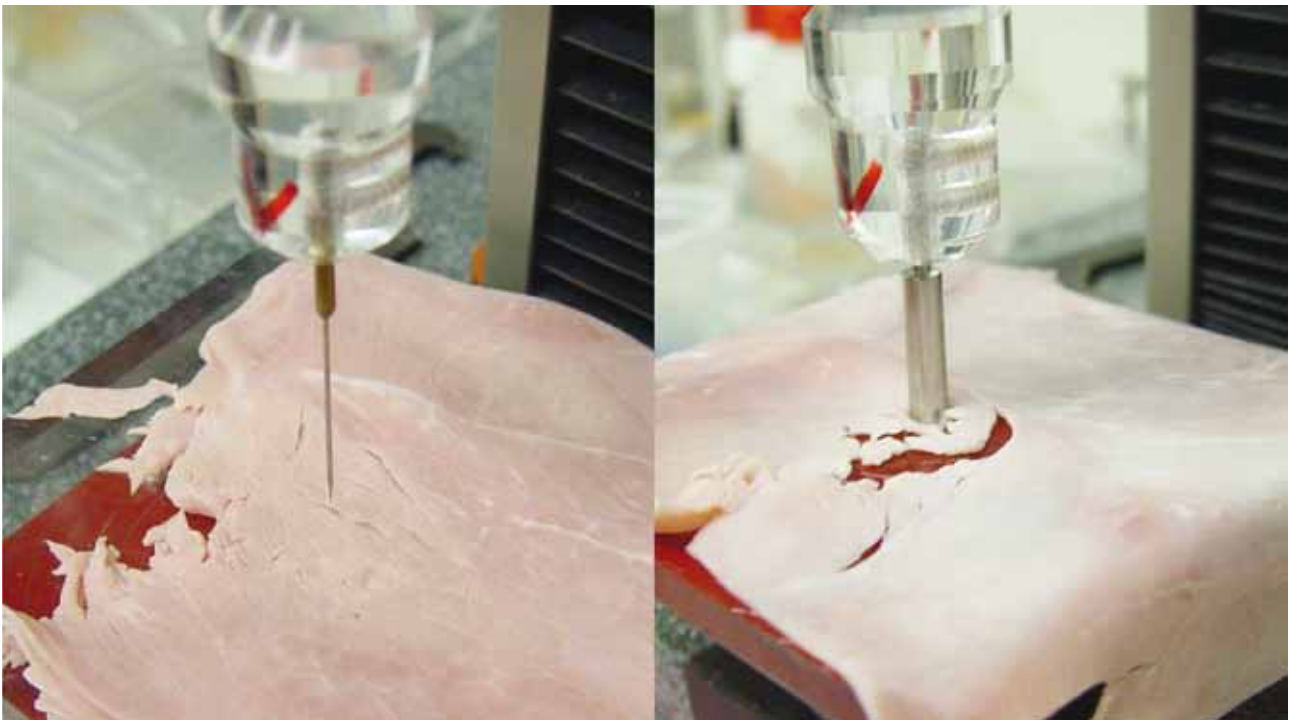


MIKROSKOPISCHE, RHEOLOGISCHE UND PHYSIKALISCHE CHARAKTERISIERUNG VON STRUKTURFEHLERN BEI KOCHSCHINKEN

Technisch-wissenschaftliche Informationen



Nadel- und Zylinderpenetration von destrukturierten Schinkenproben



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches
Volkswirtschaftsdepartement EVD
Forschungsanstalt
Agroscope Liebefeld-Posieux ALP

Inhalt

1	Einleitung	3
2.	Material und Methoden	4
2.1	Material	4
2.2	Methoden	4
2.3	Physikalische Methoden	6
2.4	Rheologische Methoden	6
2.5	Herstellung der Kochschinken	7
2.6	Statistische Auswertung	7
3	Resultate und Diskussion	8
3.1	Mikroskopie	8
3.2	Physikalische Untersuchungen	13
3.3	Rheologische Untersuchungen	14
3.4	Gesamtauswertung physikalische und rheologische Methoden	16
4	Zusammenfassung	17
4.1	Mikroskopische Aufnahmen	17
4.2	Rheologische und physikalische Untersuchungen	17
5	Zusammenfassung und Schlussfolgerung	18
	Résumé et conclusion	
	Summary and conclusion	
6	Literatur	19
7	Dank	20
8	Anhang	20

ALP science

Titelbild

Dominik Guggisberg

Erstveröffentlichung

Autoren

G. Hugenschmidt

D. Guggisberg

J. Cuthbert-Steven

R. Hadorn

Fotos

D. Guggisberg, ALP

Herausgeber

Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP

Schwarzenburgstrasse 161

CH-3003 Bern

Telefon +41 (0)31 323 84 18

Fax +41 (0)31 323 82 27

http: www.alp.admin.ch

e-mail: science@alp.admin.ch

Kontakt

Dominik Guggisberg

e-mail dominik.guggisberg@alp.admin.ch

Telefon +41 (0)31 323 81 18

Fax +41 (0)31 323 82 27

Gestaltung

RMG Design

Erscheinung

Mehrmals jährlich in unregelmässiger Folge

ISSN 1660-7856 (online)

ISBN 978-3-905667-71-4

Mikroskopische, rheologische und physikalische Charakterisierung von Strukturfehlern bei Kochschinken

Keywords

Ham production, Structural defects, Rheology, Microscopy, Physical characterisation

1. Einleitung

Im Rahmen des Neuaufbaues des Kompetenzbereiches Fleischverarbeitung wurden von ALP im Verlaufe der Jahre 2003 und 2004 verschiedene mittlere bis grosse Fleischverarbeiter besucht. Unabhängig voneinander betonten einige die Thematik von zeitweise auftretenden Strukturproblemen bei der wirtschaftlich relevanten Kochschinkenproduktion (Stotzen, Schulter).

Erhebungen von Hugenschmidt *et al.* (2007) in sieben Praxisbetrieben ergaben, dass im Durchschnitt 7,4% der Kochschinkenscheiben vom Defekt betroffen sind und bis zu einem Drittel der als unverkäuflich aussortierten Schinkenscheiben direkt durch Destrukturierungen, die im Mittel rund einen Fünftel der Kochschinkenscheibe ausmachen, bedingt sind.

In Studien, die sich mit den Ursachen des Defekts beschäftigt haben, konnte gezeigt werden, dass das n-Allel des Hal-Gens und das RN⁻-Allel des RN-Gens den Fehler verschlimmern (Franck *et al.*, 2000; Le Roy *et al.*, 2001). Die Destrukturierungen sind positiv korreliert zum Gewicht der Tiere und die Schlachtcharge sowie der End-pH-Wert des Ausgangsmaterials haben ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf das Auftreten des Phänomens (Franck *et al.*, 2002; Minvielle *et al.*, 2001). Überdies sind auch der frühpostmortale Verlauf des pH-Wertes und der Temperaturverlauf im Innern des Stotzens für das Auftreten des Fehlers von Bedeutung (Hugenschmidt *et al.*, 2009a; Scheeder *et al.*, 2009, Franck *et al.*, 2002). Inwieweit das Geschlecht und der Magerfleischanteil oder eventuell auch witterungsbedingte Einflüsse zur Problematik beitragen, war ebenfalls Bestandteil verschiedener Untersuchungen (Franck *et al.*, 2002; Minvielle *et al.*, 2003).

Des Weiteren besteht der Verdacht, dass der Schaden durch eine gräuliche, strukturlose und wässrige Stelle im Innern des Schinkenrohmaterials (Grenzfläche der *Mi. adductor und semimembranosus* und teilweise im *M. biceps femoris*) hervorgerufen wird, die erst nach dem Entfernen der Knochen zum Vorschein kommt (Balac *et al.*, 1998).

Die Problematik der Destrukturierungen wurde bisher zwar von diversen Forschungsgruppen v.a. in Frankreich und von der fleischverarbeitenden Industrie untersucht, allerdings stets aus der Perspektive des Rohmaterials und ohne Berücksichtigung von technologischen Aspekten. Die genaue Charakterisierung des betroffenen Endprodukts (Kochschinken) zwecks Abklärung der Ursachen der Destrukturierungen wurde bisher jedoch stets ausser acht gelassen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, optisch sichtbare Unterschiede zwischen einem nicht destrukturierten Muskel mit einem destrukturierten Muskel innerhalb derselben Kochschinkenscheibe und innerhalb desselben Muskelstranges mikroskopisch, rheologisch und mit weiteren physikalischen Analysen aufzuzeigen sowie allfällige Unterschiede qualitativ oder sogar quantitativ zu beschreiben. Dazu sollen verschiedene mikroskopische (Binokular, Lichtmikroskop, Laserscanningmikroskop und Rasterelektronenmikroskop) und zwei verschiedene rheologische Methoden zur Anwendung gelangen: Nadel- und Zylinderpenetration. Zudem wurden die Daten von pH-Wert, der Farbe (CIEL*a*b*-System) sowie des Destrukturierungsgrades ermittelt, ausgewertet und verglichen.

2 Material und Methoden

2.1 Material

Probenmaterial:

- Handelsprodukte (Kochschinken ca. 1.5mm dick geschnitten, 5 bis 9 Schinkenscheiben pro Packung, Chargen März und April 2007) aus drei Fleischverarbeitungsbetrieben, teilweise mit Strukturfehlern

Geräte:

- Mikroskope:
 - Lichtmikroskop (Olympus B201, Volketswil, Schweiz)
 - Laserscanningmikroskop (LSM 510 META, Zeiss, Feldbach, Schweiz)
 - Binokular (Sciencecope, SSZ Model, Heerbrugg, Schweiz)
 - Rasterelektronenmikroskop (ECO SEM 3200C, Amray Inc., Santa Clara, USA)
- Universalprüfmaschine (Zwick Z2.5/TN1S, Ulm, Deutschland)
 - Auswertungssoftware testXpert V10.1
 - Normnadel (DIN 52010)
 - Prüfstempel (Zylinder 6mm, Typ Eigenbau)
- pH-Meter: Metrohm 826 pH mobile, Einstichelektrode 6.0226.100 (Metrohm, Herisau, Schweiz)
- Farbmessgerät: Spectroshade 245 (MHT Optic Research, Niederhasli, Schweiz)

2.2 Methoden

a) Aufnahmen mit dem Rasterelektronenmikroskop

Probenvorbereitung:

Die normalen sowie die destrukturierten Proben (5x5 mm) wurden mit einem Skalpell aus der Schinkenscheibe ausgeschnitten und auf dem Probeteller platziert. Anschliessend wurden die Proben in die Probekammer gestellt und unter Vakuum (100 mTorr) betrachtet.

b) Goldner Färbung (Lichtmikroskop)

Verwendete Lösungen:

- Hämatoxylin Weigert:
 - Lösung A: 1 g Hämatoxylin (kristallin)
100 ml Alkohol 95 %
4 Wochen reifen lassen
 - Lösung B: 1.16 g Eisenchlorid $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$
2 ml Salzsäure 25 %
Auffüllen mit dest. Wasser auf 100 mlArbeitslösung: Lösungen A und B im Verhältnis 1:1 mischen (8 Tage haltbar)
- Säurefuchsin-Ponceau:
 - 0.4 g Ponceau de Xylidin
 - 0.1 g Säurefuchsin
 - 300 ml dest. Wasser
 - 0.6 ml Eisessig
- Phosphormolybdänsäure-Orange G:
 - 25 g Phosphormolybdänsäure
 - 500 ml dest. Wasser
 - 10.0 g Orange G
- Lichtgrün:
 - 1.5 g Lichtgrün SF
 - 500 ml dest. Wasser
 - 1 ml Eisessig
- Xylol
- Eukit

Herstellen von Gefrierschnitten:

Fünf übereinander liegende Schinkenscheiben wurden in flüssigem Stickstoff gefroren und bei -80°C aufbewahrt. Vor der Herstellung von Gefrierschnitten wurden die Proben für 10 Minuten bei -30°C gelagert und anschliessend bis zur Färbung und zur mikroskopischen Untersuchung erneut bei -30°C aufbewahrt.

Vorgehen bei der Goldner Färbung:

Zur Färbung wurden die Proben auf einem Objektträger platziert und für eine vorgegebene Dauer in verschiedene Lösungen getaucht bzw. für 15 Sekunden mit verschiedenen Lösungen gespült. Nach dem Färben wurden die Proben zur Konservierung mit Eukit eingedeckt und 10 Minuten trocknen gelassen.

Lösung	Einwirkdauer*
1) Alkohol 70 %	5 min
2) Eisenhämatoxylin (Arbeitslösung)	15 min
3) Spülen mit dest. Wasser	
4) Hahnenwasser	15 min
5) Spülen mit dest. Wasser	
6) Säurefuchsin-Ponceau	15 min
7) 2 x spülen mit Essigsäure 1 %	
8) Phosphormolybdänsäure-Orange G	10 min
9) 2 x spülen mit Essigsäure 1 %	
10) Lichtgrün	15 min
11) 2 x spülen mit Essigsäure 1 %	
12) Spülen mit Alkohol 70 %	
13) 2 x spülen mit Alkohol 100 %	3 min
14) Xylol I	5 min
15) Xylol II	
16) Eukit	

* Dauer des jeweiligen Schrittes

c) Rhodamin B Färbung

Verwendete Lösungen:

- Rhodamin B (Fluka 64210)

Eine kreisförmige Probe (Durchmesser ~25 mm) aus einer Schinkenscheibe (Höhe ~1 mm) wurde in eine Petrischale überführt und mit 0.25 µL Rhodamin B (Fluka 64210) versetzt. Die Probe wurde während 12 Stunden bei 5°C gelagert, um die Diffusion des Farbstoffs in die gesamte Probe zu ermöglichen. Die Anregung des Rhodamin B erfolgte mit Licht einer Wellenlänge von 543 nm, da dieses bei Rhodamin B eine starke Fluoreszenzlichtemission (Emissionsmaximum bei 560 nm) auslöst.

d) Hämatoxylin-Eosin-Färbung (Lichtmikroskop)

Verwendete Lösungen:

- Hämatoxylin Weigert:

- Lösung A: 1 g Hämatoxylin (kristallin) (Merck 4515)
100 ml Alkohol 95 %
ca. 4 Wochen reifen lassen

- Lösung B: 1.16 g Eisenchlorid $FeCl_3 \times 6 H_2O$ (Merck 4944)
2 ml Salzsäure 25 %
Auffüllen mit dest. Wasser auf 100 ml

→ Arbeitslösung: Lösung A und B im Verhältnis 1:1 mischen (8 Tage haltbar)

- Eosinlösung: 4 g Eosin einwiegen und mit dest. Wasser auf 400 ml auffüllen
- 100 % Alkohol
- 95 % Alkohol
- 80 % Alkohol
- 50 % Alkohol
- Xylol
- 80 % Alkohol mit HCl (1 Liter 80 % Alkohol mit 5 ml HCl 25 %)
- 80 % Alkohol mit NH_3 (1 Liter 80 % Alkohol mit 5 ml NH_3 25 %)

Herstellen von Gefrierschnitten:

Fünf übereinander liegende Schinkenscheiben wurden in flüssigem Stickstoff gefroren und bei -80°C aufbewahrt. Vor der Herstellung von Gefrierschnitten wurden die Proben für 10 min bei -30°C gelagert und anschliessend bis zur Färbung und der mikroskopischen Untersuchung erneut bei -30°C aufbewahrt.

Vorgehen bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung:

Zur Färbung wurden die Proben auf einem Objektträger platziert und für eine vorgegebene Dauer in verschiedene Lösungen getaucht bzw. für 15 Sekunden mit verschiedenen Lösungen gespült. Nach dem Färben wurden die Proben zur Konservierung mit Eukit eingedeckt und 10 Minuten trocknen gelassen.

Lösung	Einwirkdauer*
1) Alkohol 95 %	3 min
2) Alkohol 80 %	3 min
3) Eisenhämatoxylin (Arbeitslösung)	15 min
4) Spülen mit Wasser dest.	
5) Hahnenwasser	15 min
6) Spülen mit Wasser dest.	
7) 80 % Alkohol	15 sek
8) 80 % Alkohol mit HCl	15 sek
9) 80 % Alkohol	15 sek
10) 80 % Alkohol mit NH_3	15 sek
11) 80 % Alkohol	15 sek
12) 80 % Alkohol	15 sek
13) Spülen mit Wasser dest.	
14) Eosin	5 min
15) 50 % Alkohol	15 sek
16) 80 % Alkohol	15 sek
17) 95 % Alkohol	3 min
18) 100 % Alkohol	3 min
19) 100 % Alkohol	3 min
20) Xylol I	3 min
21) Xylol II	5 min
22) Eukit	

2.3 Physikalische Methoden

a) pH-Wert

2g Kochschinken (destrukturiert oder normal) wurden homogenisiert und in ein 2 ml-Zentrifugengefäß (Eppendorf) transferiert. Der pH-Wert wurde mittels Einstichelektrode (6.0226.100, Metrohm, Herisau, Schweiz) im Homogenat ermittelt.

b) Farbmessung

Eine kreisrunde (Höhe: 3 mm, Durchmesser: 7 mm) Schinkenprobe wurde in einer absorbierenden Prüfschale (Höhe: 3 mm, Durchmesser: 7 mm) platziert. Die Farbwerte (L*-, a*-, b*-Wert) wurden mit Hilfe eines Spektrophotometers (Spectroshade 245, MHT Optic Research, Niederhasli, Schweiz) ermittelt.

c) Einteilung der Destrukturierungen in Gruppen

Basierend auf dem Schweregrad der Destrukturierungen erfolgte eine Einteilung des Defektes in drei Gruppen (Hugenschmidt *et al.*, 2007): Destrukturierte Zonen 1. Grades zeigen erste Anzeichen einer veränderten Struktur. In destrukturierten Zonen 2. Grades treten klar erkennbare Beeinträchtigungen der Struktur in Form von feinen, aneinanderhängenden Rissen und einer weichen Textur auf. Destrukturierte Zonen 3. Grades weisen eine kaum zusammenhängende, cremig-pastöse Textur auf. Zudem treten bei diesem Grad der Destrukturierung häufig auch grössere Löcher auf. Vom Defekt nicht betroffene Schinkenscheiben wurden als „normal“ bezeichnet.

2.4 Rheologische Methoden

a) Nadelpenetration

Die Probe (Kochschinkenscheibe, ca. 1.5 mm) wurde auf den Plexiglasteller aufgelegt und die Normnadel (Nullabgleich vorher durchgeführt) mit konstanter Geschwindigkeit durch die Schinkenprobe „gestochen“.

Wichtigste Parameter der Methode:

- Versuchsart: Druckversuch (3-fach Messung)
- Ergebnisauswahl: F (1 mm), E-Modul (1-10 %, lagegeregelt, Sekante, 10 mm/min)
- Vorkraft: 0.02 N
- Prüfgeschwindigkeit: 10 mm/min
- Max. Längenänderung: 1.5 mm
- Einstelllänge-Position: 5 mm
- Dehnungsaufnehmer: Messlänge korrigieren
- Einstelllänge nach der Prüfung einstellen

Ausgewertet wird typischerweise die Kraft bei 1 mm (F 1 mm). Eine Messung mit einer Dreifach-Bestimmung ist beispielhaft in Abbildung 1 aufgezeigt.

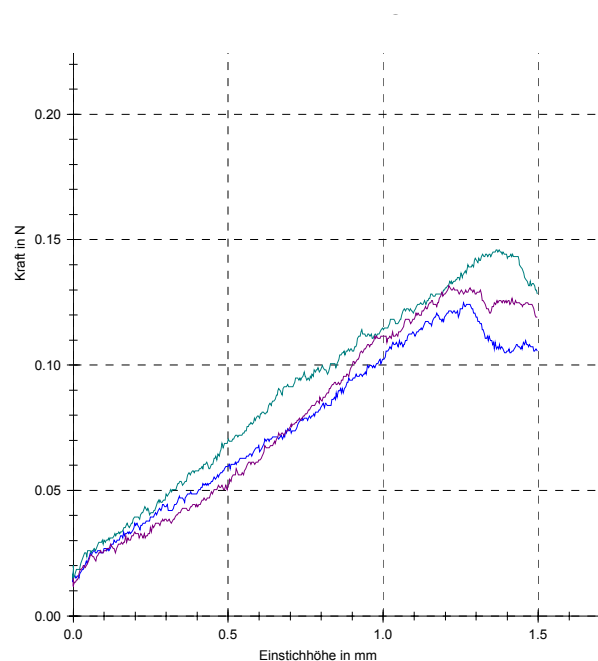


Abb. 1 Kraft über der Einstichhöhe am Beispiel einer Dreifach-Bestimmung in einem normalen Muskel

b) Zylinderpenetration (Texturanalyse)

Die Probe (Kochschinkenscheibe, ca. 1.5 mm) wurde auf einen roten quadratischen Teller aufgelegt. Der Zylinder (6 mm, Nullabgleich vorher durchgeführt) wird mit konstanter Geschwindigkeit auf die Schinkenprobe „gedrückt“. Nach der ersten Druckphase wird der Zylinder nach einer Haltezeit von 5 Sekunden wieder aus der Probe herausgezogen. Anschliessend folgt eine zweite Druckphase mit einer zweiten Entlastung.



Abb. 2 Grafische Veranschaulichung der Texturanalyse

Wichtigste Parameter der Methode:

- Prüffart: Druck
- LE-Position: 5 mm, LE übernehmen
- Vorkraft: 15 mN, Kraft „Nullen“ nach Vorkraft
- Anzahl Messzyklen: 2
- Belastungspunkt: 80 % Dehnung
- Wartezeit Belastungspunkt: 5 Sekunden
- Halteart am Belastungspunkt: lagegeregelt
- Entlastungspunkt: 0 % Dehnung
- Wartezeit am Entlastungspunkt: 5 Sekunden
- Halteart am Entlastungspunkt: lagegeregelt
- Geschwindigkeit Messzyklen: 50 mm/min
- Modulberechnung: Regression zwischen 0.1 bis 0.5 mm
- Ergebnisauswahl¹: Härte, Arbeit (1. Druckversuch), Klebneigung, Kauverhalten, Bindekraft, Klebrigkeit, Rückfederung
- LE einstellen nach der Prüfung

2.5 Herstellung der Kochschinken

Zur Herstellung der Kochschinken wurde lediglich Fleisch aus schweizerischen Mast- und Schlachtbetrieben verwendet. Die Produktion der Kochschinken erfolgte jeweils gemäss der firmeneigenen Rezeptur der beteiligten Betriebe.

Teilstück	n	Betrieb
Unterspälten	22	A
Eckstück	21	A
Eckstück	7	B
Unterspälten	3	B
Eckstück	29	C
Unterspälten	17	C

n: Anzahl produzierter Kochschinkenstangen

Tab. 1 Herkunft und Anzahl der untersuchten Proben

Insgesamt nahmen drei Betriebe an den Untersuchungen teil (Tabelle 1). Diese stellten spezielle Kochschinkenchargen aus jeweils einem Stotzenteilstück (anstatt wie üblich einem Gemisch diverser Stotzteile) her. Dabei handelte es sich um das Eckstück und die Unterspälte. Die jeweiligen Messungen erfolgten jeweils in einer destrukturierten und einer normalen Zone innerhalb derselben Kochschinkenscheibe.

2.6 Statistische Auswertung

Um Unterschiede zwischen normalen und destrukturierten Zonen innerhalb einer Kochschinkenscheibe zu prüfen, wurde jeweils ein paarweiser Vergleich mittels t-Test auf der Basis $P \leq 0.05$ durchgeführt. Zudem gelangte eine lineares gemischtes Model mit den fixen Faktoren Defekt (normal/destrukturiert), Muskel (Unterspälte/Eckstück) und Betrieb (A/C) sowie dem zufälligen Faktor Probe zur Anwendung.

¹ Erklärungen im Anhang

3 Resultate und Diskussion

3.1 Mikroskopie

Die Strukturprobleme wurden mit verschiedenen optischen Geräten (Binokular, Lichtmikroskop, Laserscanningmikroskop, Rasterelektronenmikroskop) beurteilt und in den folgenden Abbildungen qualitativ beschrieben.

3.1.1. Aufnahmen mit dem Binokular

Die normale Schinkenscheibe (links) weist eine glatte, in Farbe und Textur regelmässige Oberfläche auf (Abbildung 3). Im Gegensatz dazu ist eine aufgehellte, raue Oberfläche begleitet von einer starken Faserung der Muskulatur in einzelne Muskelfaserbündel für die destrukturierte Probe charakteristisch.

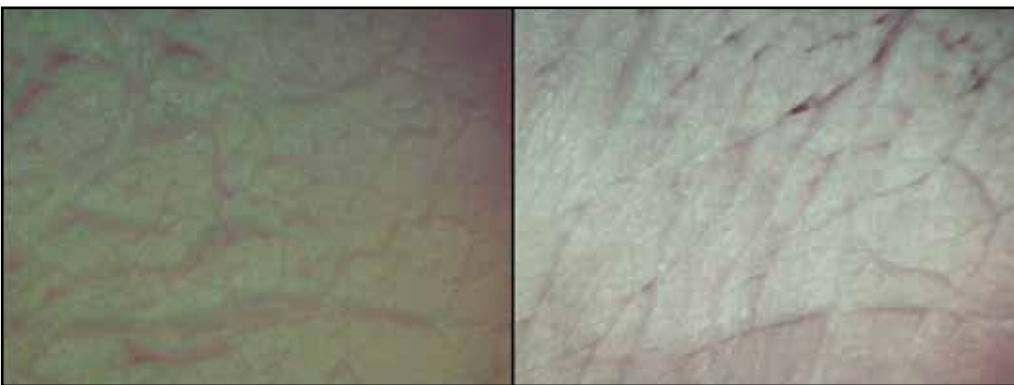


Abb. 3 Aufnahme mit dem Binokular (Sciencecope, Vergrößerung: 7-fach):
Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit einem Strukturfehler

3.1.2. Aufnahmen mit dem Rasterelektronenmikroskop

In Abbildung 4, oben ist bei der normalen Probe erneut eine glatte Oberfläche mit nur geringfügigen Rissen erkennbar, während die destrukturierte Probe gröbere Furchen aufweist. Im Gegensatz dazu weisen in Abbildung 4, unten sowohl die normale als auch die destrukturierten Probe Risse auf. Allerdings ist in der destrukturierten Probe neben den kleinen Rissen zwischen den Muskelfaserbündeln auch eine grössere Furche vorhanden. Damit zeigt sich auch im Kleinen, dass die destrukturierten Kochschinken zu einem reduzierten Scheibenzusammenhalt neigen, der von einer vermehrten Rissbildung begleitet wird.

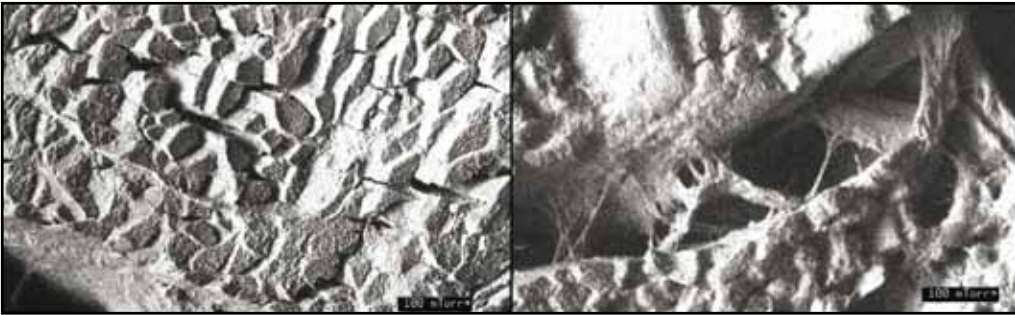


Abb. 4 Aufnahme von zwei Kochschinkenproben mit dem Rasterelektronenmikroskop (Rasterelektronenmikroskop (Amray ECO SEM 3200C, Vergrößerung: 100-fach, Druck: 100mTorr): Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

3.1.3. Lichtmikroskopische Aufnahmen

Abbildung 5 zeigt mit dem Lichtmikroskop durchgeführte Aufnahmen.

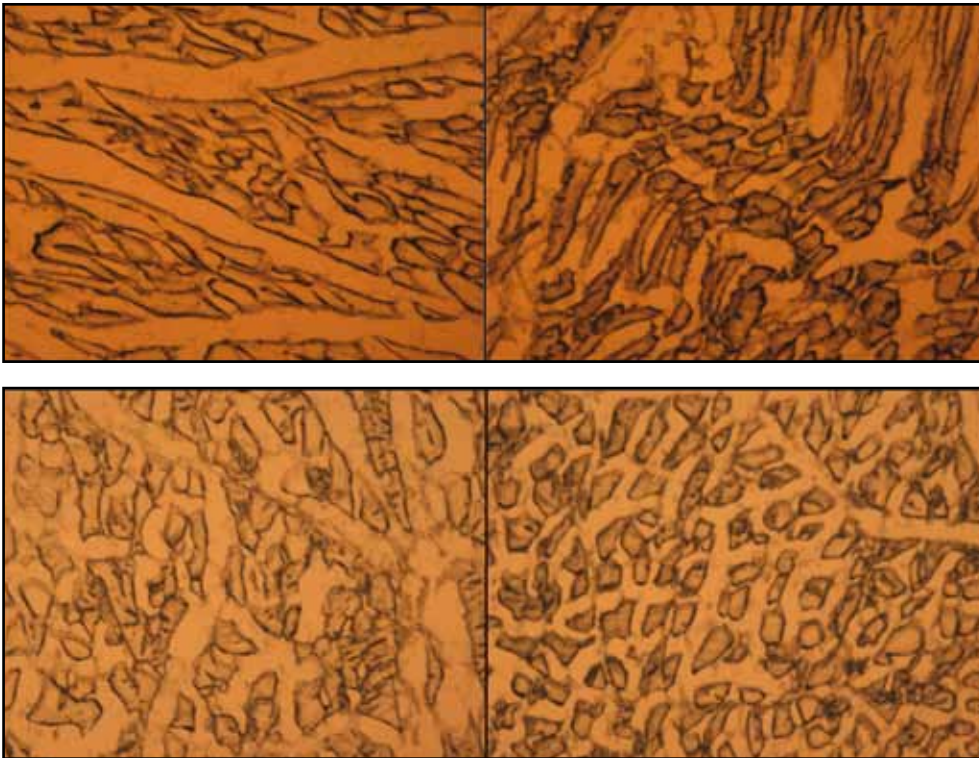


Abb. 5 Aufnahme von zwei Kochschinkenproben mit dem Lichtmikroskop (Olympus B201; Vorbereitung: Gefrierdünnchnitt, Vergrößerung: 10x 10-fach): Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

Eine klare optische Unterscheidung der defekten und normalen Proben ist mittels Lichtmikroskopie nicht möglich. Es ist allerdings durchaus denkbar, dass die Schnittrichtung einen Einfluss auf die Muskelfaserstruktur der Kochschinken ausübt und die Unterschiede zwischen normalen und destrukturierten Kochschinkenproben maskiert. Dies könnte erklären, weshalb die zweite normale Probe in der Abbildung 5 (unten links) den beiden destrukturierten Proben mehr gleicht als der anderen normalen Kochschinkenprobe. Die Proben wurden nicht eingefärbt, weshalb nicht mit Sicherheit klar ist, was als Muskel und was als Bindegewebe zu interpretieren ist. Es besteht jedoch die Möglichkeit, Bindegewebe und Muskelfasern mit der Methode der „Goldner-Färbung“ oder mittels „Hämatoxilin-Eosin-Färbung“ spezifisch einzufärben (Lachowicz *et al.*, 2003).

In den Abbildungen 6 und 7 wurden die Kochschinkenproben nach der „Goldner-Methode“ eingefärbt. Die Muskelfasern von ungekochten Proben weisen üblicherweise eine rötliche Färbung auf; die untersuchten Kochschinkenproben erscheinen allerdings dunkelgrün. Möglicherweise ist diese Tatsache auf den Salzgehalt und das Kochen der Schinkenprobe zurückzuführen. Ein offensichtlicher optischer Unterschied in Abhängigkeit der Destrukturierungen ist jedoch erneut nicht ersichtlich.

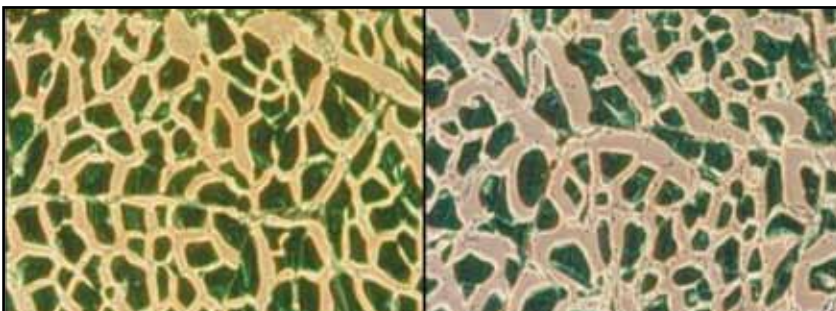


Abb. 6 Aufnahme mit dem Lichtmikroskop (Leica; Vorbereitung: Gefrierdünnschnitt, „Goldner-Färbung“, Vergrößerung: 10 x 10-fach): Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

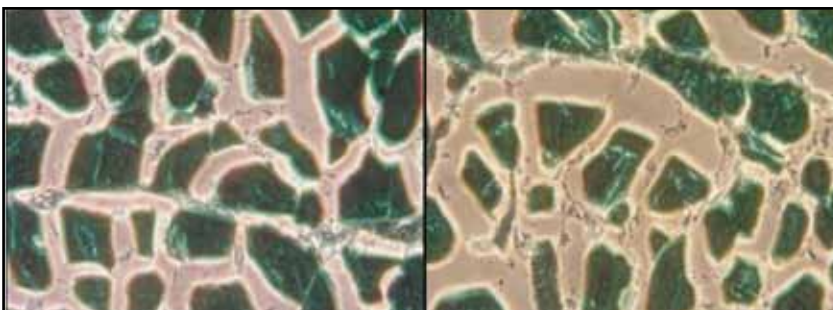


Abb. 7 Aufnahme mit dem Lichtmikroskop (Leica; Vorbereitung: Kryodünnschnitt, „Goldner-Färbung“, Vergrößerung: 20 x 10-fach): Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

Die Abbildungen 8 und 9 zeigen Aufnahmen mit dem Lichtmikroskop nach einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Rötlich erscheinen die Muskelfasern, während der intrazelluläre Raum eine graue Farbe aufweist. Letzterer erscheint in den defekten Proben im Verhältnis zu den Muskelfasern vergrößert. Es bleibt jedoch unklar, ob der Unterschied erst durch das Zerreißen der Schinken beim Schneiden entstanden ist oder ob der Unterschied bereits in der Rohware vorhanden war. Die Muskelfasern der destrukturierten Probe scheinen etwas kleiner zu sein und deren Strukturierung ist weniger deutlich sichtbar.

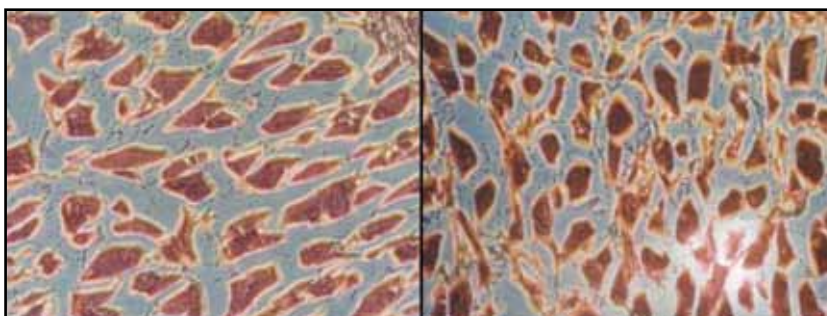


Abb. 8 Aufnahme mit dem Lichtmikroskop (Leica; Vorbereitung: Kryodünnschnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergrößerung: 10x 10-fach):
Links: normales Handelsprodukt; rechts Produkt mit Strukturfehler

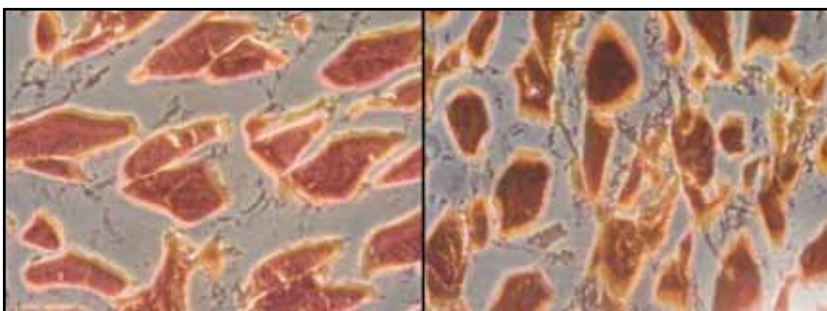


Abb. 9 Aufnahme mit dem Lichtmikroskop (Leica; Kryodünnschnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergrößerung: 20x 10-fach):
Links: normales Handelsprodukt; rechts Produkt mit Strukturfehler

3.1.3. Aufnahmen mit dem Laserscanningmikroskop (CLSM)

Die Abbildungen 10 bis 13 entstanden nach Färbung der Proben mit Rhodamin B, einem für Eiweiss spezifischen Farbstoff, und anschließender Aufnahme mit einem Laserscanningmikroskop. Im normalen Handelsprodukt sind die Begrenzungen der Muskelfasern deutlicher zu sehen als im Produkt mit Strukturfehlern. Bei stärkerer Vergrößerung (Abbildungen 12 und 13) ist eine rötliche Lösung im interzellulären Raum zu beobachten (Pfeile). Dies deutet darauf hin, dass sich Proteine in diesem interzellulären Raum befinden. Der interzelluläre Raum scheint bei der destrukturierten Probe vergleichsweise grösser zu sein.

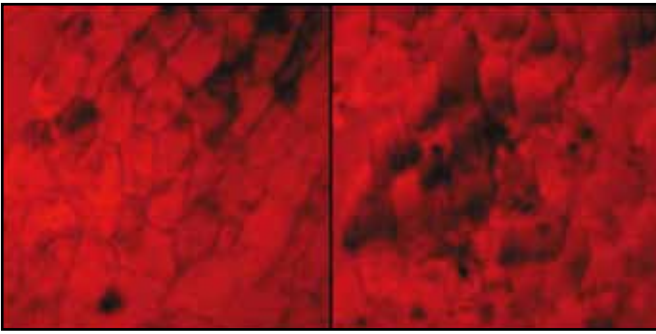


Abb. 10 Aufnahme mit dem CLSM (LSM 510 META, Zeiss, Feldbach, Switzerland, Ex: 543 nm, Em: Long Pass 560nm; 20-fache Vergrößerung).
Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

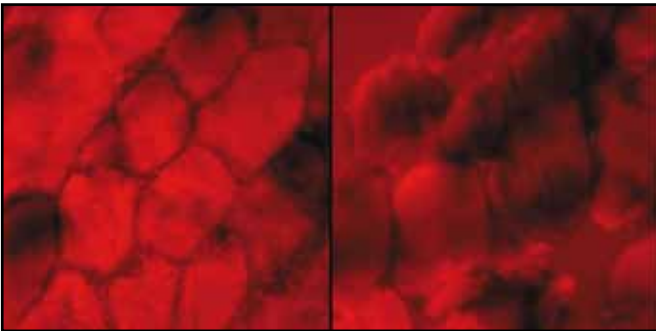


Abb. 11 Aufnahme mit dem CLSM (LSM 510 META, Zeiss, Feldbach, Switzerland, Ex: 543 nm, Em: Long Pass 560nm; 40-fache Vergrößerung):
Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

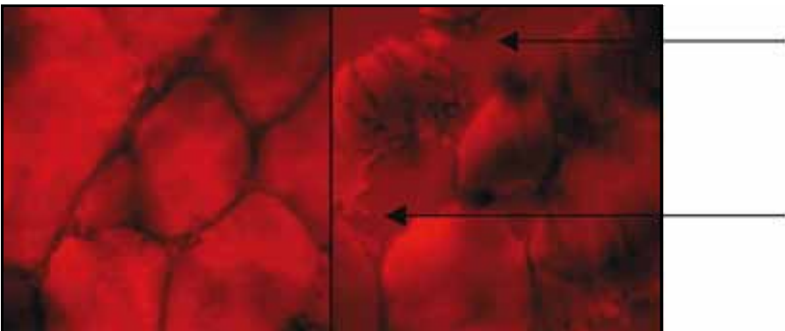


Abb. 12 Aufnahme mit dem CLSM (LSM 510 META, Zeiss, Feldbach, Switzerland, Ex: 543 nm, Em: Long Pass 560nm; 63-fache Vergrößerung):
Links: normales Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

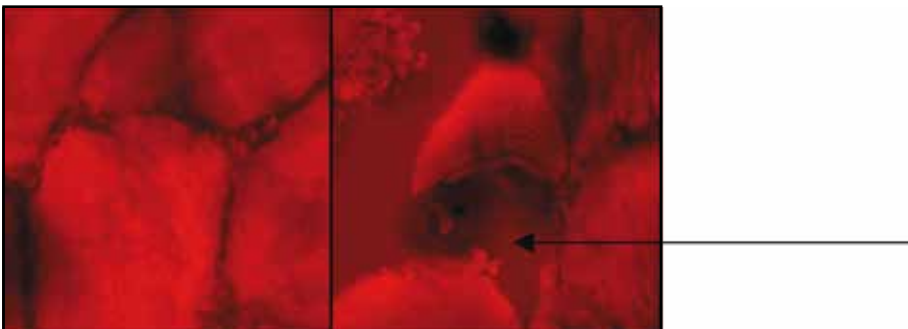


Abb. 13 Aufnahme mit dem CLSM (LSM 510 META, Zeiss, Feldbach, Switzerland, Ex: 543 nm, Em: Long Pass 560nm; 100-fache Vergrößerung):
Links: Handelsprodukt; rechts: Produkt mit Strukturfehler

3.2 Physikalische Untersuchungen

3.2.1. Auftreten der unterschiedlichen Destrukturierungsgrade
Insgesamt wurden 102 verschiedene destrukturierte Schinkenproben untersucht. Davon liessen sich 18 Proben dem 3., 40 dem 2. und 44 dem 1. Destrukturierungsgrad zuordnen.

3.2.2. pH-Wert und Farbmessung

In den Tabellen 2 und 3 sind die Ergebnisse der pH-Wert- und der Farbmessungen dargestellt.

Tab. 2 pH-Werte, L^{*}-,a^{*}- und b^{*}-Werte von destrukturierten und normalen Kochschinken, hergestellt aus Unterspälten

Betrieb	A (n=22)			B (n=7)			C (n=29)		
	Dest.	Normal	Sign.	Dest.	Normal	Sign.	Dest.	Normal	Sign.
pH-Wert [-]	6.0	6.1	***	6.0	6.0	n.s.	5.8	5.9	*
L [*] [-]	65.7	56.4	***	59.8	52.8	n.s.	65.0	54.7	***
a [*] [-]	10.1	13.4	**	12.6	14.4	n.s.	9.8	13.2	**
b [*] [-]	10.2	9.8	n.s.	10.1	9.6	n.s.	9.3	8.4	n.s.

Dest.: Destrukturiert, Sign.: Signifikanzniveau, * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, n.s.: nicht signifikant

Tab. 3 pH-Werte, L^{*}-,a^{*}- und b^{*}-Werte von destrukturierten und normalen Kochschinken, hergestellt aus Eckstücken

Betrieb	A (n=21)			B (n=3)			C (n=17)		
	Dest.	Normal	Sig.	Dest.	Normal	Sig.	Dest.	Normal	Sig.
pH-Wert [-]	5.8	5.9	n.s.	6.0	6.1	*	5.9	5.9	***
L [*] [-]	66.6	53.3	***	66.7	58.1	**	68.1	58.3	***
a [*] [-]	10.4	15.0	***	7.6	9.6	n.s.	8.6	13.0	***
b [*] [-]	11.8	10.7	*	8.8	7.5	n.s.	9.2	9.1	n.s.

Dest.: Destrukturiert, Sign.: Signifikanzniveau, * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, n.s.: nicht signifikant

In vier Chargen (Unterspälte: Betriebe A und C sowie Eckstück: Betriebe B und C) wiesen die destrukturierten Stellen einen signifikant tieferen pH-Wert als die normalen Kochschinken auf. Die Farb-analyse der Kochschinken hat ferner gezeigt, dass sich die L^{*}- und a^{*}-Werte der Destrukturierungen erwartungsgemäss signifikant von den normalen Kochschinken unterscheiden. Diese Differenzen lassen sich mit dem pH-Wert in Verbindung bringen, was sich auch daran zeigt, dass je tiefer der pH-Wert des Kochschinkens abfällt, desto heller erscheint dessen Farbe (Pearson Korrelationskoeffizient = -0.299, $P < 0.001$).

3.3 Rheologische Untersuchungen

Mittels Nadel- und Zylinderpenetration liessen sich signifikant verschiedene Kräfte unterschiedlicher Art an destrukturen und normalen Stellen bestimmen (Tabellen 4 und 5). Die Werte der destrukturen Stellen fielen im paarweisen Vergleich bei den Messungen mittels Zylinderpenetration jeweils tiefer aus als diejenigen in den normalen Kochschinken, während sich bei den Messungen der Härte mittels Nadelpenetration eine umgekehrte Reihenfolge zeigte. Auch für die die Arbeit, die Klebneigung und die Rückfederung konnten vereinzelt signifikante Differenzen zwischen normalen und destrukturen Proben gefunden werden.

Tab. 4 Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen in Kochschinken aus Unterspälten der drei verschiedenen Betriebe

Betrieb	A (n=22)			B (n=3)			C (n=17)		
	Dest.	Normal	Sign.	Dest.	Normal	Sign.	Dest.	Normal	Sign.
Härte ¹ [N]	0.05	0.08	***	0.03	0.08	**	0.05	0.08	***
Härte ² [N]	25.84	18.14	***	24.55	21.62	n.s.	25.20	19.54	***
Arbeit ² [mJ]	10.08	9.37	n.s.	8.79	9.61	n.s.	8.85	8.49	n.s.
Klebneigung ² [mJ]	0.07	0.08	n.s.	0.07	0.07	n.s.	0.08	0.07	n.s.
Kauverhalten ² [N]	4.76	1.49	***	5.35	1.73	n.s.	4.84	2.99	**
Bindekraft ² [N]	0.29	0.21	***	0.28	0.17	n.s.	0.27	0.23	*
Klebrigkeit ² [N]	7.47	3.55	***	6.80	3.92	n.s.	7.01	4.48	***
Rückfederung ² [-]	0.64	0.49	**	0.72	0.41	n.s.	0.65	0.61	n.s.

¹Nadelpenetration, ²Zylinderpenetration, Dest.: Destrukturiert, Sign.: Signifikanzniveau, * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, n.s.: nicht signifikant

Tab. 5 Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen in Kochschinken aus Eckstücken der drei verschiedenen Betriebe

Betrieb	A (n=21)			B (n=7)			C (n=29)		
	Dest.	Normal	Sign.	Dest.	Normal	Sign.	Dest.	Normal	Sign.
Härte ¹ [N]	0.05	0.07	***	0.07	0.11	**	0.05	0.09	***
Härte ² [N]	23.00	23.17	n.s.	29.07	18.48	**	29.30	23.88	***
Arbeit ² [mJ]	9.02	10.56	n.s.	10.98	9.85	*	10.21	10.40	n.s.
Klebneigung ² [mJ]	0.07	0.08	n.s.	0.09	0.06	*	0.09	0.08	**
Kauverhalten ² [N]	4.30	3.48	n.s.	6.83	4.47	n.s.	4.62	1.64	***
Bindekraft ² [N]	0.28	0.23	**	0.30	0.32	n.s.	0.26	0.17	***
Klebrigkeit ² [N]	6.58	5.48	n.s.	8.78	5.72	n.s.	7.53	3.90	***
Rückfederung ² [-]	0.62	0.55	n.s.	0.73	0.66	n.s.	0.58	0.39	***

¹Nadelpenetration, ²Zylinderpenetration, Dest.: Destrukturiert, Sign.: Signifikanzniveau, * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$, n.s.: nicht signifikant

In Abbildung 14 ist der Verlauf der Kraft über der Penetration in einer normalen Schinkenprobe veranschaulicht. Die negativen Kräfte resultieren aus der Entlastungsphase. Im zweiten Zyklus sind deutlich kleinere Kräfte sichtbar. Auffallend ist, dass der Anstieg der Kraftkurve (Deformationsmodul) praktisch linear verläuft (Pfeil). Abbildung 15 gibt die zugehörige Arbeit über der Penetration derselben Proben wie in Abbildung 14 wieder. Dabei zeigt sich, dass die Entlastungsphase praktisch keinen Beitrag zur Gesamtarbeit leistet. Im zweiten Zyklus sind nur noch kleinere Kräfte wirksam, weshalb die Arbeit deutlich kleiner ausfällt.

Im Gegensatz zur normalen Probe verläuft der Anstieg der Kraftkurve (Deformationsmodul) in der destrukturen Probe nicht linear (Abbildung 16, Pfeil). Eine mögliche Interpretation dieses Unterschiedes besteht darin, dass bei letzteren die Struktur relativ schnell zerbricht und möglicherweise Wasser ausgepresst wird. Ferner ist es auch in Anbetracht der zweifach durchgeführten Messungen möglich, dass die Faserrichtung der Muskeln die Texturmessung beeinflusst. Dies deshalb, weil sich andere Messwerte ergeben, wenn die Messung parallel bzw. senkrecht zu den Muskelfasern verläuft.

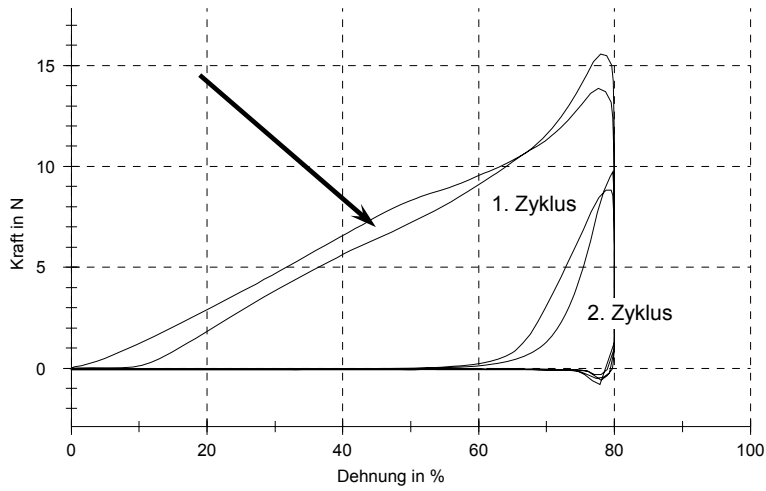


Abb. 14 Kraft über der Penetration in einer nicht destrukturierten Schinkenprobe (2-fach Bestimmung)

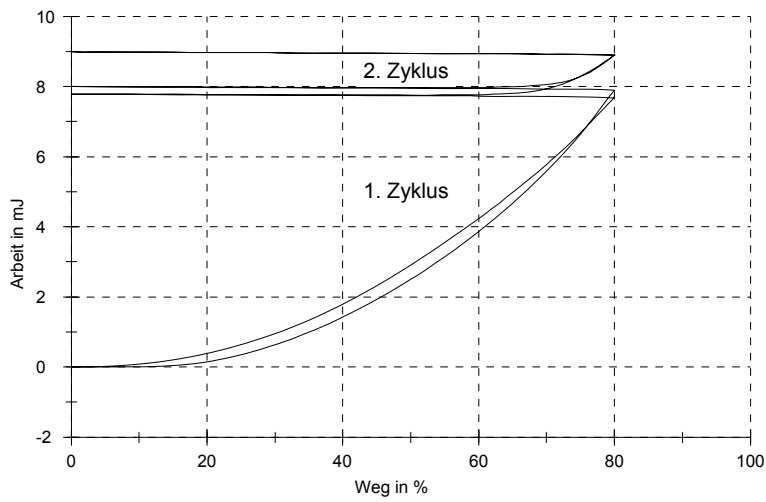


Abb. 15 Arbeit über der Penetration in einer normalen Schinkenprobe (2-fach Bestimmung)

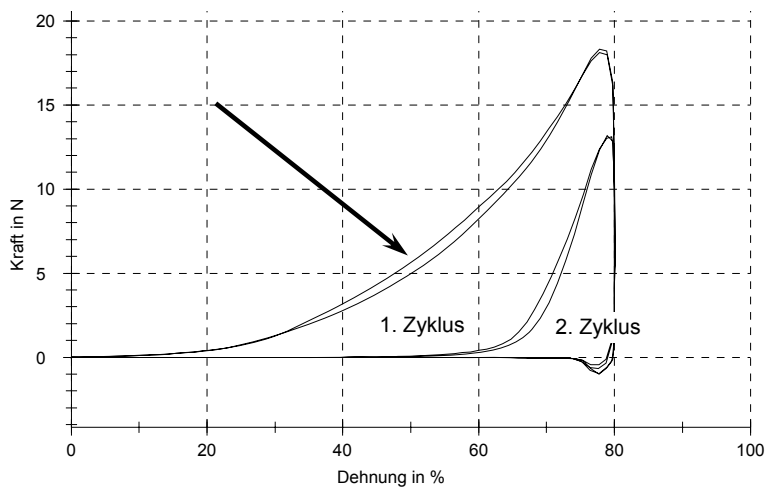


Abb. 16 Kraft über der Penetration in einer destrukturierten Schinkenprobe (2-fach Bestimmung)

3.4 Gesamtauswertung physikalische und rheologische Methoden

Die statistische Auswertung mittels linearem gemischtem Modell ist in Tabelle 6 dargestellt. Die Ergebnisse des Betriebes B sind nicht in die Auswertung einbezogen, da lediglich zwischen 3 und 7 Proben vorhanden waren.

Tab. 6 Statistische Auswertung der gesamten Daten (ohne Betrieb B) mit linearem gemischtem Modell

Faktor	Defekt			Muskel			Betrieb		
	Dest.	Norm.	Sign.	ES	US	Sign.	A	C	Sign.
L*-Wert (n=87)	66.57	55.91	<0.001	62.27	59.91	0.002	60.49	61.94	0.089
a*-Wert (n=87)	9.62	13.63	<0.001	11.19	12.18	0.080	12.23	11.06	0.029
b*-Wert (n=86)	10.09	9.52	0.014	9.51	10.19	0.330	10.62	9.04	<0.001
pH-Wert (n=87)	5.88	5.95	<0.001	5.87	5.96	0.126	5.93	5.89	<0.001
Härte ¹ [N] (n=87)	0.05	0.08	<0.001	0.07	0.07	0.113	0.07	0.07	0.394
Härte ² [N] (n=87)	26.18	21.46	<0.001	25.12	22.16	0.502	22.52	25.03	0.012

ES: Eckstück, US: Unterspälte, Norm.: Normal; Dest.: Destrukturiert, ¹Härte Nadelpenetration, ²Härte Zylinderpenetration

Nebst den bereits vorgängig genannten Unterschieden zwischen den destrukturierten und den normalen Kochschinkenproben ergaben sich auch zwischen den einzelnen Muskeln nur in der Farbe und zwischen den beiden ausgewerteten Betrieben bezüglich Farbe, pH-Wert und Härte mittels Zylinderpenetration signifikante ($P \leq 0.05$) bzw. tendenzielle ($P \leq 0.10$) Differenzen. Gerade letztere dürften auch auf einen Einfluss der betriebspezifischen Technologien der Kochschinkenherstellung hinweisen.

4 Zusammenfassung

4.1 Mikroskopische Aufnahmen

Die visuell erkennbaren Unterschiede zwischen normalen und de-strukturierten Kochschinken konnten mittels Binokular und Rasterelektronenmikroskopie auch im Mikrobereich bestätigt werden. Die de-strukturierten Zonen weisen eine vergleichsweise rissige, raue Oberfläche mit einem geringen intramuskulären Zusammenhalt auf. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen ohne bzw. mittels „Goldner-Färbung“ haben sich für die Darstellung der Struktur von gekochten Schinken jedoch als nicht geeignet erwiesen. Die „Hämatoxilin-Färbung“ und die „Rhodamin-Färbung“ (Laserscanningmikroskop) andererseits scheinen sehr praktikable Färbungen für die mikroskopische Charakterisierung von Kochschinken darzustellen. Die makroskopisch sichtbaren Strukturfehler beim Schinken zeigten allerdings nach Gefrierdünnschnitt und verschiedenen spezifischen Färbungen keine markanten Unterschiede in Abhängigkeit des Fehlers auf.

Möglicherweise ist die Faserstruktur bei den Proben mit Strukturfehlern leicht verändert und/oder die Muskelfasern leicht „geschrumpft“. Die zwischen den Muskelfasern liegende intrazelluläre Flüssigkeit (vermutlich mit gelöstem Bindegewebe) scheint bei den Proben mit Strukturfehlern leicht erhöht zu sein. Diese Vermutung wird auch durch die CLSM-Aufnahmen bestätigt, zumal die beobachtete Flüssigkeit bei den de-strukturierten Proben aufgrund der rötlichen Färbung ebenfalls auf das vermehrte Vorhandensein von Proteinen hinweist.

4.2 Rheologische und physikalische Untersuchungen

Für die Härte mittels Nadelpenetration konnten signifikante Unterschiede zwischen de-strukturierten und nicht-de-strukturierten Proben gefunden werden. Erwartungsgemäss lagen die Kräfte für die de-strukturierten Proben im Mittel tiefer, was auch durch die sensorische Wahrnehmung (weicher) bestätigt wird.

Wird hingegen die Schinkenstruktur mit einem Zylinder auf 80 % Deformation gepresst, verhalten sich die Deformationsmodule sehr unterschiedlich. Der de-strukturierte Kochschinken zeigte eine zu Beginn der Deformation „weichere“ Struktur (unklar ist dabei, ob dabei die Faserrichtung und/oder der Verlust von Wasser eine wichtige Rolle spielt), was die Resultate der Nadelpenetration bestätigt. Demgegenüber war die „Härte“ bei 80 % Deformation meistens signifikant höher für die de-strukturierten Proben, obwohl die sensorische Wahrnehmung den entgegengesetzten Eindruck erweckt und dies deshalb als Widerspruch zu den Resultaten der Nadelpenetration gedeutet werden könnte. Eigene Ergebnisse betreffend Wassergehalt deuten allerdings darauf hin, dass die de-strukturierten Proben aufgrund eines geringeren Wasserhaltevermögens einen tieferen Wassergehalt besitzen (Hugenschmidt *et al.*, 2009b). Diese Tatsache könnte erklären, dass bei der Deformation von de-strukturierten Proben anfänglich mehr Restwasser aus der Probe „gepresst“ wurde und dadurch eine „härtere“ Proteinstruktur resultierte.

Durch zwei Belastungs- und Entlastungszyklen können neben der direkt messbaren Härte verschiedene Texturmerkmale (Klebneigung, Bindekraft, Klebrigkeit, Rückfederung) berechnet werden (Bourne, 1982). Die Entlastungsphase war jedoch gegenüber der Belastungsphase extrem klein, weshalb diese Berechnungen mit einer gewissen Unsicherheit behaftet sind und daher im linearen gemischten Model nicht berücksichtigt wurden.

Die Farbunterschiede waren vor allem im L*- und a*-Wert in 5 bzw. 4 von 7 Chargen signifikant verschieden und zwar erwiesen sich die de-strukturierten Proben als tendenziell heller und wiesen einen tieferen Rotanteil auf.

Der pH-Wert der de-strukturierten Zonen war in 4 von 7 Kochschinken-Chargen signifikant tiefer, wobei die mittlere Differenz im Vergleich zu den normalen Kochschinken durchwegs weniger als 0.1 pH-Einheiten betrug.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass sich destruktu-rierte und normale Schinken in diversen rheologischen und phy-sikalischen Merkmalen signifikant unterscheiden. Die helle Farbe stellt sicherlich das auffälligste Merkmal der Destrukturierungen dar und ist teilweise bereits von Auge erkennbar. Eine mürbe (wei-che), pastöse Textur ist für den Defekt ebenfalls sehr charakteri-stisch.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen auch, dass die Festlegung von Grenzwerten schwierig ist, weil nicht nur zwischen normalen und destruktu-rierten Kochschinken bedeutende Unterschiede beste-hen, sondern auch zwischen den beiden untersuchten Muskeln bzw. den jeweiligen Betrieben.

Résumé et conclusion

Les analyses effectuées ont montré que les jambons déstructurés et normaux se différencient de façon significative au niveau des caractéristiques rhéologiques et physiques. La couleur claire re-présente assurément la caractéristique la plus frappante de la déstructuration et est parfois visible à l'œil nu. Par ailleurs, une texture tendre (molle), pâteuse est aussi très typique du défaut de déstructuration.

Les présents résultats montrent aussi qu'il est difficile de détermi-ner des valeurs limites, car il n'y a pas seulement des différences im-portantes entre les jambons normaux et les jambons déstructurés, mais aussi entre les deux muscles analysés et les deux entreprises de fabrication.

Summary and conclusion

The analyses carried out showed that normal and poorly structured hams are significantly different from a rheological and physical point of view. A clear colour is undoubtedly the most striking cha-racteristic of the occurrence of poor structure which is sometimes visible to the naked eye. In addition, a soft pasty texture is also very typical of this defect.

These results also show that it is difficult to determine limiting values, because there are not only important differences between normal and poorly structured hams, but also between the two muscles analyzed and the two manufacturing establishments.

6 Literatur

Balac, D., Bazin, C. and Letreut, Y. (1998). Research of the factors able to influence the appearance of the syndrome of structureless hams. *Polish Journal of Food Nutrition Sciences* 48, 45-52.

Bourne, M. C. (1982). *Food texture and viscosity*. New York: Academic Press.

Franck, M., Monin, G. et Legault, C. (2000). Observations complémentaires sur le jambon déstructuré: caractérisation du phénomène par le pH et la couleur du muscle semi-membraneux. *Journées de la Recherche Porcine en France* 32, 345-349.

Franck, M., Monin, G., Figwer, P., Poirel M. T. und Legault C. (2002). Strukturloses Fleisch – ein ernsthaftes Problem. *Fleischwirtschaft* 12, 97-100.

Hugenschmidt G., Hadorn R., Scheeder M., Wenk C. (2009a). Einfluss des früh-postmortalen und des End-pH-Werts im Rohmaterial auf das Auftreten von Destrukturierungen in Kochschinken. Von der Billigmarke zur Spezialität: Beitrag der Tierernährung in der Labelproduktion. Fachtagung vom 5. Mai 2009. Schriftenreihe des Institutes für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich, Band 31, 76-79. (Abstract + Poster)

Hugenschmidt, G., Hadorn, R., Guggisberg, D., Silacci, P., Scherrer, D., Scheeder, M.R.L. und Wenk, C. (2009b). Chemische und physikalische Charakterisierung von Destrukturierungen in Kochschinken. *Fleischwirtschaft* 89(1), 86-91.

Hugenschmidt G., Hadorn R., Suter M., Scheeder M., Wenk C. (2007). Anteil und Schweregrad destrukturierter Zonen in Kochschinken. *Fleischwirtschaft* 87(9), 100-103.

Lachowicz, K., Sobczak M., Gajowiecki L., Zych A. (2003). Effect of massaging time on texture, rheological properties, and structure of three pork ham muscles. *Meat Science* 63, 225-233.

Le Roy, P., Monin, G., Kerisit, R., Jeanot, G., Cartirez, J. C., Amigues, Y., Lagant, H., Boulard, J., Billon, Y., Elsen J. M. et Sellier, P. (2001). Effets interactifs des gènes RN et HAL sur la qualité de la viande: résultats obtenus lors de la fabrication du jambon cuit prétranché. *Journées de la Recherche Porcine en France* 31, 331-33.

Minvielle, B., Boulard, J., Vautier, A. et Houix, Y. (2003). Viandes déstructurées dans la filière porcine: Effets combinés des durées de transport et d'attente sur la fréquence d'apparition du défaut. *Journées de la Recherche Porcine en France* 35, 263-268.

Minvielle, B., Houix, Y. et Lebet, B. (2001). Viandes déstructurées: Facteurs de risques: Caractérisation colorimétrique, biochimique et histologique. *TechniPorc* 24, 21-28.

Scheeder M.R.L., Hugenschmidt G., Perez J., Joseph M. (2009). Wirkungsvoll aber nur begrenzt tauglich – eine pragmatische Methode zur Vermeidung von Destrukturierungen in Schweineschinken. Von der Billigmarke zur Spezialität: Beitrag der Tierernährung in der Labelproduktion. Fachtagung vom 5. Mai 2009. Schriftenreihe des Institutes für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich, Band 31, 80-82. (Abstract+Poster)

7 Dank

Wir danken der Bell AG (Basel bzw. Cheseaux-sur-Lausanne) sowie der Micarna SA (Bazenheid) für die Herstellung der Kochschinken sowie dem anatomischen Institut der Universität Bern und der Eidgenössischen Materialprüfungsanstalt (EMPA) für die Unterstützung bei den mikroskopischen Aufnahmen.

8 Anhang

Erklärungen zur Ergebnisauswahl der Texturcharakterisierung:

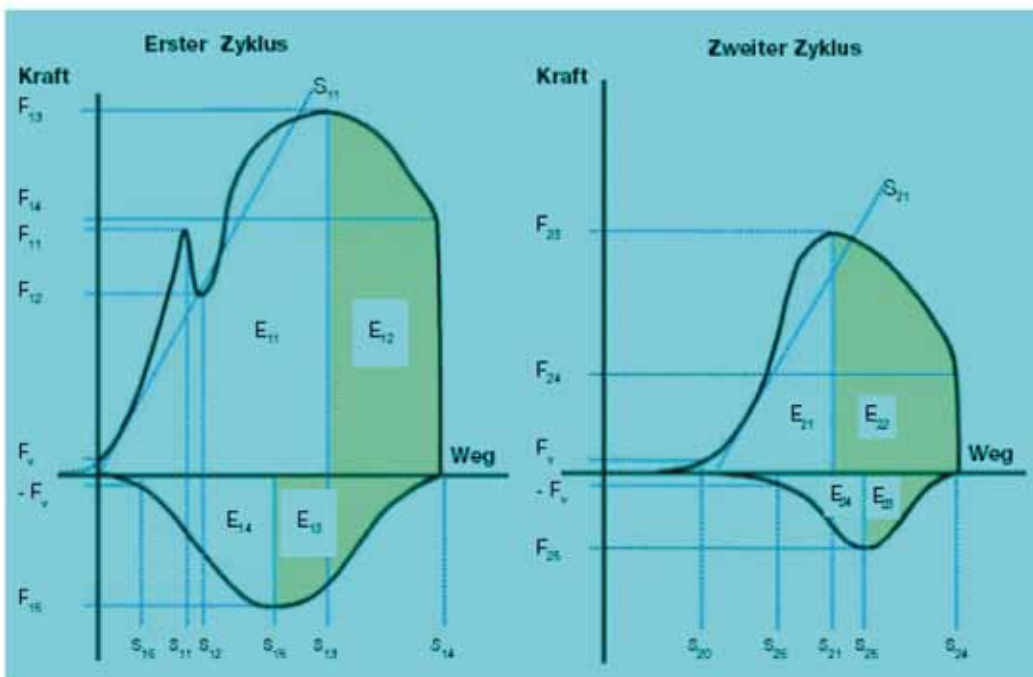


Abb. 17 Beispiel eines Messvorganges bei der Texturanalyse

Tab. 7 Erklärungen zur Texturcharakterisierung

Englisch	Deutsch	Versuchsergebnis
Modulus	Steigung	S_{11}, S_{21}
Specimen height	Probenhöhe	H_0
Fracturability	Bruchneigung	F_{11}
Brittleness	Sprödigkeit	$F_{11} - F_{12}$
Hardness	Härte	F_{13}
Indentation	Stauchweg	S_{13}
Cohesion strength	Bindekraft	F_{15}
Adhesiveness	Klebneigung	$E_{13} + E_{14}$
Sprinigness	Rückfederung	$(S_{23} - S_{20}) / S_{13}$
Gumminess	Zäh-elastisch, klebrig	$F_{13}(E_{21} + E_{22}) / (E_{11} + E_{12})$
Chewiness	Kauverhalten	$F_{13}(E_{21} + E_{22}) / (E_{11} + E_{12}) * (S_{23} - S_{20}) / (S_{13})$