

VIII. Europäischer Kongress der Fleischforschungsinstitute
VIIIth European Meeting of Meat Research Institutes
VIII^{ème} Réunion européenne des instituts de recherches sur les
viandes

Moskau 20. - 27. August 1962

U e b e r d a s A r o m a v o n
R o h w u r s t

Hans Eser und F.P. Niinivaara

Institut für Fleischtechnologie
Universität Helsinki Finnland

In den vergangenen Jahren wurden, vor allem in USA, umfangreiche Arbeiten begonnen, die sich zum Ziel setzten, einige Klarheit in die komplexen Fragen des Aromas von Fleisch zu bringen. Man kann dabei zwei Hauptrichtungen unterscheiden, die gleichzeitig und weitgehend unabhängig voneinander ihr Ziel verfolgen. Die einen befassen sich mit dem Aroma an sich, das heisst, sie isolieren und identifizieren Substanzen, meist flüchtige Verbindungen, die zum Aroma des Fleisches beitragen. Die andern beschäftigt der Mechanismus, wie dieses Aroma, zum Beispiel beim Grillieren eines Fleischstückes, entsteht. Sie suchen die Aroma-Vorstufen (englisch "precursors"), wo im Fleisch, in Knochen, Saft, Muskelfaser oder Fett sie zu treffen sind und unter welchen Bedingungen sie das bekannte Aroma, zum Beispiel von Braten, entwickeln.

Obwohl die Problematik bei der Untersuchung des Rohwurstaromas aus Gründen, die später dargelegt werden sollen, weitgehend eigene Züge aufweist, wollen wir zur Illustration einen kurzen Ueberblick geben über einige der jüngsten Arbeiten, die sich mit dem Fleischaroma befassen.

Crocker (1) untersuchte den Saft, die Knochen, das Fett und die Muskelfasern von Kuh-, Schweine-, Schaf- und Hühnerfleisch. Seine Analysenwerkzeuge waren noch ausschliesslich Mund und Nase.

Untersuchungen an rohem und an zubereitetem Fleisch, Zustände, die grobsinnlich beurteilt weitgehend verschieden sind, müssen prinzipiell auseinandergehalten werden.

J.Crowe, J.Hornstein und W.L.Sulzbacher (18) fraktionieren Wasserextrakte von rohem Fleisch im Vakuum und finden Aceton, Acetaldehyd, Formaldehyd sowie Schwefelwasserstoff und Ammoniak.

W.E.Kramlich und A.M.Pearson (15) wenden eine Verdünnungstechnik an, um mit Versuchspersonen, denen sie verschieden

konzentrierte Fleisch-Wasser-Suspensionen vorlegen, ein Bild über die Intensität und die Lokalisierung der Aromas von rohem und gekochtem Fleisch zu erhalten. Die Aromastoffe sind in beiden Fällen gut wasserlöslich und können durch einfaches Auslaugen dem Fleisch rasch entzogen werden. Die Aromaintensität in gekochtem Fleisch ist weit grösser als in rohem Material und kommt nur zur vollen Entwicklung, wenn man den Saft und die Faser zusammen erhitzt. Auf Grund grober chemischer Analyse kommen sie zur Ansicht, dass weder der Fettgehalt, noch der Gehalt an fettfreier Trockensubstanz für Unterschiede im Aroma verantwortlich sind. Auch gelang es ihnen nicht, durch Veränderung des pH-Wertes während des Kochens das Aroma zu verändern.

J. Hornstein und P.F. Crowe (20) erhitzen das Pulver von gefriergetrockneten Kaltwasserextrakten aus Rind- und Schweinefleisch; dabei erhielten sie 2 Fraktionen, wobei die IR-Spektren und Papierchromatogramme der weniger flüchtigen Fraktion für beide Fleischarten qualitativ gleich waren und vor allem Milchsäure und Ammoniak enthielten. Unterschiede im Aroma konnten sie hingegen beim Erhitzen von Rind- und Schweinefett feststellen. Sie glauben auf Grund ihrer Versuche, dass der magere Teil von Rind- und Schweinefleisch ein gleiches Fleischaroma liefert, während die Unterschiede im Fetteil begründet sind, möglicherweise durch Anwesenheit von fettlöslichen "Fremdstoffen".

Um nun Aromakomponenten von erhitztem Fleisch zu isolieren, wurde im allgemeinen eine gekochte Fleisch-Wasser-Suspension destilliert (M.H. Yueh, F.M. Strong (19)).

Durch Einblasen eines Stickstoffstromes als Trägergas haben W.E. Kramlich und A.M. Pearson (22) diese Methode noch wirksamer gestaltet. Die folgenden Verbindungen konnten dabei isoliert werden: CO_2 (19), NH_3 , H_2S (dessen Gehalt durch mehrtägiges Kochen stark anstieg (22)), Me-mercaptan, Me-sulfid (?) (19), Dimethylsulfid (22), Aceton, Acetaldehyd (19), Diacetyl,

Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter-, Isobuttersäure (22).
M.H.Yueh, F.M.Strong (19) konnten keine flüchtigen Alkohole oder Ester nachweisen.

Umfangreiche Arbeiten wurden vor allem mit gekochtem Hühnerfleisch durchgeführt, von denen hier diejenigen von R.I.Bouthilet (2) und von E.L.Pippen und Mitarbeiter (14, 23) erwähnt seien. Auch R.I.Bouthilet weist daraufhin, dass das Aroma erst durch die Hitze freigesetzt wird, wobei eine Glutathion-ähnliche Verbindung als "precursor" in Frage kommen könnte, da sie bei ca. 60° einen Fleisch-ähnlichen Geruch entwickelt. E.L.Pippen und Mitarbeiter konzentrieren sich auf die Wasserdampf-flüchtigen Aldehyde. Sie identifizieren als 2.4-Dinitrophenylhydrazone gegen 20 Carbonyle (Acetaldehyd, Diacetyl, Aceton, Methyl-äthylketon, n-Propanal, n-Butanal, n-Pentanal, n-Hexanal, n-Octanal, n-Nonanal, C₁₆-Aldehyd, C₁₈-Aldehyd, n-Hept-2.4-dien-1-al, n-Deca-2.4-dien-1-al, n-Pent-2-en-1-al, n-Hex-2-en-1-al, n-Hept-2-en-1-al, n-Dec-2-en-1-al, n-Undec-2-en-1-al).

I.L.Hall, D.L.Harrison, D.L.Mackintosh (27) veröffentlichten eine interessante Arbeit über die Rolle des Fettes bei der Aromabildung. Eine Zunahme von freien Fettsäuren in vivo im Rückenfett von Schweinen steht in Beziehung mit dem Zunehmen des gewünschten Aromas. Bewirkt man jedoch eine stärkere Acidität des Fettes durch post mortem Autolyse, hat die steigende Acidität einen negativen Einfluss auf das Aroma.

Bei der Suche nach den Aroma-"precursors" versuchte man in erster Linie, das rohe Fleisch in verschiedene Fraktionen aufzuteilen, um diese auf ihre aromabildenden Eigenschaften hin zu prüfen (O.F.Batzer, A.Santoro, W.A.Landmann, D.M.Doty (25)). Die "precursors" erwiesen sich dabei als wasserlösliche Verbindungen (7, 26), die möglicherweise nicht von solch komplexer Struktur sind, wie man sich denken könnte. O.F.Batzer, A.Santoro, W.A.Landmann (26) zählen Inosin oder Inosinsäure dazu, ferner

ein Glucoprotein, dessen Zuckerteil Glukose ist, und deren Aminosäurezusammensetzung sie diskutieren.

Wenn wir uns nun dem Aroma der Rohwurst zuwenden, stoßen wir auf eine Problemstellung, die neben vielen gemeinsamen Zügen mit den skizzierten Arbeiten doch einige wesentliche Eigenarten aufweist. Als erstes ist hier der Mechanismus der Aromabildung zu nennen. Beim gekochten Fleisch geschieht die Aromabildung innerhalb weniger Minuten durch Einwirkung von Hitze, und ihre Steuerung zu einem schmackhaften Erzeugnis hat sich in der Geschichte der Menschheit zu einer eigentlichen häuslichen Kunst entwickelt. Bei der Rohwurst hingegen ist die Aromabildung ein Prozess, der während Monaten oder wenigstens Wochen abläuft, und zwar bei Temperaturen, die in den heutigen Anlagen betont niedrig gehalten werden. Die Möglichkeiten, das sich bildende Aroma zu beeinflussen, sind heute noch sehr gering. Wir wissen schon seit einiger Zeit, dass die Entstehung des Aromas auf bakteriologisch-enzymatische Prozesse zurückzuführen ist, aber das ist auch praktisch alles, was wir wirklich wissen.

Orientierende Arbeiten wurden in Deutschland von H.Keller und seinen Mitarbeitern (5; 4, 6, 12, 17) vorgenommen, um mit Hilfe von fleischeigenen Aromabakterien die Rohwurst zu verbessern, nachdem der negative Einfluss von verschiedenen Stämmen auf die Aromaentwicklung schon seit einiger Zeit bekannt war. Sie isolierten bei 12°C verschiedene Stämme, die in vitro auf normalem Nähragar ein angenehmes Aroma bildeten, das die Verfasser in Fruchttester (positiv), Käsegeruch (negativ), Erdbeegeruch und Geruch der Edelfäule der Weintraube einteilen. Der Zusatz eines dieser Stämme zu einem normalen Rohwurstbrät ergab ein deutlich schmackhafteres Aroma, sofern die Wurst bei der für Aromabakterien optimalen Temperatur (+12 bis +13°C) gehalten wurde. Die besten Resultate erzielte Eckert (17) bei einer Wurst, der neben einer Reinkultur von Aromabakterien noch der von

Niinivaara (8) beschriebene Stamm M₅₃ beigegeben wurde. Keller (5) stellte fest, dass die Aromabildung schon nach wenigen Subkulturen auf gewöhnlichem Nähragar zurückging und völlig aussetzte. Aus diesbezüglichen Versuchen glaubt er schliessen zu können, dass das angenehme Aroma nur durch die Spaltung des in der Wurst enthaltenen Fettes entstehen kann. Dieser Einfluss der Bakterien zeigt schon, dass die Frage nach den "precursors" bei der Rohwurst anders gelagert sein kann als bei gekochtem Fleisch.

In der heutigen Zeit besteht die Tendenz, die Rohwurstfabrikation aus zum Teil verständlichen wirtschaftlichen Gründen zeitlich möglichst zu verkürzen. Dabei hat man bei der Erzielung der Farbe und der Schnittfestigkeit durch gute technische Anlagen sowie durch Starter-Reinkulturen (Niinivaara, Niven, (8, 9)) beachtliche Resultate erzielt. Auch die Aromabildung konnte zweifellos beschleunigt werden (Keller). Ob jedoch eine in 2-3 Wochen fabrizierte Rohwurst das ausgewogene Bouquet eines alten Salami erreichen kann, ist mindestens Geschmacksache, und damit in einem gewissen Grade auch der streng wissenschaftlichen Beurteilung entzogen.

W. Pezacki, D. Szostak (28) sind der Ansicht, dass eine lange Lagerung der Rohwurst auch im Hinblick auf den Geschmack nicht gerechtfertigt ist, und begründen dies damit, dass zum Beispiel der Gehalt an Brenztraubensäure, der deutlich über der Geschmacksschwelle liegt, bei längerem Lagern zurückgeht, dass also in Bezug auf das Aroma eine Verarmung eintritt. Nun wissen wir aber nicht, wie gross der Beitrag der Brenztraubensäure zum Gesamtaroma ist. Wir kennen dagegen verschiedene Stoffe, deren Gehalt im Laufe der Zeit zunimmt, und die in ihrer Konzentration ebenfalls die Geschmacksschwelle überschreiten.

Für die Versuche, die wir im Laufe dieses Sommers im Institut für Fleischtechnologie der Universität Helsinki aufgenommen haben und von denen wir hoffen, dass wir sie über längere Zeit ausdehnen können, haben wir uns zum Ziel gesetzt, eine möglichst grosse Zahl verschiedenster Stoffe aus der Rohwurst zu identifizieren, ihre Geschmacksschwelle durch Verdünnungsreihen zu bestimmen und abzuklären, ob und in welchem Zeitpunkt in der Wurst diese Stufe überschritten wird. Infolge der Bedeutung der Bakterien beim Fabrikationsprozess der Wurst werden wir daneben versuchen, Bakterien zu isolieren, die die entsprechenden Substanzen (in vitro) produzieren. Die modernen analytischen Methoden, in erster Linie die Gaschromatographie, eröffnen uns Möglichkeiten, zum Teil auch noch Spurensubstanzen zu erfassen, was für unsere Zielsetzung unerlässlich ist. Wir werden uns in unseren Bemühungen weitgehend auf mehr oder weniger flüchtige Substanzen beschränken, wie es durch die begrenzte Anwendbarkeit der Gaschromatographie gegeben ist, werden jedoch auch noch die niederen und höheren Fettsäuren einschliessen, einerseits, da wir im Moment der Ansicht sind, dass diese Säuren auch in anderen Beziehungen, wie zum Beispiel pH-Senkung, eine bedeutendere Rolle spielen könnten als gemeinhin angenommen wird, andererseits, da die Vermutung ausgesprochen wurde (Keller (5), ten Gate (24)), dass wesentliche Aromabakterien lipolytische Eigenschaften besitzen.

Unsere ursprüngliche Absicht, eine möglichst grosse Auswahl verschiedenster Verbindungen durch eine einzige Methode zu isolieren, hat sich aus verschiedenen Gründen als ungünstig erwiesen, weshalb wir jetzt etappenweise einzelne Stoffgruppen gesondert untersuchen. Als erstes haben sich dabei die Carbonyle aufgedrängt, da die Methodik dazu weitgehend entwickelt ist und auch bereits auf verschiedenste Nahrungsmittel angewendet wurde (vor allem Früchte, Fruchtsäfte, aber auch Milch, Brot, Bier, Tee, Wein, Fisch, Sauerkraut als Vertreter einer fermentativen Reifung, und

in jüngster Zeit auch Fleisch und Huhn).

Auf die Bedeutung der Carbonyle für das gewünschte und unerwünschte Aroma von Nahrungsmitteln haben J.Hornstein und P.F.Crowe (20) hingewiesen, in welcher grosser Zahl sie zum Beispiel in Hühnerfleisch vorkommen, zeigen die zitierten Arbeiten von Pippen und Mitarbeiter (14, 23). Auch in der Chemie der Fette wurde den Carbonylen zunehmend Aufmerksamkeit geschenkt, und der "Carbonylindex" beginnt die Peroxydzahl als Mass für die Ranzigkeit von Speisefett zu verdrängen. (10, 16). Untersuchungen eines ähnlichen Indexes bei der Rohwurst, die im allgemeinen 30-40% Fett enthält, können unter Umständen wertvolle Aufschlüsse über Alter und Qualität des Produktes erlauben.

Unsere Methode folgt im Wesentlichen derjenigen, die im Biochemischen Institut Helsinki (Prof.Virtanen) für Carbonyle der Milch angewendet wird. +)

Die Carbonyle werden als 2.4-Dinitrophenylhydrazone isoliert, mit Δ -Ketoglutar säure wieder freigesetzt (13) und direkt in den Gaschromatographen eingebracht.

Die Chromatographiebedingungen waren:

Perkin-Elmer-Fraktometer, Flammenionisationsdetektor

Honeywell-Recorder

Säule: Polyäthylenglykol 6m

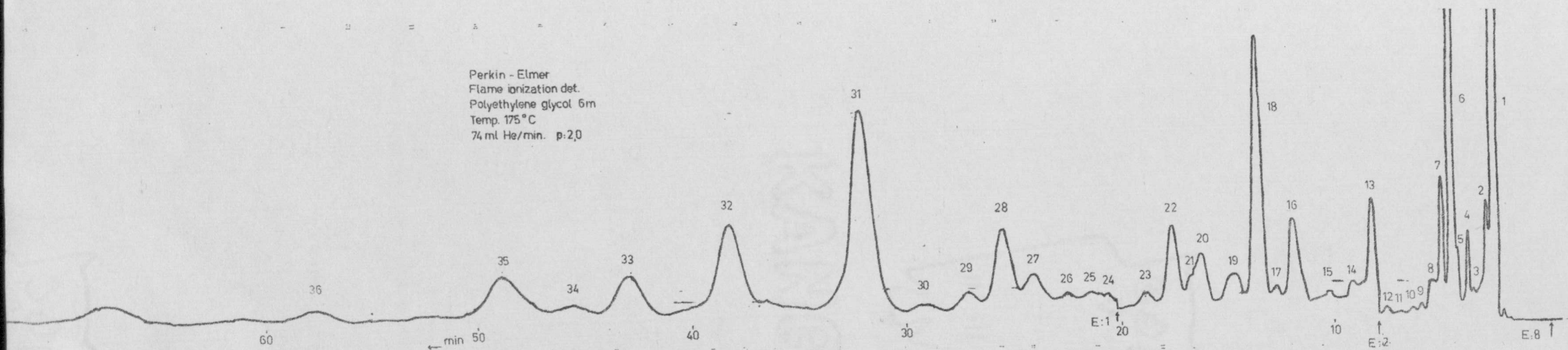
Trägergas: Helium, 75 ml/Min., Druck 2 p

Temperatur: 175°C

Das Chromatogramm zeigt rund 40 Peaks (vergl. Abb.), deren

+) An dieser Stelle möchten wir den Herren Dr.Kreula und Dr.Honkanen vom Biochemischen Institut Helsinki (Prof.Virtanen) danken, die uns von ihren Erfahrungen bei der Untersuchung von Carbonylen in Milch profitieren liessen und uns ihren Perkin-Elmer Gaschromatographen für unsere ersten Versuche zur Verfügung stellten.

Perkin - Elmer
Flame ionization det.
Polyethylene glycol 6m
Temp. 175°C
74 ml He/min. p.20



Chromatogramm einer Aromafraktion, die vorwiegend
Carbonyle enthält.

Rohmaterial war eine handelsübliche, geräucherte
finnische Rohwurst (Fa. Lihakunta Kuopio).

Identifikation jedoch noch nicht abgeschlossen ist. Es scheint wahrscheinlich, dass folgende Carbonyle vorhanden sind:

- (2) Acetaldehyd
- (3) C₃-Aldehyd oder i-C₄-Aldehyd
- (4) Aceton
- (5) n-C₄-Aldehyd
- (7) Methyl-äthyl-keton
- (9) n-C₅-Aldehyd oder Me-propyl-keton
- (12) CH₃-CH=CH-CHO (?)
- (13) n-C₆-Aldehyd oder Me-butyl-keton
- (16) n-C₇-Aldehyd oder Me-nyl-keton
- (19) Äthyl-nyl-keton (?)
- (20) n-C₈-Aldehyd oder Me-hexyl-keton
- (27) n-C₉-Aldehyd oder Me-keton

Einige Peaks sind mit Sicherheit keine Normal-Carbonyle, es mag sich dabei um ungesättigte Verbindungen handeln, möglicherweise aber auch um Ester, so zum Beispiel:

- (10) Propionsäure-äthylester
- (14) Buttersäure-äthylester
- (15) Capronsäure-methylester
- (17) Valeriansäure-äthylester
- (26) Caprylsäure-methylester

Wir müssen betonen, dass die erwähnten Verbindungen noch nicht mit Sicherheit identifiziert sind, während über die Identität der restlichen Peaks noch nichts bekannt ist. Aus der Aufarbeitungsmethode stammen noch Äther (1) und Benzol (8).

Wir bestimmen einen Carbonylindex aus einem aliquoten Teil der Destillationsvorlagen durch kolorimetrische Messung der braunroten Farbe des Komplexes, der beim Versetzen der Hydrazonlösung mit methanol-wässriger Kaliumhydroxydlösung entsteht (3).

Zu diesem Zeitpunkt können wir leider noch keine genauen Angaben über die Reproduzierbarkeit der Versuche machen. Es scheint, dass beim Carbonylindex mit ca. 5% zu rechnen ist. Die Chromatogramme sind qualitativ reproduzierbar, wie es in quantitativer Beziehung steht, wissen wir noch nicht.

Wo liegt nun die Bedeutung der Carbonyle für das Aroma der Rohwurst? Auf diese Frage können und wollen wir im Moment noch nicht näher eingehen, denn wir stehen erst am Anfang der Versuche. Es ist aber unsere Ueberzeugung, dass sie nur einen Teil eines komplexen Ganzen bilden.

Literatur

1. E.C.Crocker: Food Res. 13, 179 (1948)
2. R.J.Bouthilet: Food Res. 15, 322 (1950)
16, 137 (1951)
16, 201 (1951)
3. G.R.Lappin, L.C.Clark: Analyt. Chem. 23, 541 (1951)
4. A.Kohnle: Diss. Giessen 1953
5. H.Keller: Fleischwirtschaft 6, 125 u. 453 (1954)
6. E.Meyer: Diss. Giessen 1954
7. E.L.Pippen, A.A.Campbell, I.V.Streeter: J. Agr. Food
Chem. 2, 364 (1954)
8. F.P.Niinivaara: Diss. Helsinki 1955
9. C.F.Niven Jr.: National Provisioner 26, 123 (1955)
10. S.S.Chang, F.A.Kummerow: J. Am. Oil Chem. Soc. 32, 341 (1955)
11. A.Zanzucchi, C.Delindati: INd. Ital. Conserv. 30, 167 (1955)
12. P.Losem: Diss. Giessen 1956
13. M.Keeney: Analyt.Chem. 29, 1489 (1957)
14. E.L.Pippen, M.Nonaka, F.T.Jones, F.Stitt: Food Res.
23, 103 (1958)
15. W.E.Kramlich, A.M.Pearson: Food Res. 23, 567 (1958)
16. N.W.Berry, A.A.Mc Kerrigan: J.Sci. Food Agr. 9, 693 (1958)
17. H.Eckert: Diss. Giessen
18. J.Crowe, J.Hornstein, W.L.Sulzbacher: J. Agr. Food Chem.
8, 65 (1960)
19. M.H.Yueh, F.M.Strong: J. Agr. Food Chem. 8, 491 (1960)
20. I.Hornstein, P.F.Crowe: J. Agr. Food Chem. 8, 494 (1960)

- 21. O.F.Batzer, A.T.Santoro, M.C.Tan, W.A.Landmann, B.S.Schweiger: J. Agr. Food Chem. 8, 498 (1960)
- 22. W.E.Kramlich, A.M.Pearson: Food Res. 25, 712 (1960)
- 23. E.L.Pippen, M.Nonaka: Food Res. 25, 764 (1960)
- 24. C.ten Cate: Tijdschr. voor Diergeneeskunde 85, 859 (1960)
- 25. O.F.Batzer, A.Santoro, W.A.Landmann, D.M.Doty: AMIF Research 1959 - 1960 Bulletin 45, 22 (Jan.1961)
- 26. O.F.Batzer, A.Santoro, W.A.Landmann: Agr. Food Chem. 10, 94 (1962)
- 27. J.L.Hall, D.L.Harrison, D.L.Mackintosh: J. Agr. Food Chem. 10, 96 (1962)
- 28. W.Pezacki, D.Szostak: Fleischwirtschaft 14, 180 (1962)

Zusammenfassung

Es wird ein kurzer Ueberblick gegeben über die Literatur, die sich mit dem Aroma von rohem und gekochtem Fleisch sowie den Aroma-Vorstufen befasst. Ueber das Aroma der Rohwurst ist noch sehr wenig bekannt. Bei gekochtem Fleisch geschieht die Aromentwicklung in kurzer Zeit durch das gemeinsame Erhitzen von Fleischfaser, Saft und Fett. Bei der Rohwurst liegt das Hauptgewicht bei der Aromabildung auf empfindlichen chemisch-bakteriologischen Prozessen, die während Wochen ablaufen. Diese Mitteilung über die chemische Zusammensetzung des Rohwurstaromas behandelt die gaschromatographische Analyse von Carbonylkomponenten. Die Identifizierung der aufgetrennten Komponenten ist noch nicht abgeschlossen.

Summary

A short review of literature is given on the flavor and flavor precursors of raw and cooked meat and dry sausage. The knowledge of the flavor of dry sausage is still very insignificant. In cooked meat the flavor is formed in a short time through the simultaneous heating of muscle fibers, meat fluids and fat. In dry sausage main emphasis is on the production of flavor by sensitive chemical and bacterial processes in the course of weeks. This report on the chemical composition of the flavor of dry sausage deals with gaschromatographic analysis of carbonyl components. The identification of segregated components has not yet been completed.

Résumé

Un court aperçu de littérature est donné concernant l'arome de viandes crues et cuites ainsi que les "précurseurs" d'arome. Les connaissances sur l'arome du saucisson cru ne sont encore que très insignifiantes. Dans la viande cuite l'arome est formé en très peu de temps par le chauffage simultané des fibres musculaires, du jus de viande et de la graisse. La formation d'arome dans le saucisson cru est basée sur des processus chimico-bactériologiques délicats et compliqués qui s'étendent sur plusieurs semaines. Ce rapport sur la composition chimique de l'arome du saucisson cru traite sur l'analyse gaz-chromatographique de la partie carbonyle. L'identification des éléments séparés n'est pas encore terminée.