einer ausreichenden Pasteurisation gut geeignet ist. Dagegen sind für die Inaktivierung anderer Enzyme in der Milch wie Katalase, Xanthin-Oxidase, Peroxidasen und vor allem die saure Phosphatase, die als hitzestabilstes Milchenzym beschrieben wird (6), drastischere Hitzebehandlungen erforderlich. Eiprodukte wie insbesondere Eigelb sind im Gegensatz zu Milch wesentlich hitzeempfindlichere Substrate.

Im Schweizerischen Lebensmittelbuch (2) wird im Kapitel Eikonserven zur «Bestimmung der Phosphatase-Aktivität in Gefrierei» folgende Bemerkung angeführt: «Bei der Pasteurisation wird die Phosphatase inaktiviert.» Diese Aussage war experimentell nicht zu bestätigen. Zur Inaktivierung der alkalischen Phosphatase um 90% wären bei in der Praxis angewandten Pasteurisationstemperaturen von 61,1 (USA) und 63 °C (Schweiz) Einwirkungszeiten von rund 340 bzw. 170 Minuten erforderlich. Aus der Kurve der Temperaturabhängigkeit der Eigelbkoagulation (Abb. 7) ist ersichtlich, dass bei diesen Temperaturen die Eigelbmasse bereits nach weniger als 230 bzw. 80 Minuten koaguliert.

Unter Beachtung der Erhaltung ausreichender Produktequalität, das heisst Verhütung der Koagulation, war eine Inaktivierung der alkalischen Phosphatase bei 61,1 °C um höchstens 80% und bei höheren Pasteurisationstemperaturen sogar in noch weit geringerem Masse erreichbar. Dies stimmt mit den Angaben von *Stadelman* und *Cotterill* (7) überein, nach denen die Phosphatase-Aktivität in Vollei nach Hitzebehandlung bei 60 °C während 20 Minuten und bei 70 °C während 5 Minuten weitgehend erhalten bleibt.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen geht eindeutig hervor, dass die in Artikel 174 Absatz 3 der eidg. Lebensmittelverordnung geforderte Inaktivierung der Phosphatase zum Nachweis ausreichender Pasteurisation von Eigelb nicht haltbar ist. So geeignet die Messung der Phosphatase-Aktivität in Milch zum Nachweis ordnungsgemässer Erhitzung ist, so wenig brauchbar ist der Phosphatase-Test zur Anzeige einer ausreichenden Eigelbpasteurisation.

Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Hitzeinaktivierung der Alpha-Amylase in Eigelb

Die Gegenüberstellung der D-Kurven der Alpha-Amylasen in Eigelb und Vollei in Abbildung 8 lassen in Eigelb eine 1,4fach grössere Hitzeresistenz der Alpha-Amylase als in Vollei erkennen. Dagegen ist die Temperaturabhängigkeit der D-Werte mit einem z-Wert von 4,3 °C in Eigelb dieselbe wie in Vollei, wie auch aus dem parallelen Verlauf der Kurven ersichtlich ist.

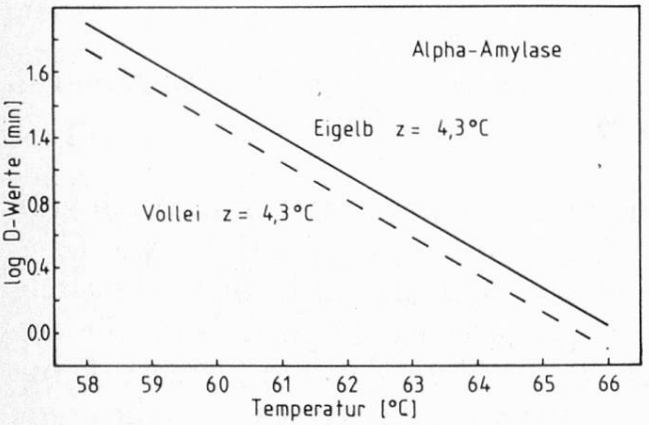


Abb. 8. Gegenüberstellung der D-Kurven in Eigelb (——) und Vollei (----) der Alpha-Amylase

Als untere Nachweisgrenze des Phadebas^{R}-Amylase-Tests wird von der Pharmacia Diagnostics (11) eine Extinktion von 0,040 angegeben. Dieser Wert entspricht bei der angewandten Testcharge No. IH 75740 und nach der von *Jäckle* und *Geiges* (10) beschriebenen Testvorschrift beim Eigelb einer Alpha-Amylase-Aktivität von 63 U kg^{-1}.

Aufgrund des exponentiellen Verlaufes der Inaktivierungskurven sind je nach Aktivität in der unbehandelten Eigelbmasse unterschiedlich lange Einwirkungszeiten zur Inaktivierung der Alpha-Amylase unter die Nachweisgrenze des Phadebas^{R}-Amylase-Testes (Abb. 9) erforderlich.

Bei Anwendung von amerikanischen und schweizerischen Verfahren, bei denen das Eigelb bei Temperaturen von 61,1 °C während 3,5 Minuten bzw. 63 °C während 5 Minuten pasteurisiert wird, lassen sich mit Hilfe der Parameter der Regressionsgeraden von Abbildung 7 Aktivitätsverminderungen von 41 bzw. 87,5% berechnen. *Murthy* (16) stellte nach 3,5 Minuten langer Erhitzung bei 61,1 °C eine noch geringere Inaktivierung mit Werten von nur 25 bis 40% fest.

Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Hitzeinaktivierung der Testkeime in Eigelb im Vergleich zu Vollei

Die nach Hitzebehandlung der beimpften Eigelbmassen ermittelten Überlebenskurven verliefen weitgehend ähnlich wie bei Vollei, das heisst exponentiell bei *S. typhimurium, S. aureus* und *P. aeruginosa,* dagegen gebrochen mit jeweils einem steiler und einem flacher exponentiell verlaufenden Ast bei *S. senftenberg* 775 W. Zwischen 59 und 66 °C lagen die Kurven für Eigelb signifikant höher als

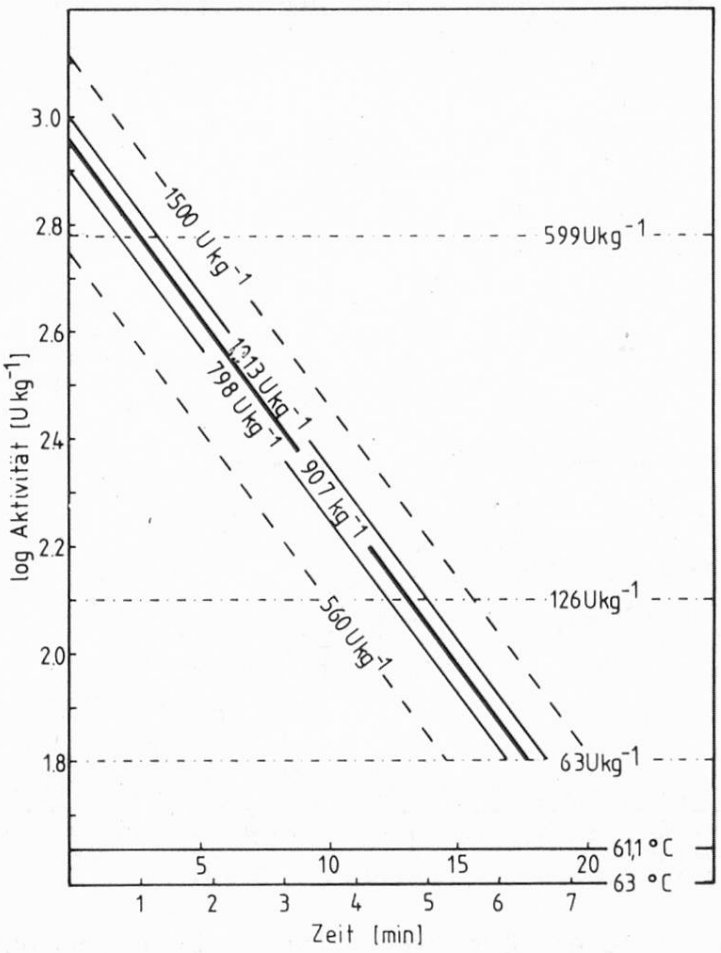
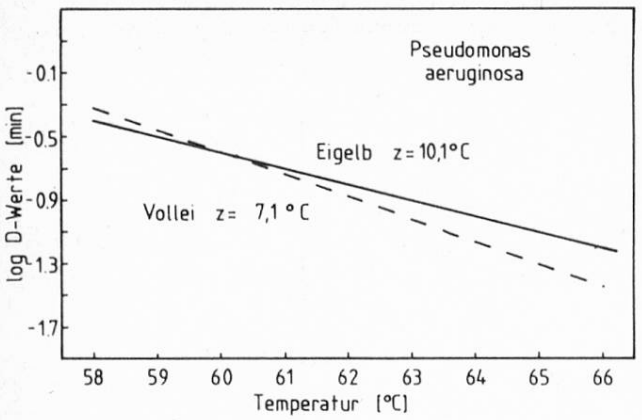


Abb. 9. Inaktivierung der Alpha-Amylase in Eigelb mit unterschiedlichen Ausgangsaktivitäten (Aktivitätsbereich in einzelnen Schaleneiern: 560 bis 1500 U kg^{-1} bzw. in industriell hergestelltem Eigelb: 798 bis 1013 U kg^{-1}) bis zu Nachweisgrenzen von 63, 126 und 599 U kg^{-1} des Phadebas^{R}-Amylase-Testes

bei Vollei. In Eigelb war insgesamt also eine höhere Hitzeresistenz der Testkeime gegeben.

In den Abbildungen 10 und 11 sind die D-Kurven der Testkeime in Eigelb und Vollei gegenübergestellt. Sie verliefen nur bei *S. senftenberg* 775 W für beide Substrate weitgehend parallel und hatten nahezu identische z-Werte. In Eigelb waren die D-Werte bei allen Temperaturen 1,2fach höher als in Vollei.

Bei den drei anderen Teststämmen verliefen die D-Kurven nicht parallel. Ihre Steigungen waren bei Eigelb deutlich geringer als bei Vollei. Im oberen Temperaturbereich war die Hitzeresistenz in Eigelb also vergleichsweise grösser als in Vollei. Dieser Unterschied war bei *S. typhimurium* mit z-Werten von 7,2 °C für Eigelb und 6,2 °C für Vollei noch relativ gering. Dagegen war der Abstand der D-Kurven und damit die Hitzeresistenz in Eigelb mit 2,1- bis 3,1fach höheren D-Werten erheblich grösser als in Vollei. Vergleichbare Angaben sind nur von *Garibaldi* et al. (17) bekannt. Diese bestimmten für *S. typhimurium* Tm-1 in Eigelb einen $D_{60\,°C}$-Wert von 0,4 Minuten, der sich nur um den Faktor 1,5 von jenem



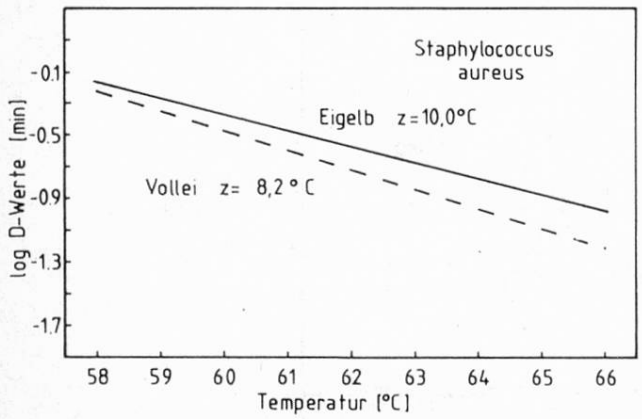
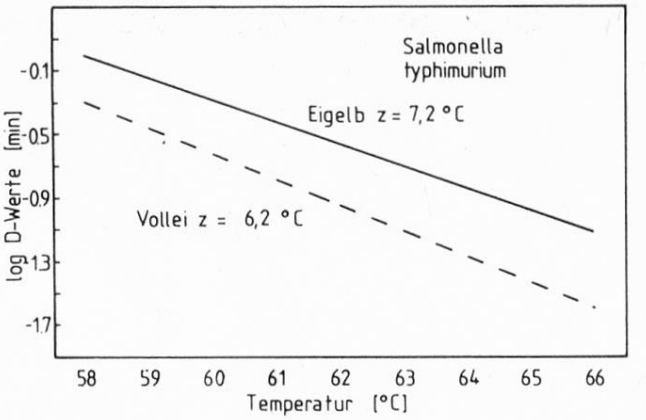


Abb. 10. Gegenüberstellung der D-Kurven in Eigelb (——) und Vollei (----) von *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus*



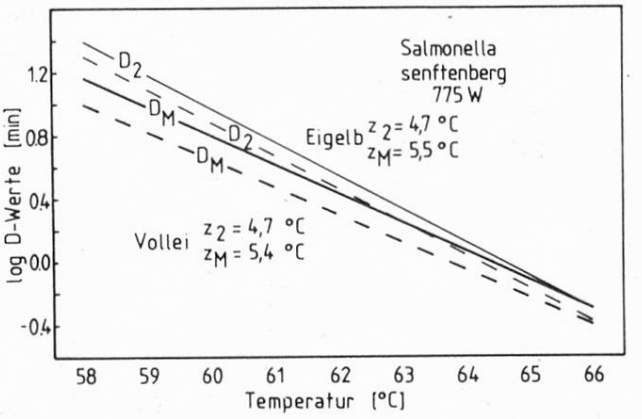


Abb. 11. Gegenüberstellung der D-Kurven in Eigelb (——) und Vollei (----) von *Salmonella typhimurium* und *Salmonella senftenberg* 775 W

mit 0,27 Minuten für Vollei unterscheidet. Im Gegensatz zu den eigenen Befunden waren die z-Werte mit 4,4 °C für Eigelb und 4,3 °C für Vollei wesentlich geringer und zeigten praktisch keinen Unterschied.

S. aureus hatte in Eigelb annähernd die gleiche Hitzeresistenz wie *S. typhimurium*. Im Vergleich zu Vollei lagen die D-Werte allerdings nur 1,1- bis 1,7fach höher. Die D-Kurven verliefen mit z-Werten von 10,0 °C für Eigelb und 8,2 °C für Vollei relativ flach.

P. aeruginosa war insgesamt deutlich weniger hitzeresistent als *S. typhimurium* und *S. aureus*. Dabei war der Substrateinfluss nur im Temperaturbereich über 60 °C stärker ausgeprägt und die D-Werte für Eigelb bis zu 1,8fach höher als für Vollei. Entsprechend der geringeren Steigung der D-Kurven für Eigelb war der Unterschied der z-Werte mit 10 °C für Eigelb und nur 7,1 °C für Vollei wesentlich grösser.

Für die höhere Hitzeresistenz der Testkeime in Eigelb dürften hauptsächlich zwei Faktoren verantwortlich sein: der mit 6,1 deutlich niedrigere pH-Wert in Eigelb gegenüber einem Wert von 7,6 in Vollei. Auch in anderen Substraten wurde die grösste Hitzeresistenz von Salmonellen bei pH-Werten von 5 bis 6 nachge-

wiesen (7, 18, 19). Von noch grösserem Einfluss dürfte der höhere Lipidgehalt von durchschnittlich 35% im Eigelb gegenüber einem Gehalt von nur 13% im Vollei sein. Die starke Schutzfunktion von Lipiden bei der Erhitzung von Mikroorganismen ist allgemein bekannt, wenn auch der Mechanismus der protektiven Wirkung bisher noch nicht ausreichend erklärbar ist. Auch die für vegetative Bakterien ungewöhnlich hohen z-Werte zwischen 7,2 und 10,0 °C für Eigelb, wie sie sonst nur bei hoch hitzeresistenten Bakteriensporen bekannt sind, sind möglicherweise auf die Schutzwirkung der Lipide zurückzuführen.

Korrelation zwischen der Hitzeinaktivierung der untersuchten Enzyme und der Testkeime in Eigelb

Für die Inaktivierung der *alkalischen Phosphatase* in Eigelb um 90% bei Temperaturen zwischen 59 und 66 °C sind Einwirkungszeiten von 736 bzw. 57 Minuten erforderlich. Diese Temperatur-Zeit-Bedingungen bewirken bei den hitzeempfindlichen Testkeimen *S. typhimurium, S. aureus* und *P. aeruginosa* theoretisch ausserordentlich grosse Keimzahlreduktionen. Bei dem hoch hitzeresistenten Stamm 775 W von *S. senftenberg* ist die dezimale Keimzahlreduktion zwar deutlich geringer, aber mit Werten von über 40 Zehnerpotenzen immer noch sehr hoch. Da die Produktequalität durch Koagulation der Eigelbmasse stark beeinträchtigt wird, sind derart extreme Pasteurisationsbedingungen für die Praxis aber ohne Bedeutung.

Ein Vergleich der D-Werte in Tabelle 1 zeigt, dass die Werte der *Alpha-Amylase* mehr als 10fach grösser sind als die der hitzeempfindlichen Testkeime und 2,5- bis 4,9fach grösser als die D_M-Werte von *S. senftenberg* 775 W. Pasteurisationsbedingungen, die zur 90%igen Inaktivierung der Alpha-Amylase führen, bewirken also in jedem Fall eine Keimzahlreduktion der extrem hitzeresistenten Salmonellen wie des Biotyps 775 W von *Salmonella senftenberg* um mehr als 90% bzw. 1 Zehnerpotenz und der normal hitzeresistenten Salmonellen sogar über 10 Zehnerpotenzen. Die deutlich geringeren Steigungen der D-Kurven der Testkeime im Vergleich zur D-Kurve der Alpha-Amylase (Abb. 7) bedeuten, dass bei niedrigeren Pasteurisationstemperaturen die Testkeime hitzeempfindlicher sind als die Alpha-Amylase und dass hier die Bakterieninaktivierung effektiver ist als bei höheren Temperaturen. Gleiche Beobachtungen liegen auch aus den Erhitzungsversuchen in Vollei (8) vor und wurden auch von *Shrimpton* et al. (20) mitgeteilt.

Konsequenzen für die Praxis

Unter handelsüblichen Erhitzungsbedingungen werden im pasteurisierten Eigelb noch Restaktivitäten der alkalischen Phosphatase von 93 bis 97% gemessen (Tabelle 2). Unter normalen Temperatur-Zeit-Bedingungen, die das Produkt nicht zu stark hitzebelasten, ist die Bestimmung der Phosphatase-Aktivität zum Nachweis der korrekten Eigelbpasteurisation deshalb nicht geeignet. Aufgrund

Tabelle 2. Theoretische Reduktionswerte der Keimzahlen (in Zehnerpotenzen) von *Salmonella typhimurium* und *Salmonella senftenberg* 775 W und Restaktivitäten der alkalischen Phosphatase und Alpha-Amylase (in %) nach Hitzebehandlung bei in der Praxis angewandten Pasteurisationsbedingungen

	In der Praxis angewandte und empfohlene Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Pasteurisation von Eigelb	
	61,1 °C 3,5 min (USA [23])	63 °C 5 min (CH)
Enzym-Restaktivitäten in % der		
alkalischen Phosphatase	97,67	93,45
Alpha-Amylase	59,06	2,55
Reduktion der Zahlen der *Testkeime* in Zehnerpotenzen von		
Salmonella typhimurium	18,9	24,7
Salmonella senftenberg D_2	0,63	2,29
775 W D_M	0,88	2,79

D_2 = D-Wert des zweiten flacher verlaufenden Astes der gebrochenen Überlebenskurve.
D_M = D-Wert der gesamten Überlebenskurve.

der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung dürfte sich aber die Bestimmung der Alpha-Amylase mit dem Phadebas^R-Amylase-Test als Erhitzungsnachweis bei Eigelb ebensogut eignen wie bei Vollei. Es sind allerdings einige Modifikationen des Testansatzes notwendig.

Für den Einsatz eines Enzymtestes zur routinemässigen Kontrolle der Pasteurisation ist das effektive Ausmass der Inaktivierung von untergeordnetem Interesse und lässt sich im Nachhinein meist nicht mehr bestimmen, weil Proben des unpasteurisierten Materials in der Regel nicht mehr verfügbar sind. Das Testergebnis muss vielmehr eindeutig negativ sein. Dies ist der Fall, wenn das Enzym durch die Hitzebehandlung derart inaktiviert wird, dass mit der gewählten Messmethodik keine Restaktivität mehr nachweisbar ist.

Es sind deshalb prinzipiell eine obere und eine untere Grenze der Enzymaktivität festzulegen. Die obere Grenze ergibt sich aus der Kenntnis der Enzymaktivität industriell hergestellter Eigelbmassen. Sie stellt jenen im Einzelfall hypothetischen Wert der Enzymaktivität dar, der in Chargen von industriell hergestelltem Eigelb im Normalfall nicht überschritten wird. Die untere Grenze der Enzymaktivität ist jener Wert, der, ausgehend vom oberen Grenzwert, durch entsprechende Temperatur-Zeit-Kombinationen der Erhitzung erreicht bzw. unterschritten wird. Die für die Inaktivierung der Alpha-Amylase vom oberen zum unteren Grenzwert notwendige Wärmemenge ist gleichzeitig das Mass für die Inaktivierung von Mikroorganismen zur Sicherung der hygienischen Unbedenklichkeit

des Produktes. Bedingt durch den Umstand, dass die D-Kurven für die thermische Inaktivierung der Alpha-Amylase und für viele Bakterien nicht parallel verlaufen, sondern unterschiedliche Steigungen aufweisen, ist es nicht möglich, obere und untere Grenze der Enzymaktivität festzulegen und dabei gleichzeitig über den ganzen Temperaturbereich eine konstante dezimale Reduktion der Zahl einer bestimmten Bakterienart zu verlangen. So wurde bei 66 °C während 1 Minute die Alpha-Amylase-Aktivität in Eigelb von 1013 U kg^{-1} auf 125 U kg^{-1} und der geprüfte Stamm von *Salmonella typhimurium* um rund 12 Zehnerpotenzen reduziert. Die Erhitzung von Eigelb bei 59 °C während 42,5 Minuten übt den gleichen Effekt auf die Alpha-Amylase aus, es würden dabei aber über 50 Zehnerpotenzen von *S. typhimurium* inaktiviert werden (Tabelle 3 und Abb. 12).

Wie aus Abbildung 9 und Tabelle 2 ersichtlich ist, wären in den untersuchten Eigelbchargen nach Hitzebehandlung bei 61,1 °C während 3,5 Minuten und 63 °C während 5 Minuten noch Restaktivitäten von Alpha-Amylase nachweisbar. Diese Temperatur-Zeit-Bedingungen genügen also nicht zur Inaktivierung der Alpha-Amylase unter die von *Jäckle* und *Geiges* (10) für Eigelb methodisch festgesetzte Nachweisgrenze des Phadebas^{R}-Amylase-Tests von 63 U kg^{-1}. Diese Feststellung machte auch *Imai* (24), der die Alpha-Amylase-Aktivität in unpasteurisierten und pasteurisierten Eiprodukten mit der amyloklastischen Methode bestimmte. Durch Modifikation der Standardmethode, wie z. B. Erhöhung des Stärkelösungsvolumens bei Vollei, Verkleinerung des Proben- und Erhöhung des Stärkelösungsvolumens bei Eigelb sowie Verlängerung der Inkubationszeit bei Eiweiss, gelang es ihm letztlich, zwischen unpasteurisierten und pasteurisierten Produkten zu unterscheiden. Durch geeignete Massnahmen wie Einsatz geringerer Probevolumina oder Verkürzung der Inkubationsdauer lässt sich auch der Phadebas^{R}-Amylase-Test so anpassen, dass er zum Nachweis der Pasteurisation von Eigelb verwendet werden kann. Weitere eigene Untersuchungen, bei denen

Tabelle 3. Theoretische Reduktionswerte der Keimzahlen (in Zehnerpotenzen) von *Salmonella typhimurium* und *Salmonella senftenberg* 775 W durch Hitzebehandlung bei Temperatur-Zeit-Bedingungen, welche die Inaktivierung der Alpha-Amylase in Eigelb von 1013 U kg^{-1} unter die Nachweisgrenze von 126 U kg^{-1} bewirken

Testkeime	Temperatur-Zeit-Bedingungen zur Inaktivierung der Alpha-Amylase in Eigelb (= 0,91 D-Werte)							
[°C]	59	60	61	62	63	64	65	66
[min]	42,5	24,9	14,6	8,6	5,0	2,9	1,7	1,0
Salmonella typhimurium	>50	>40	>30	30	>20	20	>10	>10
Salmonella senftenberg D_2	2,7	2,6	2,5	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0
775 W D_M	4,4	3,9	3,5	3,1	2,8	2,5	2,2	2,0

D_2 = D-Wert des zweiten flacher verlaufenden Astes der gebrochenen Überlebenskurve.
D_M = D-Wert der gesamten Überlebenskurve.

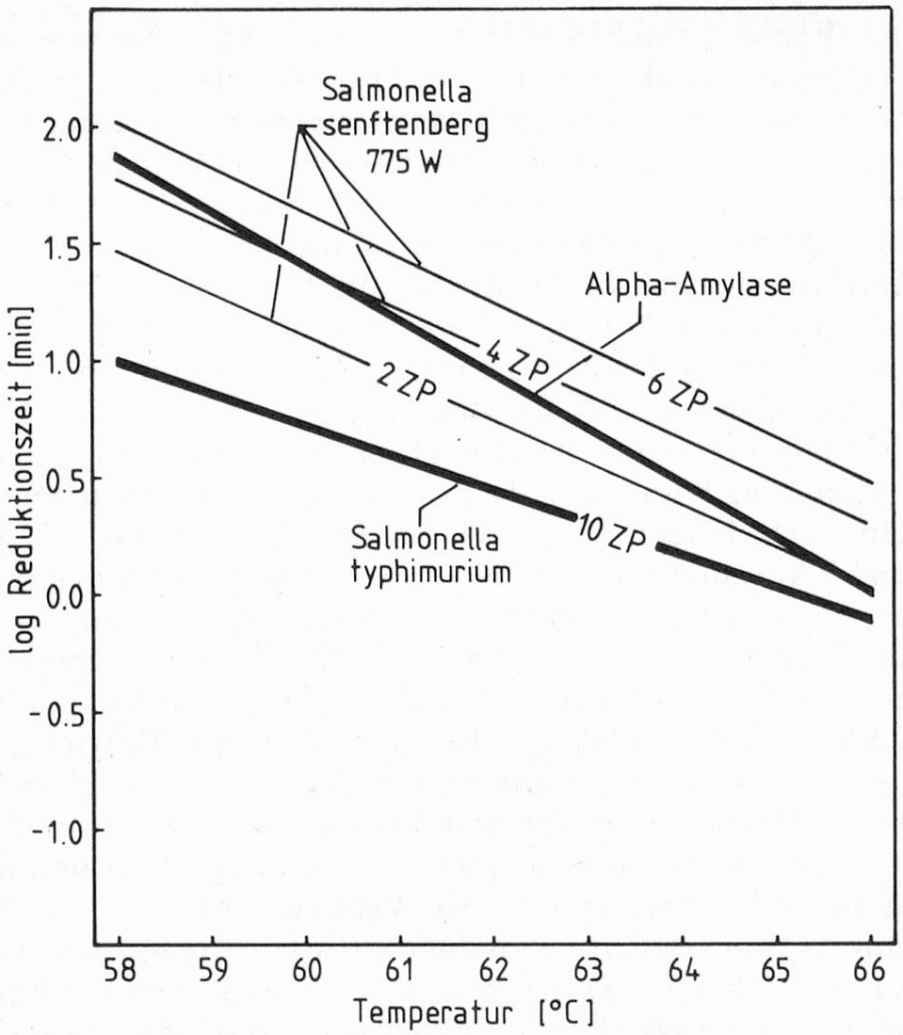


Abb. 12. Korrelation zwischen der Hitzeinaktivierung der Alpha-Amylase bis zur Nachweisgrenze von 126 U kg^{-1} (12,44%) und von *Salmonella typhimurium* um 10 Zehnerpotenzen sowie von *Salmonella senftenberg* 775 W um 2 bis 6 Zehnerpotenzen (Berechnungsgrundlage D_M-Werte) in Eigelb bei unterschiedlichen Pasteurisationsbedingungen

Eigelbproben verdünnt und damit die Nachweisgrenze angehoben wurde, bestätigen die Annahme, dass zur Inaktivierung der Alpha-Amylase auf höher festgesetzte Nachweisgrenzen proportional kürzere Heisshaltezeiten erforderlich sind.

Dieses Verfahren scheint insbesondere für die in einem schweizerischen Betrieb angewandten Temperatur-Zeit-Bedingungen von 63 °C und 5 Minuten realistisch. Durch Mischen des Eigelbs mit Verdünnungslösung im Verhältnis 1:3 (w/v) statt 1:1 (w/v) nach *Jäckle* und *Geiges* (10) und Einsatz von 0,2 ml dieser Eigelblösung wird die Nachweisgrenze auf 126 U kg^{-1} angehoben. Damit ist bis zu einem oberen Grenzwert von 1013 U kg^{-1} die Inaktivierung der Alpha-Amylase in Eigelb ohne nachweisbare Restaktivität gewährleistet. Um bei gleicher oberer Grenze von 1013 U kg^{-1} und den milderen Erhitzungsbedingungen nach US-Norm keine Restaktivität von Alpha-Amylase zu finden, müsste die Nachweisgrenze durch 9,5fache Verdünnung auf 599 U kg^{-1} angehoben werden (Abb. 9).

Diese in der Praxis angewandten Temperatur-Zeit-Bedingungen von 61,1 °C und 3,5 Minuten und 63 °C und 5 Minuten führen zur Reduktion der Zellzahlen von Salmonellen normaler Hitzeresistenz, hier am Beispiel von *Salmonella typhimurium* in Tabelle 2 gezeigt, um 19 bzw. 25 Zehnerpotenzen. Unter der Voraussetzung, dass ein Produkt mit 10^5 Keimen ml^{-1} von Salmonellen normaler Hitzeresistenz, also ohne *S. senftenberg* 775 W, kontaminiert ist (8), genügen diese Heisshalteverfahren bei weitem zur Erfüllung der von der eidg. Hygieneverordnung (21) gestellten Anforderungen, wonach Salmonellen «in 20 Gramm nicht nachweisbar» sein dürfen sowie dem von der FAO/WHO (22) vorgeschlagenen 2-Klassen-Plan, nachdem bei insgesamt 30 Proben einer Charge in jeweils 20 bis 25 Gramm keine Salmonellen nachweisbar sein dürfen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die in der eidg. Lebensmittelverordnung (1) enthaltene Vorschrift, wonach in pasteurisiertem Eigelb keine Phosphatase mehr nachweisbar sein darf, nicht erfüllbar ist. Diese Bestimmung sollte deshalb gestrichen und unter Angabe eines unteren Grenzwertes im Lebensmittelbuch durch folgenden Wortlaut ersetzt werden: «. . . Dies ist der Fall, wenn durch die Behandlung der Vollei- und Eigelbmasse die Alpha-Amylase inaktiviert wurde.» Damit wäre der Phadebas^R-Amylase-Test bei gleicher Inkubationstemperatur der Ansätze, aber bei Anwendung unterschiedlicher Probevolumina zum Nachweis der ausreichenden Hitzebehandlung von Eigelb und Vollei anwendbar.

Zusammenfassung

Die in der eidg. Lebensmittelverordnung enthaltene Vorschrift über die Inaktivierung der Phosphatase als Garantie für die hygienische Unbedenklichkeit von pasteurisiertem Eigelb ist aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nicht haltbar, weil sich die Phosphataseaktivität ohne deutliche Schädigung des Produktes nicht wirkungsvoll reduzieren lässt. Dagegen bietet sich die Möglichkeit, anstelle der Phosphatase die Alpha-Amylase für den Erhitzungsnachweis einzusetzen.

Im Temperaturbereich zwischen 59 und 66 °C liegen die D-Werte bei allen geprüften Bakterienstämmen signifikant höher als bei Vollei und mit Ausnahme von *S. senftenberg* 775 W ebenso die z-Werte.

Bei Pasteurisation von Eigelb bei 61,1 °C während 3,5 Minuten bzw. 63 °C während 5 Minuten resultiert ein sehr hohes Mass an hygienischer Sicherheit.

Bei Vorschrift fehlender Alpha-Amylase-Aktivität in Eigelb als Nachweis für die ausreichende Hitzebehandlung des Produktes müsste gleichzeitig der untere Grenzwert der Methode definiert werden.

Der Phadebas^R-Amylase-Test hat sich auch bei Eigelb als einfache, praxisnahe und exakte Methode erwiesen.

Résumé

Les résultats présentés démontrent, que la prescription de l'Ordonance suisse sur les denrées alimentaires concernant l'inactivation de la phosphatase comme garantie d'une pasteurisation suffisante du jaune d'œuf ne peut pas être validée. Etant donné sa thermo-

stabilité, la phosphatase ne s'inactive pas par la chaleur sans détérioration considérable de la qualité du produit.

Par contre, il est possible d'utiliser l'alpha-amylase pour le contrôle de la pasteurisation.

Pour toutes les souches de bactéries examinées à des températures allant de 59 à 66 °C, les valeurs D étaient nettement supérieures dans le jaune d'œuf que dans l'œuf entier. Il en va de même pour les valeurs z, sauf pour *S. senftenberg* 775 W.

La pasteurisation du jaune d'œuf à 61,1 °C/3,5 min ou à 63 °C/5 min offre une sérieuse sécurité hygiénique.

La prescription de l'absence de toute trace d'activité de l'alpha-amylase dans le jaune d'œuf comme critère d'une pasteurisation suffisante implique donc la définition de la quantité inférieure d'activité enzymatique décelable.

Le test de Phadebas^{R} a été reconnu comme méthode simple et exacte pour le jaune d'œuf aussi bien que pour les œufs entiers.

Summary

The requirement by the Swiss food ordinance according to which the thermal inactivation of phosphatase is a guarantee for hygienical safety of pasteurized egg yolk is not justified. Test results have shown that phosphatase cannot be inactivated by heat without a considerable loss of the product quality. There is, however, a possibility to apply the alpha-amylase instead of the phosphatase to indentify pasteurization.

All tested strains showed significantly higher D-values in egg yolk then in whole egg in the temperature range between 59 and 66 °C. Exept for *S. senftenberg* 775 W the same observations were made for the z-values.

The pasteurization of egg yolk at 61.1 °C for 3.5 min or at 63 °C for 5 min offers a high degree of hygienical safety.

The absence of detectable traces of alpha-amylase-activity as a measure of sufficient pasteurization of egg yolk needs therefore a definition of the minimum detectable quantity of enzyme activity and a corresponding modification of the used method.

The Phadebas^{R}-amylase test has proved to be a precise and simple method for the determination of alpha-amylase in egg yolk.

Literatur

1. Eidgenössische Lebensmittelverordnung vom 26. Mai 1936 (Stand am 1. 1. 1983), Kapitel 16, Eier und verarbeitete Eier, Artikel 174, Absatz 3. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1982.
2. Schweizerisches Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 2. Band, Kapitel 21, Eier und Eikonserven. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1969.
3. *Schormüller, J.* und *Hothorn, S.:* Ein Beitrag zur Phosphatasenbestimmung im Hühnerei. Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **52**, 57–66 (1956).
4. *Schormüller, J.* und *Hothorn, S.:* Die Phosphatasensysteme des Hühnereies und ihr Verhalten bei der Eilagerung. Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **55**, 29–37 (1959).
5. *Lear, S. A.* and *Foster, H. G.:* The rate of phosphatase inactivation in milk. J. Dairy Sci. **32**, 509–514 (1949).

6. *Jenness, R.* and *Patton, St.:* Grundzüge der Milchchemie. BLV, München–Basel–Wien 1967.
7. *Stadelman, W.* and *Cotterill, O. J.:* Egg science and technology, 2nd ed. Avi Publ. Co., New York 1977.
8. *Jäckle, M., Geiges, O.* und *Schmidt-Lorenz, W.:* Hitzeinaktivierung von Alpha-Amylase, *Salmonella typhimurium, Salmonella senftenberg* 775 W, *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* in Vollei. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **78**, 83–105 (1987).
9. *Bernt, E.:* Alkalische Phosphatase in Milch. In: Bergmeyer, H. U., Methoden der enzymatischen Analyse. 3. Auflage, Band I, p. 900–902. Verlag Chemie, Weinheim 1974.
10. *Jäckle, M.* und *Geiges, O.:* Bestimmung der Alpha-Amylase-Aktivität in Vollei und Eigelb mit dem Phadebas^{R}-Amylase-Test. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **77**, 420–434 (1986).
11. Pharmacia Diagnostics: Phadebas^{R}-Amylase-Test Gebrauchsinformation, 1979.
12. *Morton, R. K.:* Separation and purification of enzymes associated with insoluble particles. Nature (London) **166**, 1092–1095 (1950).
13. *Ritter, W.:* Die Verwendung der Phosphataseprobe im milchwirtschaftlichen Laboratorium. Milchwiss. **7**, 301–308 (1952).
14. *Monget, D.* et *Laviolette, P.:* Mise au point de microtests «phosphatase alcaline» et «peroxydase» pour le contrôle de pasteurisation du lait du vache. Le Lait **58**, 595–605 (1978).
15. *Griffiths, M. W.:* Use of milk enzymes as indices of heat treatment. J. Food Prot. **49**, 696–705 (1986).
16. *Murthy, G. K.:* Thermal inactivation of Alpha-Amylase in various egg products. J. Food. Sci. **35**, 352–356 (1970).
17. *Garibaldi, J. A., Straka, R. P.* and *Ijichi, K.:* Heat resistance of salmonella in various egg products. Appl. Microbiol. **17**, 491–496 (1969).
18. *Kiefer, H.:* Mikrobiologie der Eier und Eiprodukte. Arch. Lebensm. Hyg. **27**, 197–232 (1976).
19. *Hansen, N.-H.* and *Rieman, H.:* Factors affecting the heat resistance of nonsporing organisms. J. Appl. Bact. **26**, 314–333 (1963).
20. *Shrimpton, B. H., Monsey, J. B., Hobbs, B. C.* and *Smith, M. E.:* A laboratory determination of the destruction of Alpha-Amylase and salmonellae in whole egg by heat pasteurization. J. Hyg. Camb. **60**, 153–162 (1962).
21. Verordnung über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände (Hygieneverordnung) vom 14. September 1981 (Stand am 1. 4. 1983). Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1983.
22. Food and Agriculture Organization / World Health Organization (FAO/WHO): Microbiological specifications for foods. Expert Consultation, EC/Microbial/75/Report 1. FAO, Rome 1975.
23. U. S. Department of Agriculture: Agricultural Research Service: Egg pasteurization manual. ARS 74–48. Albany, Calif. 94710, March, 1969.
24. *Imai, C.:* Alpha-Amylase test as a method for distinguishing unpasteurized egg products from pasteurized products. Poultry Sci. **58**, 815–823 (1979).

Prof. Dr. W. Schmidt-Lorenz
Dr. O. Geiges
Laboratorium für Lebensmittelmikrobiologie
Institut für Lebensmittelwissenschaft
ETH-Zentrum
CH-8092 Zürich