48 33

SEVENTH MEETING OF EUROPEAN MEAT RESEARCH WORKERS

WARSZAWA, SEPTEMBER 18th to 22nd ,1961

Die grundsätzlichen chemischen Vorgänge bei der Gärung der Rohwurst

von

W. Pezacki und D.Szostak

Institut für Fleischtechnologie der Landwirtschaftlichen Hochschule Poznań.

P.P. Niinivaara

SEVENTH MEETING OF EUROPEAN MEAT RESEARCH WORKERS
WARSZAWA, SEPTEMBER 18th to 23rd 1961

W. Pezacki und D. Szostak
Poznań /Polen/
Institut für Fleischtechnologie der Landwirtschaftlichen Hochschule Poznań.

Die grundsätzlichen chemischen Vorgänge bei der Gärung der Rohwurst.

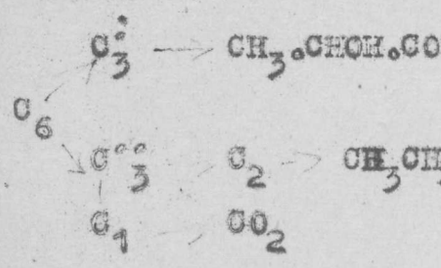
Der Anlass zu der seit langer Zeit bei der Rohwurstherstellung angewandten technologischen Zuckerzugabe kann in dem Verlauf der Pöckelvorgänge des Fleisches gesucht werden. Es kann jedoch nicht ohne weiteres angenommen werden, dass die chemischen Veränderungen der Kohlenhydrate während des Rohwurstherstellungsprozesses jenen z.B. bei Schinkenpökelung gleich sind. Diese zwei Pöckelvorgänge können schon deswegen nicht verglichen werden, weil die Rohwurstmikroflora phasenweise mit dem Ablauf des Herstellungsprozesses und der Aufbewahrung mit einer immer deutlich werdenden Neigung zur Bewältigung vor allem durch Milchsäurebakterien ändert /1,2,3/.

Die Bereicherung dieser Bakterien stellt in den Vordergrund die Frage der fermentativen Veränderung der absichtlich zugegebenen und fleischeigenen Kohlenhydrate in der Rohwurst zur Milchsäure.

Je nach Art der Milchsäurebakterien können die Kohlenhydrate im Rahmen der homo-oder heterofermentativen chemischen Veränderungen in die Milchsäure selbst oder auch in andere organische Nebemverbindungen übergehen. Es ist selbstverständlich, dass die Anwesenheit der Milchsäure sowie einer grossen Anzahl der Nebenverbindungen für die Güte und Haltbarkeit der Rohwurst

nicht belanglos sind. Vom technologischen Standpunkt aus gesehen als Hauptfrage muss also die Bestimmung der Art der fermentativen Vorgänge von Rohwurstkohlenhydraten anerkannt werden. Die Antwort auf diese Hauptfrage zu geben ist die Aufgabe dieser Arbeit.

Wie allgemein bekannt ist zeichnet sich die Homofermentation dadurch aus, dass ungefähr 97-98% der Kohlenhydratmenge in die Milchsäure übergeht und diese das einzige Haupterzeugnis bildet. Die Milchsäurebildung ist dabei ausgeprägter anaerober Fermentationsvorgang. Die Heterofermentation ist demgegenüber eine Kombination von Milchsäure- und Alkoholfermentation, welche durch den verschiedenen Verlauf der oxydo-reductiven Vorgänge zusätzlich verwirrt wird. Die Zwischenverbindungen /u.a. Methylglioksal und Phosphotriosen/ ausser Acht lassend kann man die Heterofermentation einer Hexose folgend darstellen /4/:



Die Heterofermentation der Kohlenhydrate wird also durch die Bereicherung von Milchsäure nebst Brenztraubensäure und durch die Bereicherung von Ethylalkohol nebst Essigsäure in den Rohwürsten gekennzeichnet. Diese Tatsache veranlasste, dass in der eben geschilderten Versuchsreihe die Aufmerksamkeit vor allem auf die Milchsäure- und Brenztraubensäurebildung während der Herstellung und Aufbewahrung der Rohwürste gelenkt wurde.

Als Versuchsmaterial wurde Rohwurst/Cervelat/ ausgenutzt, welche aus nicht vorgesalzenem Feleisch hergestellt, 4 Tage bei ungefähr 10-12° C Wärme vor-

getrocknet,danach kalt geräuchert und dann 40 Tage in einem nicht klimatisierten Lagerraume aufbewahrt wurde. Das zur Herstellung der Rohwurst verwandte Fleisch war gut ausgereift.In solchem Fleische wurde kein Glykogen festgestllt.Sein Gehalt an Hexosen betrug höchstens 0,34mg% auf Brättrockenmasse umgerechnet.Nach der Vertrocknung der Rohwurst waren die Hexosen nicht mehr feststellbar.Der Ausgangsgehalt in Milchsäure schwankte in diesem Fleische zwischen 658 und 736 mg% und der Brenztraubensäure zwischen 832 und 987 mg% auf die Trockenmass des Wurstbrätes umgerechnet.

Ein Teil dieser Versuchswurst wurde ohne Zuckerzugabe hergestllt,der zweite-mit Zugabe von 0,2% Saccharose.

Der Gehalt an den oben erwähnten Säuren sowie der Saccharose wurde im Wurstbrät und ferner nach der Vertrocknung und Räucherung sowie am 10,20 und 40 Tage der Aufbewahrung festgestellt.Der Gehält an Saccharose wurde vor und nach der Inversion mit konzentrierter Salzsäure nach der Methode von Clerget-Hertzfeld in der Abänderung von Herles bestimmt /5/.Zur quantitativen Bestimmung der Saccharose wurde die Methode nach Somogyi angewandt /6/ der Milchsäure-die Paraoxydiphenyl-Methode /7/ und der Brenztraubensäure- die Sulfit-Methode mit einer unbedeutenden Abänderung der Konzentration von Reagenten angewandt/8/.Alle Ergebnisse wurden auf das Gewicht von Trockenmasse der Rohwurst umgerechnet,was das Vergleichen der Vorgänge in jedem Zeitabschnitt ihrer Herstellung und Aufbewahrung wesentlich ermöglicht hat.

Die ausgeführten Versuche rechtfertigen folgende Schlussfolgerungen:

1. Unabhängig davon ob die Rohwürste mit oder ohne Kohlenhydratzugabe hergestellt werden,stellt man während ihrer Herstellung und anfangs der Aufbewah-

rung eine gleichzeitige Anreicherung von Milchsäure und Brenztraubensäure fest. Die Gärung der Rohwurst während des erwähnten Zeitabschnittes ist also ein typischer heterofermentativer Vorgang. Die Feststellung kann leider nicht mit den neuesten bakteriologischen Versuchen in Einklang gebracht werden, laut welcher die grösste Mehrzahl der Bakterien homofermentative Bakterien sind/9/.

2. In Rohwurst beider Versuchsarten, welche länger als 10 Tage aufbewahrt wurde, setzt eine weitere, wenn auch viel langsamere Anreicherung von Milchsäure und zugleich eine bedeutende Abnahme an Gehalt von Brenztraubensäure. Eine ähnliche Produktions- und Aufbewahrungsveränderung an Milchsäuregehalt wurde auch von anderen festgestellt /10/. Die Änderung des Säurengesamtgehaltes kann schon mit der Erschwerung von Luftzufuhr in das Wurstinnere infolge der während der Aufbewahrung allmählichen Randaustrocknung bezw. Trockenrandbildung und der damit im Zusammenhang stehenden Umgestaltung von Wurstmilieu erklärt werden.

3. Der Höchstgehalt an Milch- und Brenztraubensäure schwankt in grossem Ausmasse von Fall zu Fall. In jenen Würsten, in welchen eine grosse Anreicherung der Milchsäure stattfindet, ist der Gehalt an Brenztraubensäure am niedrigsten und umgekehrt. Es konnten aber keine weiteren Unterschiede zwischen solchen Würsten festgestellt werden. Der Gesamtgehalt an diesen zwei Säuren ist aber in jedem Falle am 10 Aufbewahrungstage am grössten und vom 20 Tage der Aufbewahrung ziemlich unveränderlich. Es ist also gerechtfertigt die gesamten Gärungsveränderungen von Rohwürsten in drei Zeitabschnitte zu teilen und zwar und zwar in Abschnitt des Herstellungsaufstieges von Gärungs-

dynamik, seiner raschen /während mittellanger Aufbewahrung/und schliesslich immer langsameren Abstieges /während einer über ein paar Wochen langen Aufbewahrung/.

4 5. Die abweichende Bildungsintensivität der beiden Säuren sowie ihre ungleiche weitere Unveränderlichkeit veranlassen eine ständige und ungleichmässige Änderung ihres Gehaltes. In kurzgelagerten Rohwürsten ist der Gehalt an Brenztraubensäure zweimal grösser als an Milchsäure. Nach 40 Tagen dauernder Lagerung ist der Gehalt ziemlich ausgeglichen. Die grössere Anreicherung der Milchsäure in länger aufbewahrten Rohwürsten deutet darauf hin, dass diese Säure und nicht die Brenztraubensäure das Enderzeugnis ist und nicht umgekehrt. Die Anreicherung der Milchsäure in solcher Wurst kann mit der Vermehrung der Milchsäurebakterien während der Lagerung der Rohwürste sowie mit der Verschiebung des Oxydoredoxpotentials erklärt werden. Wie allgemein bekannt ist ist die Mehrzahl der Milchsäurebakterien während der Lagerung der Rohwürste eine ausgeprägte Ursache der Homofermentation. Eine Ausnahme in dieser Regel bilden nur z.B. Lactobact. pasterianum, Lactobac. breve und Lactobac. fermentati /11/.

Es darf aber auch nicht vergessen werden, dass die Eigenschaft der Milchsäurebakterien hetero- bezw. homofermentative Gärung auszurufen unstabil ist und ändert mit der Änderung von Lebensbedingungen dieser Keime. Die Fermentproduktion dieser Keime kann doch in manchen Fällen nachlassen und die heterofermentative Gärung in eine homofermentative übergehen ohne Änderung der Keimart selbst /12/ Eine andere Möglichkeit besteht ausserdem darin, dass diese Umwandlung der beiden Säuren durch die Gewebefermente selbst ausgerufen und gesteuert wird.

/z.b.Dehydrasen/.Das Problem scheint auch deswegen desto interesaanter zu sein,weil unter Einwirkung der Bakterienfermente die Milchsäure in die Brenztraubensäure leicht oxydiert,aber eine umgekehrte Reduktion findet nicht statt /4/.

5. Die technologische Zugabe von Saccharose erhöht den Gehalt an Milchsäure-je nach Ablauf des Herstellungsprozesses und der Aufbewahrung der Rohwürste um 4,5 bis 22,7% durchschnittlich um 9,3% und der zweiten Säure um 9,1-35,1% durchschnittlich um 20,1%

6. Der Gehalt an Milchsäure in Rohwürsten,welche mit Saccharose hergestellt wurden,ist also nur unwesentlich höher als jener ohne dieses Kohlenhydrates angefertigten.

Die technologische Zugabe von Saccharose begünstigt demgegenüber vor allem die Bildung der Brenztraubensäure vermutlich infolge der Intensivität von Heterofermentation.Auf die Tatsache ,dass die Heterofermentation ein typischer Vorgang für die üblich hergestellten Rohwürste ist,scheint es noch die regelmässige gleichzeitige Bildung von Ethylalkohol /13/ sowie die Ausscheidung von Kohlendioxyd und Absorption einer equivalentenMenge von Sauerstoff aus der Luft zu deuten /14/.Es ist aber eine offene Frage wieweit die Heterofermentation technologisch erwünscht ist.Die Brenztraubensäure ist doch-wie zu sehen ist-kein normales Erzeugnis der anaeroben Fermentation.Infolge der Dekerboksylation kann sie bei genügender Luftzufuhr zu der Wurstmasse in die unerwünschte Essigsäure übergehen. Es wurde z.B.festgestellt,dass die Zerkleinerung der Rohstoffe im Schnellkutter diese letztgenannte aerobe Fermentation manchmal begünstigt /15/.

7. Die grössere und länger anhaltende Anreicherung der beiden Säuren in solchen Rohwürsten kann wahrscheinlich nicht nur mit ihrer grösseren Haltbarkeit sondern mit grösserer Unveränderlichkeit ihrer Hemofarbstoffe, was in anderer Versuchsreihe festgestellt wurde /16/, in Einklang gebracht wrden. Die technologische erste Aufgabe des Herstellungsprozesses von Rohwürsten wäre also diese Vorteile der Kohlenhydratzugabe auszunützen und jene oben erwähnte Nachteile zu vermeiden.

8. Mit der Anreicherung der zwei organischen Säuren zugleich findet eine Abnahme an Gehalt von Saccharose und eine vorübergehende Zunahme von Hexosen statt. Über 90% der Saccharose wird schon während der Rohwurstanfertigung und der Rest binnen der ersten 10 Aufbewahrungstage chemisch umgewandelt. Während der Vertrocknung dieser Würste findet gleichzeitig eine bedeutende Zunahme an Gehalt von Hexosen statt. Die Rohwürste, welche 20 Tage aufbewahrt wurden, sind aber wieder frei von Hexosen. Feststellungen über eine Anfangszunahme an Glucosegehalt und über nachfolgende rasche Abnahme ihres Gehaltes kann man in anderen Veröffentlichungen vorfinden /10/. Diese Tatsachen zeigen an, dass während der Vertrocknung die Dynamik von Inversion der Saccharose ausgeprägter als ihrer Oxydierung ist. Die Hexosenoxydierung findet vor allem während des Räucherns und anfangs der Aufbewahrung statt. Es ist merkwürdig, dass die Anreicherung der Milchsäure auch dann festzustellen ist, wenn in den Rohwürsten schon weder Saccharose noch Hexosen vorhanden sind.

9. Die jederzeit in den Rohwürsten festgestellte Gesammtmenge von Milch- und Brenztraubensäure ist viel grösser als jene, welche aus der equivalenten Fer-

mentation in diese Säuren der ganzen zugegebenen Zuckermenge zu erwarten war. Während der Vertrocknung der Rohwürste ist zwar die Anreicherung dieser Säuren proportionell zur Zuckerabnahme, abeer schon während des Räucherns und bis zum 10 Aufbewahrungstage wird das Missverhältnis zwischen diesen zwei verglichenen Verbindungen immer grösser. Die Bildungsquelle dieser Säuren in diesem Zeitabschnitt sind also nicht nur Kohlenhydrate sondern auch andere Bestandteile der Rohwürste. In dem Zeitabschnitt der regsten Anreicherung können diese Säuren infolge der Desamination der Aminosäuren oder infolge der Oxydierung von Glicerin, welches z.B. bei der Hydrolyse der Fette frei wird, entstehen. Es ist z.B. bekannt, dass im Rahmen des Stoffwechsels die Milch-und Brenztraubensäure bei Anwesenheit von Ammoniak leicht in Alanin und ähnliche Aminosäuren und umgekehrt übergehen kann laut der nachstehenden Reaktion /17,1/:

$$CH_3CH/NH_2/\ COOH \xrightleftharpoons[+NH_3\ -\ O_2]{-NH_3\ +\ O_2} CH_3COCOOH$$

Nach Embden kann auch das Glicerin über die Glicerinsäure in die Brenztrauben-und Milchsäure fermentieren.

Mit dem Verschwinden der Kohlenhydrate fängt die Gesammtmenge der beiden Säuren an abzunehmen die nur teilweise mit der weiteren Zunahme an Milchsäure entschädigt wird.

10. Die Höchstkonzentration der beiden untersuchten Säuren im Rohwurstwasser am ca.10 Tage der Aufbewahrung von geräucherten Würsten erlangt 1,66%. Diese Konzentration ist grösser als des Schwellenanreizes welche ungefähr 0,01-0,02% beträgt. Die

Brenztrauben-und Milchsäure sowie das Ethylalkohol sind also ein Faktor,welcher den Geschmack von frisch geräucherten Rohwürsten bereichert.Die Abnahme dieser chemischen Verbindungen in länger aufbewahrten d.h.in sogenannten ausgereiften Rohwürsten,trägt trägt zu ihrer Geschmacksverarmung bei.Nebst der festgestellten Farb-und Farbstoffveränderungen kann auch diese Abnahme an Säuren-und Alkoholgehalt als Alterszeichen der Rohwürste angesehen werden.Eswird also nochmals bewiesen,dass eine längere Rohwurstaufbewahrung technologisch nicht begründet ist und dass diese Produkte während 2-3 Wochen nach dem Räuchern zu verzehren,zweckmässiger ist.

11. Das Vergelichen der chemischen Vorgänge in Rohwürsten mit jenen,welche bei Sauerkrautherstellung stattfinden ist nur begrenzt richtig.In beiden Fällen fangen diese Veränderungen mit einer Heterofermentation an,die später in Homofermentation mehr und mehr übergehen.In beiden Fällen beherrschen auch anfangs das Bild die Coccen,die dann den grampositiven Stäbchenformen,vor allem Milchsäurebakterien,Platz machen.Die Lebenstätigkeit der Sauerkrautbakterien hört aber auf infolge der zu grossen Anreicherung der Säuren,was im Falle der Rohwürste dank ihrer Pufferität wenig möglich ist.Auf die abnehmende Lebenstätigkeit der Rohwurstmikroflora scheint vor allem die fortschreitende Entwässerung der Würste einen Einfluss zu haben.Eine offene Frage ist auch das Vergleichen der einzelnen stickstoffreien Auszugsverbindungen ,welche in den zwei zum Vergleich stehenden Lebensmitteln infolge ihrer Gärungsvorgänge gebildet werden.

12. Die geschilderten Versuche zeigen eindeutig,dass für Rohwürste,welche ohne Reinkulturen hergestellt werden

die Heterofermentation wenigstens während ihrer Herstellung und anfangs der Aufbewahrung ein typischer Gärungsvorgang ist.Diese Versuche lassen aber weiter die Frage offen über die Bedeutung der Propion-und Buttersäuregärung /Aceto-ethyl-oder Acetobuthylgärung/für Rohwurstherstellung.

Zusammenfassung.

Die Rohwurstgärung ist eine typische Heterofermentation.Infolge dieser Vorgänge findet in der Rohwurst eine Anreicherung von Milch-und Brenztraubensäure sowie Ethylalkohol.Es wird ausserdem Kohlendioxyd ausgeschei-det.Je nach Ablauf der Herstellung und Aufbewahrung ändert sich der Gehalt anden genannten Verbindungen in der Wurst.Ihr Höchstgehalt wird nach ca.10 Tagen langen Aufbewahrung festgestellt.Der Gehalt an Brenztraubensäure ist dabei zweimal so gross wie der Milchsäure. Während langer Aufbewahrung wird der Säuregehalt mehr ausgeglichen.Die Abnahme von Gehalt der drei chemischen Verbindungen trägt zu der Geschmacksverarmung der ausgereiften Wurst zu.

Literatur.

1. Coretti K.-Die Fleischwirtschaft,1956,5,260
2. Niinivaara E.,Pohja M.-Zeitschrift für Lebensmittel-untersuch.u.Forschung,1956,B.104,H.6,423
3. Pezacki W.-Biofizykochemiczne problemy produkcji wędlin surowych/Die physikalischen und biochemischen Fragen des Rohwurstherstellungsprozesses/ Maschinenschrift
4. Szaposznikow W.-Tiechniczeskaja mikrobiologija, Moskwa 1948
5. Struszyński K.-Analiza ilościowa i techniczna,Warszawa,1950
6. Somogyi M.-Journ.of Biol.Chem.1945,160,483
7. Drozdow N.S.-Żurawskaja N.K.-Miasnaja Industrija SSSR 1952,6,25
8. Ferdman D.L.,Sopin E.F.-Praktikum po biologiczeskoj chimii,Moskwa,1957
9. Prost E.-Die Fleischwirtschaft 1960,10,813
10. Niinivaara F.Über den Einfluss von Bakterienreinkulturen auf die Reifung und Umroetung der Rohwurst,Hämeenlinna,1953
11. Krasilnikow N.A.-Opriedielitiel bakterii i aktinomicetow,Moskwa 1949
12. Kwasnikow E.I.-Biologija molocznokisłych bakterii Taszkent 1960
13. Pezacki W.,Jaroszewski Z,Kolomak K.,-Dynamika fermentacji wędlin surowych.IV.Technologiczna rola zaszczepu czystych kulutur drożdży /Die Dynamik der Rohwurstfermentation IV. Die technologische Bedeutung von Hefereinkulturen/ Maschinenschrift.
14. Pezacki W.,Jaroszewski Z.,-Dynamika fermentacji wędlin surowych /Die Dynamik der Rohwurstfermentation/ II.Wymiana gazowa /II.Der Gasstoffwechsel/,Maschinenschrift.

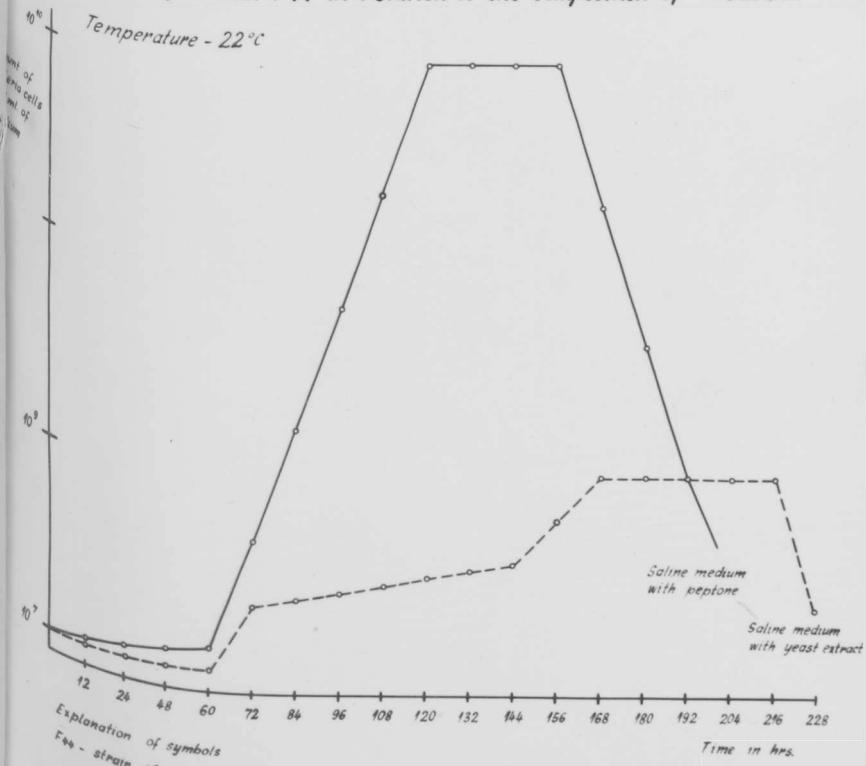
15. Pezacki W.- Der Einfluss von Zerkleinerungsverfahren der Rohstoffe auf die Rohwurstqualität .Maschinenschrift

16. Pezacki W.- Die Fleischwirtschaft,1961,4,390

17. Przyłęcki S.J.-Chemia Fizjologiczna,Warszawa,1951

Diagram II

Growth phases of strain F44 in relation to the composition of medium.



Explanation of symbols
F44 - strain of genus Flavobacterium.

Diagram I

Individual, physiological differences of strain in frame of the species Vibrio costicolus illustrated by growth phases.

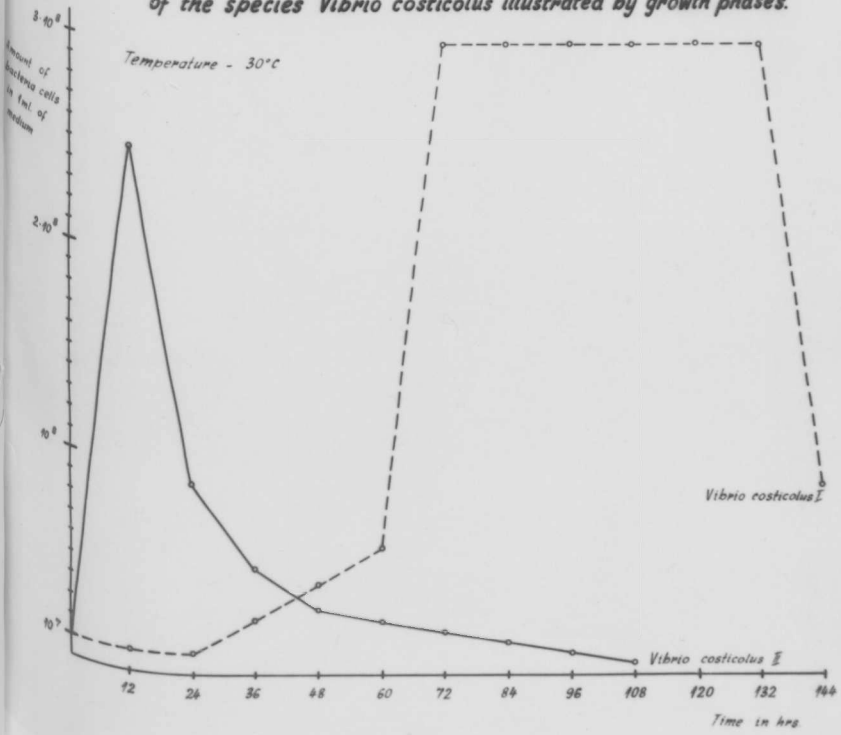


Table 2

Comparison of fermentation properties of investigated bacteria strains, refered to glucose, lactase and saccharose in relation to kind and temperature of medium.

Strains	Glucose															Lactose												Saccharose											
	Symbols of media																																						
	A			B			C			D			E			A			B			C			D			E			A			B			C			D			E		
	Temperature																																						
	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30	6-8	22	30
	l.g																																						
	l.g		l.g	5.51		5.35	5.80		5.80	6.95		6.58	6.20		5.88	l.g		l.g	7.91		8.46	7.85		8.20	7.78		8.45	6.39		6.39	l.g		l.g	5.61		5.68	5.85		5.80	6.78		6.70	6.32		6.00
	l.g		l.g	5.53		5.20	5.70		5.80	6.68		6.46	6.15		5.95	l.g		l.g	8.07		8.40	7.55		8.27	7.58		7.70	6.20		6.16	l.g		l.g	5.90		5.07	6.02		5.83	7.03		7.0	5.73		5.57
	l.g		l.g	5.65		5.24	6.40		5.38	6.50		5.22	6.30		6.15	l.g		l.g	7.20		8.10	7.25		7.65	7.29		7.50	6.36		6.30	l.g		l.g	6.26		5.20	6.65		5.15	6.65		5.2	6.25		6.20
	l.g		l.g	4.76		4.66	5.60		5.65	5.59		5.46	5.53		5.46	l.g		l.g	7.28		7.35	5.18		4.93	6.31		5.88	6.21		5.77	l.g		l.g	5.63		5.53	5.60		5.58	5.77		5.65	6.20		6.15
	l.g		l.g	7.75	8.10		7.37	8.02		7.30	8.15		7.75	7.83		l.g		l.g	7.85	8.15		7.80	7.77		7.27	8.25		8.00	8.06		l.g	l.g	l.g	7.80	8.20		8.15	8.23		7.60	8.30		8.05	8.20	
	l.g		l.g	7.5	8.15		7.87	8.1		7.92	7.92		7.7	7.80		l.g	l.g	l.g	7.90	8.20		7.30	7.44		7.26	8.25		7.70	8.08		l.g	l.g	l.g	7.80	8.30		8.14	8.34		7.45	8.40		8.10	8.20	
	l.g		l.g	7.7	8.10		7.51	8.14		7.36	8.20		6.55	7.90		l.g	l.g	l.g	7.85	8.20		7.36	7.44					7.75	8.15		l.g	l.g	l.g	7.80	8.30		8.04	8.31		7.50	8.37		7.95	8.17	

Explanation of symbols

Strains of genus Vibrio

Strains of genus Flavobacterium

Strains of genus Achromobacter

l.g - lack of growth

VII Meeting of European Meat
Research workers, Warszawa
September 18-22, 1961.

Kemialliset muutokset kestomakkaran kypsymisen aikana.

W. Pezacki und D. Szostak.

Kestomakkaran valmistuksessa on jo pitkät ajat käytetty sokerilisäystä. Hiilihydraattien kemiallisten muutosten ei ilman muuta voida olettaa olevan samoja kestomakkaran kypsyessä kuin kinkun suolauksessa. Vertailua näiden kahden tapahtuman välillä ei voida suorittaa senkään takia, että kestomakkaran mikroflora muuttuu jatkuvasti kypsymisen edistyessä, osoittaen selvästi maitohappobakteerien jatkuvaa lisääntymistä (1,2,3). Näiden bakteerien määrän kasvu tuo esille kysymyksen sekä lisättyjen että lihan omien hiilihydraattien käymistietä tapahtuvista muutoksista (fermentative Veränderungen).

Riippuen maitohappobakteerien laadusta hiilihydraatit voivat muuttua homo- tai heterofermentatiivisesti joko pelkästään maitohapoksi tai myös sen ohella muiksi orgaanisiksi yhdisteiksi. Näillä kaikilla on tietysti oma merkityksensä kestomakkaran laadulle ja säilyvyydelle. Teknologiselta kannalta on tärkeintä tutkia käymistapahtuman laatua, mikä onkin tämän työn tarkoitus.

Homofermentatiivisessa tapahtumassa on maitohappo käymisen ainoa päätuote ja sitä muodostuu n. 97-98 %:sta hiilihydraatteja. Tapahtuma on anaerobinen käyminen. Heterofermentatio on yhdistelmä maitohappo- ja alkoholikäymisestä, johon liittyy vielä erilaisia oksydo-reduktiivisia tapahtumia. Jos jätetään pois väliyhdisteet (m.m. metyliglyoksaali ja fosfotriosi) voidaan heterofermentation kaava kirjoittaa seuraavasti(4):

$$C_6 \rightarrow C_3 \rightarrow CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH \quad \text{tai } CH_3 \cdot CO \cdot COOH$$

$$C_6 \rightarrow C_3 \rightarrow C_2 \rightarrow CH_3 \cdot CH_2OH \quad \text{tai } CH_3 \cdot COOH$$

$$C_3 \rightarrow C_1 \rightarrow CO_2$$

Maitohapon ohella makkaraan siis muodostuu palorypälehappoa ja etylalkoholin ohella etikkahappoa. Erikoisesti olemme tutkineet

palorypälehapon muodostumista maitohapon ohella.

Koemakkarana oli servelaadi- kestomakkara, johon käytettyä lihaa ei suolattu etukäteen, esikuivaus 4 vrk n. 10-12°C, senjälkeen savustus ja lopuksi 40 vrk ei-ilmastoidussa varastossa. Liha oli hyvin riippunutta ennen valmistusta (ei todettu glykogeenia). Heksooseja oli korkeintaan 0,34 mg% laskettuna massan kuiva-aineesta. Makkaran esikuivaamisen jälkeen siinä ei enää todettu heksooseja. Maitohapon määrät lihassa vaihtelivat 658-736 mg% välillä ja palorypälehapon 832-987 mg% välillä laskettuna massan kuiva-aineesta.

Eräs koemakkara valmistettiin ilman sokeria, toiseen lisättiin 0,2 % sakkaroosia. Em. hapot ja sakkaroosi analysoitiin seuraavina ajankohtina: massasta, esikuivauksen ja savustuksen jälkeen sekä 10,20 ja 40 varastointi vuorokauden jälkeen. Sakkaroosi-analyysi: Clerget-Hertzfeld-metodi, Herles-muunnos (5), jossa inversio suolahapolla. Kvant.metodi: Somogyin mukaan (6); maitohappo: para-oksi-difenyylillä (7) ja palorypälehappo: sulfiittimenetelmällä (8). Tulokset laskettiin kuiva-aineeseen nähden.

Kokeiden mukaan tehtiin päätelmät:

1. Riippumatta siitä, onko massaan lisätty vai ei hiilihydraatteja, tapahtuu maitohapon ja palorypälehapon määrien lisääntymistä valmistuksen aikana ja vielä säilytyksen alkupuolella. Käymistapahtuma, on siis heterofermentatiivinen, mikä havainto ei sovi yhteen tähänastisten bakteriologisten tutkimusten kanssa. Näiden mukaan enemmistö bakteereista on homofermentatiivisia (9).

2. Molemmanlaisissa koemakkaroissa tapahtuu 10 päivän jälkeen jatkuvasti, joskin hyvin hitaasti maitohapon lisääntymistä ja samalla huomattavaa palorypälehapon vähenemistä. Samanlaisia valmistuksen ja varastoinnin aikana tapahtuvia muutoksia on toisaallakin havaittu (10). Happojen kokonaismäärän muutokset johtuvat siitä, että ilman pääsy estyy makkaran sisäosiin säilytyksen aikana (kovempi, kuivempi ulkokerros).

3. Maitohapon ja palorypälehapon pitoisuus vaihtelee "von Fall zu Fall". Jos maitohapon määrä on hyvin korkea, on palorypälehappoa vähän ja jälleen päinvastoin. Makkaroiden välillä ei kuitenkaan todettu muita eroja. Näiden 2 hapon yhteismäärä on ollut kaikissa tapauksissa korkein 10. varastointipäivänä ja 20. päivästä lähtien vaihteleva. On siis asiallisesti oikein jakaa käymistapahtuma

3 jaksoon: a) käymisen voimakas nousuvaihe valmistuksen alussa, b) sittemmin nopea ja lopuksi c) hidas lasku noin parin viikon säilytyksen jälkeen.

4. Molempien happojen erilainen muodostumisintensiteetti samoinkuin niiden erilainen muuttuvaisuus aiheuttavat alinomaan muutoksia niiden määrissä. Lyhyen aikaa varastoiduissa makkaroissa on palorypälehapon määrä 2 kertaa suurempi kuin maitohapon. 40 päivän varastoinnin jälkeen määrät ovat tasoittuneet. Pitkän varastoinnin aikana maitohapon määrä kasvaa, osoittaen tämän olevan käymistapahtuman lopputuote. Selitys tähän: maitohappobakt.määrä kasvaa varastoinnissa, hapetus-pelkistyspotentiali muuttuu. Maitohappobakteereista suurin osa on homofermentatiivisia. Poikkeuksia: Lactobact. pasterianum, Lactobac.breve ja Lactobact.fermentati (11).

Homo- ja heterofermentatiivinen käyminen maitohappobakteereilla on epästabiili ja muuttuu näiden bakteerien elinehtojen mukana. Näiden bakteerien fermenttien tuotanto voi monissa tapauksissa vähetä ja heterofermentatiivinen käyminen muuttua homofermentatiiviseksi, ilman että bakteerilaatu muuttuu (12). Toinen mahdollisuus on, että näiden happojen muutoksia aiheuttavat ja ohjailevat kudoksen fermentit (esim. dehydrasit). Mielenkiintoista on, että bakteerifermenttien vaikuttaessa maitohappo hapettuu helposti palorypälehapoksi, mutta päinvastaista pelkistymistä ei tapahdu (4).

5. Sakkaroosin (teknologinen) lisääminen nostaa maitohapon määrää valmistusprosessin lopulla (?) ja säilytyksen aikana 4,5-22,7 %:iin, keskimäärin 9,3 %:a ja toisen hapon 9,1-35,1 %, keskimäärin 20,1 %:a.

6. Sakkaroosin kanssa valmistetuissa kestomakkaroissa on maitohapon lisäys vähäinen verrattuna makkaroihin ilman sakkaroosilisäystä.

Sakkaroosin lisääminen massaan kohottaa palorypälehapon määrää, olettettavasti heterofermentation intensiviteetin johdosta. Koska heterofermentatio on tyypillinen tapahtuma tavallisissa kestomakkaroissa, merkitsee se, että säännöllisesti samanaikaisesti muodostuu etanolia (13) ja CO_2:a ja absorboituu samalla ekvivalenttimäärä happea (O_2) ilmasta (14). On kuitenkin avoin kysymys, miten laaja heterofermentatio on suotuisa. Palorypälehappo ei ole anaerobikäymisen normaalituote. Dekarboksylatio ja ilman pääsy massaan muuttavat sen ei-toivotuksi etikkahapoksi. Todettiin, että raaka-aineiden hienontaminen pikakutterissa suosii tätä viimemainittua aerobista fermentatiota (15).

65

7. Molempien happojen voimakkaampi ja kauemmin kestävä muodostuminen sellaisissa kestomakkaroissa on sopusoinnussa - ei vain niiden suuremman kestävyyden vaan myös niiden hemo-väriaineiden suuremman muuttumattomuuden kanssa, mikä on todettu toisessa koesarjassa (16). Valmistusprosessin ensimmäinen teknologinen tehtävä olisi siis saada käytetyksi hyväksi nämä hiilihydraattien lisäämiseen liittyvät edut ja välttää edellämainitut haitat.

8. Happojen muodostuessa vähenee sakkaroosi ja heksoosit lisääntyvät ohimenevästi. Yli 90 % sakkaroosista muuttuu jo heti valmistuksen alussa ja loput ensimmäisten 10 varastointipäivän kuluessa. Esikuivauksen aikana jo lisääntyvät hetksoosit. Kuitenkin 20 päivän säilytyksen jälkeen jo heksoosit ovat hävinneet. Vastaavat muutokset glukoosissa on todettu toisaaallakin (10). Eli: alussa on sakkaroosin inversio voimakkaampi kuin hapettuminen. Heksoosien hapettuminen tapahtuu savustuksen aikana ja varastoinnin alussa. Merkillistä kylläkin, maitohappoa todetaan sitten, kun makkarassa ei ole enää sakkaroosia eikä heksoosia.

9. Makkaroissa maito- ja palorypälehappojen yhteismäärä on suurempi kuin se, joka ekvivalenttisuhteessa muodostuu lisätystä sokerista. Esikuivauksen aikana näiden happojen määrä on verrannollinen sokerin vähenemiseen, mutta jo savustuksessa 10:nteen varastointipäivään saakka ko. epäsuhdanne tulee aina suuremmaksi. Siis täytyy ko. happoja syntyä muista makkaran ainesosista, esim. aminohappojen deaminoitumisesta tai glyseriinin hapettumisesta (glys. muodostuu rasvan hydrolysoituessa). On myös tunnettua, että aineenvaihdunnan puitteissa maito- ja palorypälehappo (jos NH_3 on läsnä), muuttavat helposti alaniiniksi ja muiksi samantapaisiksi aminohapoiksi ja siis ilmeisesti myös päinvastoin (17,1):

$$CH_3 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH \underset{+\,NH_3 - O_2}{\overset{-NH_3 + O_2}{\longleftrightarrow}} CH_3 \cdot CO \cdot COOH$$

Embdenin mukaan myös glyseriinistä tulee -- glyseriinihappo -- palorypälehappo (fermentatio) ja maitohappo.

Kun hiilihydraatit loppuvat, alkaa molempien happojen kokonaismäärä vähetä, minkä vain osittain korvaa maitohapon jatkuva lisääntyminen

10. Molempien happojen korkein määrä kestomakkaran "kosteudessa" (savustettujen tuotteiden noin kymmenentenä säilytyspäivänä) oli 1,66 %. Palorypäle- ja maitohappo samoinkuin etanoli ovat tekijöitä, jotka vaikuttavat savustetun kestomakkaran makuun. Niiden väheneminen hyvin kauan varastoiduissa makkaroissa ("yli kypsissä") aiheuttaa maun "köyhtymistä" Todettavien värimuutosten kanssa voidaan em. aineiden vähenemistä pitää kestomakkaran "vanhuuden" merkkinä. Pitkäaikainen kestomakkaroiden varastointi ei siis ole teknologisesti perusteltua ja on suositeltavaa ja tarkoituksenmukaista kuluttaa kestomakkarat n. 2-3 viikon aikana savustuksen jälkeen.

11. Kestomakkaran kemiallisia muutoksia ei voida verrata hapankaalin vastaaviin (Sauerkraut) muuta kuin osittain. Molemmissa tapauksissa tapahtuu ensin heterofermentatio, joka myöhemmin vaihtuu aina enenevässä määrässä homofermentatioksi. Molemmissa tapauksissa hallitsevat ensin kokit, jotka siirtyvät sittemmin gram+sauvojen tieltä (=ennen muita maitohappobakteerien tieltä). Sauerkraut bakteerien elintoiminta lakkaa liiallisen happomäärän johdosta, mikä ei juuri ole mahdollista kestomakkarassa puskurikapasiteetin takia.

Makkaramikrobien vähenevä toiminta johtuu ennen muuta veden haihtumisesta makkarasta. Avoin kysymys on myös näiden tuotteiden typettömät uuteaineet, joita syntyy käymistapahtuman aikana.

12. On siis osoitettu, että ilman puhdasviljelmiä valmistetussa makkarassa on ainakin alussa (ja säilytyksen aikana jonkin verran) heterofermentatio tyypillinen käymisilmiö. Jatkuvasti on avoinna kysymys: propioni- ja voihappokäyminen? asetoetyl-asetobutyl käyminen?