

Schnellverfahren zur Aktivitätsbestimmung von Rohwurst-Starterkulturen

KAIJA KUUSELA, EERO PUOLANNE, ESKO PETÄJÄ und F.P. NIINIVAARA
 Universität Helsinki, Institut für Fleischtechnologie, Helsinki, Finnland

Zweck der Untersuchung war, schnelle und einfache Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Rohwurst-Starterkulturen zu entwickeln. In dieser Untersuchung diente als Grundlage die metabolische Aktivität bezüglich der wichtigsten von der Kultur erwarteten Metabolieprodukte. Als aktivitätsindizierende Eigenschaften wurden das Nitratreduktionsvermögen (*Micrococcus sp.*) und das Säurebildungsvermögen (*Lactobacillus sp.*) gewählt.

Säurebildungsaktivität: Die Kultur wird in Pufferlösung (pH 5,5, 1 % Glukose, 44°C) zwei Stunden inkubiert; danach wird die gebildete Säuremenge durch Titrieren mit NaOH bestimmt. Die Säuremenge wird als Milchsäure ($\mu\text{mol/ml}$) angegeben.

Nitratreduktionsaktivität: Die Kultur wird zwei Stunden in Puffer/Formiatlösung (pH 6,0, 100 ppm NaNO_3 , 44°C) inkubiert; danach wird die gebildete Nitritmenge spektralfotometrisch bestimmt.

Die Verfahren wurden durch Bestimmung der Aktivitäten verschieden grosse Zellkonzentrationen aufweisender sowie verschiedener Kulturen getestet; dabei wurde folgendes festgestellt: Die Abhängigkeit der Säurebildungsaktivität von der Zellkonzentration ist in den einzelnen Verdünnungen der gleichen Kultur nahezu linear. Die Korrelationskoeffizient zwischen zu titrierender Säuremenge und Zellkonzentration betrug $r = 0,927$, der Korrelationskoeffizient zwischen Nitratreduktionsaktivität und Zellgehalt entsprechend $r = 0,909$. Beim Testen verschiedener Kulturen wurden jedoch Aktivitätsunterschiede festgestellt, die nicht von der Zellkonzentration der Kultur abhingen. Die Zellkonzentration gibt somit keinen unmittelbaren Aufschluss über die Aktivität einer Kultur.

RAPID METHODS FOR DETERMINING THE ACTIVITY OF STARTER CULTURES FOR DRY SAUSAGE

KAIJA KUUSELA, EERO PUOLANNE, ESKO PETÄJÄ and F.P. NIINIVAARA
 Institute of Meat Technology, University of Helsinki, Helsinki, Finland

The purpose of the work was to develop fast and simple methods for determining the activity of starter cultures for dry sausage. In this study the metabolic activity from the point of view of the most desirable metabolic products from the culture was taken as the basis for the estimation. The ability to reduce nitrate (*Micrococcus sp.*) and to produce acid (*Lactobacillus sp.*) were chosen as properties depicting the activity.

Acid-producing activity: The culture is incubated in a buffer solution (pH 5.5, 1 % glucose, 44°C) for 2 hours. The amount of acid produced is then estimated by titrating against NaOH. The amount of acid was calculated as $\mu\text{mol/ml}$ lactic acid.

Nitrate-reducing activity: The culture is incubated in a formate buffer solution (pH 6.0, 100 ppm NaNO_3 , 44°C) for 2 hours. The amount of nitrite produced is estimated spectrophotometrically.

The methods were tested by determining the activities of different cultures and different cell contents. The results show that in the same culture the acid-producing activity is almost linearly dependent on the cell content for different concentrations. The correlation factor between the cell content and the amount of titratable acid was $r = 0.927$. The corresponding factor for the correlation between the cell content and the nitrate-reducing activity was $r = 0.909$. Tests on different cultures, however, showed variations in activity that were not dependent on either the cell content of the culture. Thus, the number of cells does not directly reflect the activity of the culture.

LES METHODES RAPIDES DE DEFINITION DE L'ACTIVITE DES CULTURES DE DEMARRAGE DU SAUCISSON SEC

KAIJA KUUSELA, EERO PUOLANNE, ESKO PETÄJÄ et F.P. NIINIVAARA

Université de Helsinki, Institut pour la Technologie de la Viande, Helsinki, Finlande

Le but de cette étude a été de développer des méthodes rapides et simples aptes à définir l'activité des cultures de démarrage du saucisson sec. Dans cette étude il a été pris pour principe fondamental l'activité métabolique au niveau des produits métaboliques les plus importants attendus des cultures. Pour caractéristiques de cette activité, on a choisi le pouvoir de réduction du nitrate (*Micrococcus sp.*) et la capacité de production d'acide (*Lactobacillus sp.*).

La production d'acide: La culture est incubée dans une solution tampon (pH 5,5, 1 % glucose, 44°C) durant 2 heures, après quoi on mesure la quantité d'acide formé par titrage au NaOH. Cette quantité d'acide est évaluée en $\mu\text{mol/ml}$ d'acide lactique.

La réduction du nitrate: La culture es incubée dans une solution tampon au formiate (pH 6,0, NaNO_3 à 100 ppm, 44°C) durant 2 heures, après quoi on mesure la quantité de nitrite formé, par spectrophotométrie.

Les méthodes ont été testées par l'appréciation de l'activité de cultures de différentes teneurs en cellules et de cultures différents, et l'on a constaté ce qui suit: La rapport de dépendance de l'activité de formation d'acide lactique à la teneur en cellules pour une même culture donnée est assez linéaire. Le rapport de corrélation existant entre la quantité d'acide titrable et la teneur en cellules était $r = 0,927$; celui reliant la réductivité du nitrate à la teneur en cellules étant $r = 0,909$. Cependant, lors du testage de cultures différentes, on a pu constater variations d'activité indépendantes de la teneur en cellules de la culture. On constate ainsi que la quantité de cellules ne donne pas une image directe de l'activité de la culture.

Скоростный метод определения активности стартеркультур в сырокопченой колбасе.

Кайя Куусела, Ееро Пуоланне, Эско Петаея и Ф.П. Нииниваара.

Университет Хельсинки, Мясотехнологический институт, Хельсинки, Финляндия

Целью настоящего исследования было найти быстрые и несложные методы определения активности стартеркультур в сырокопченой колбасе. В наст. время активность определяют по числу клеток. Основой настоящей работы было изучение метаболической активности самых важных и желаемых метаболических продуктов в культурах. Показателями активности были назначены способность восстанавливать нитрат *Micrococcus sp.* и производить кислоту *Lactobacillus sp.*

Активность производить кислоту:

Культуру инкубируют в буферном растворе /pH 5,5 1% глюкоза, 44°C / 2 часа, после этого количество кислоты определяют титрованием с NaOH и количество кислоты пересчитают на молочную кислоту $\mu\text{mol/ml}$.

Активность восстанавливать нитрат:

Культуру инкубируют в буферном растворе формиата /pH 6,0 100 ppm NaNO_3 , 44°C / 2 часа и количество полученного нитрита измеряют спектрофотометрически.

Методы проверили через определение активности культур разного возраста и с разными содержаниями клеток и установили что: Зависимость активности производить кислоту от количества клеток была в разных разбавления растворов той-же самой культуры довольно линейная. Коэффициент корреляции между количеством титрованной кислоты и количеством клеток равнялась $r = 0,927$. Соответственный коэффициент корреляции между активностью восстановления нитрита и числом клеток равнялся $r = 0,909$. При испытании разных культур определили большие различия в активности независимо от возраста или содержания клеток в культурах. Таким образом следует, что количество клеток не дает прямую картину о активности культур.

Schnellverfahren zur Bestimmung der Aktivität von Starterkulturen

KAIJA KUUSELA, EERO PUOLANNE, ESKO PETÄJÄ und F.P. NIINIVAARA

Institut für Fleischtechnologie, Universität Helsinki, Helsinki, Finnland

Einleitung

Zur Beschleunigung und Sicherung der Rohwurstherstellung werden Starterkulturen eingesetzt. Als Milchsäurebildner kommen dabei in erster Linie Laktobazillen und Pediokokken, als nitrat-reduzierende Organismen Mikrokokken in Frage. Die Starterkulturen beeinflussen ausserdem die organoleptischen Eigenschaften der Ware günstig und haben antagonistische Wirkung auf andere Bakterien.

Die Beurteilung von Starterkulturpräparaten erfolgt bisher überwiegend auf Grund ihrer Keimzahl. Seitens der Praxis wird dabei die Forderung nach schneller Bestimmung der Qualität solcher Präparate gestellt. Bei der Schaffung gesetzlicher Normen für Starterkulturen kommt man nicht umhin, auch standardisierte Verfahren zur Bestimmung der Wirkung, der mikrobiologische Reinheit, der Keimzahl und sonstiger die Qualität beeinflussender Faktoren zu erarbeiten.

In der Milchwirtschaft gilt als Mass für die Qualität von Starterkulturen das Säurebildungsvermögen, das einfach durch Titrieren der innerhalb einer bestimmten Zeitspanne erzeugten Säuremenge bestimmt wird (HORRALL und ELLIKER 1950, CLAYTON und FRYER 1960, FOSTER 1962, STADHOUDERS und HASSIN 1972, EFSTATHIOU u.a. 1975). Entsprechende Verfahren für Bakterienkulturen werden nicht im allgemeinen in der Rohwurstindustrie verwendet.

Das Nitratreduktionsvermögen ist eine wichtige Eigenschaft des Mikrokokken-Starterkulturpräparates, die auch beim Arbeiten mit Nitrit erforderlich ist, da ein Teil des Nitrites beim Reagieren mit Myoglobin zu Nitrat umgesetzt wird. Der Vorgang der Nitratreduktion wurde sowohl in Lösungen (NIINIVAARA 1955, SCHORMÜLLER und SCHILLING 1961 und 1963, PFEIL und LIEPE 1973, PUOLANNE u.a. 1977) als auch in der Wurst (NIINIVAARA 1955, PFEIL und LIEPE 1973, PUOLANNE 1977) unter verschiedenen Umweltbedingungen verfolgt.

Die vorliegende Arbeit geht aus von der Aufgabenstellung, schnelle und einfache Verfahren zur Bestimmung der Aktivität von Rohwurst-Starterkulturen zu schaffen. Als aktivitätsanzeigende Eigenschaften wurden hierbei das Säurebildungsvermögen von *Lactobacillus plantarum* und das Nitratreduktionsvermögen von *Micrococcus sp.* gewählt. Ausserdem wurden die Korrelationen zwischen der Keimzahl und dem Säurebildungs- beziehungsweise Nitratreduktionsvermögen ermittelt.

Säurebildungsaktivität

Verfahrensbeschreibung: Als Testorganismus diente der *Lactobacillus plantarum*-Stamm, der in dem Starterkultur-Handelspräparat "Duploferment 66" (Hersteller Rudolf Müller & Co., Giessen, Bundesrepublik Deutschland) enthalten ist. Vorversuche ergaben für die Säurebildung dieses Organismus folgende Optimalverhältnisse: pH 5,5, Temperatur 44°C, Glukosegehalt 1 %.

Lösungen: 1) 1% NaCl-Lösung, 2) 1/3 M Phosphatpuffer pH 5,5 nach Sörensen (MERCK 1972) + 2% Glukose, 3) 0,1 N NaOH, 4) 1% Phenolphthalein, 5) Rogosa-Agar (MERCK 5413), 6) MRS-Bouillon.

Die Zellen werden in NaCl-Lösung (1) zu einer Konzentration von $2 \cdot 10^8$ Keime/ml aufgeschwemmt. 2 ml der so gewonnenen Suspension werden mit 2 ml Pufferglukoselösung (2) in ein Reagenzglas pipettiert. Beim Nullversuch werden statt der Suspension 2 ml NaCl-Lösung (1) zugegeben.

Die Reagenzgläser werden für zwei Stunden in ein Wasserbad von 44°C gebracht. Danach wird die Reaktion durch Aufbewahren der Reagenzgläser in Eiswasser bis zum Bestimmungszeitpunkt gestoppt.

In ein Becherglas werden 2 ml Probe pipettiert und mit 0,1 N NaOH (3) sowie mit Phenolphthalein (4) als Indikator auf Hellrot titriert.

Die Berechnung der Säuremenge, ausgedrückt als Milchsäure ($\mu\text{mol/ml}$), geschieht wie folgt:

$$50 \times [\text{NaOH-Verbrauch in ml (Probe)} - \text{NaOH-Verbrauch in ml (Nullversuch)}] = \text{Milchsäure in } \mu\text{mol/ml}$$

(1 ml 0,1 N NaOH = 0,0090 g Milchsäure) (AOAC 1970).

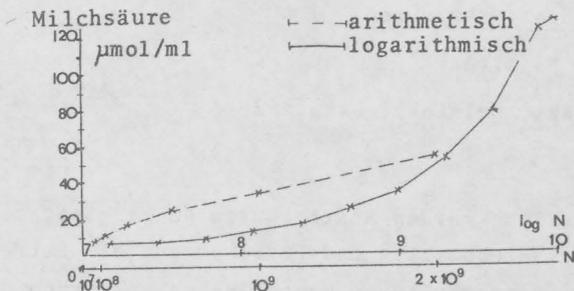


Abb.1. Die gebildete Säuremenge in Abhängigkeit von Laktobazillenzahl

Fig.1. Amount of acid formed as a function of number of lactobacilli.

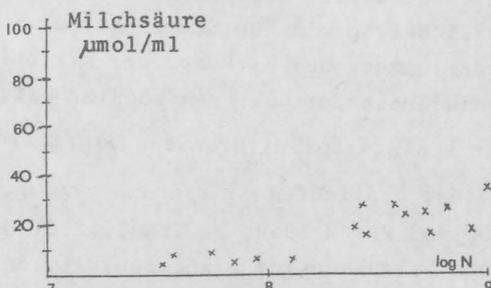


Abb.2. Die gebildete Säuremenge und Keimzahl von verschiedenen lyophilisierten Laktobazillenkulturen.

Fig.2. Amount of acid formed and number of lactobacilli in different lyophilized lactobacillus cultures.

Die Brauchbarkeit dieses Verfahrens zur Feststellung von Aktivitätsunterschieden wurde geprüft durch Bestimmung 1) der Aktivitäten von verschieden starken Verdünnungen ein und derselben Kultur, 2) der Aktivitäten von verschiedenen auf gleiche Weise verdünnten lyophilisierten Kulturen und 3) der Aktivitäten von Kulturen mit gleicher Keimzahl.

Resultate und Diskussion

1) Bei ein und derselben Kultur stand im Keimzahlbereich von 10^7 - 10^{10} /ml Säurebildung in einem nahezu linearen Abhängigkeitsverhältnis zur Keimzahl (Abb. 1). Der Korrelationskoeffizient zwischen zu titrierender Säuremenge und Keimzahl betrug $r = +0,927$.

2) Der Korrelationskoeffizient zwischen Keimzahl und Säurebildungsvermögen, ermittelt an verschiedenen lyophilisierten, auf die gleiche Weise verdünnten Kulturen, betrug $r = +0,745$ (Abb. 2). Die Keimzahlen variierten dabei zwischen $3,3 \times 10^7$ und $1,1 \times 10^9$ Zellen/ml. Allerdings wurden zwischen den verschiedenen Kulturen in geringem Umfange Unterschiede festgestellt, die nicht allein durch die Schwankungen bei der Keimzahl erklärt sind.

Wenn bei der industriellen Herstellung die Keimzahl der Präparate standardisiert wird, wie es in dem oben erwähnten Betrieb der Fall ist, kommt die entsprechende Variation der Keimzahl in der Praxis nicht vor. Auch die Aktivität der Kulturen wird kontrolliert (LIEPE 1978, persönliche Mitteilung).

3) Auf Grund von Punkt 1) und 2) kann festgestellt werden (Abb. 1 und 2), dass, sowohl an ein und derselben Kultur als auch an verschiedenen Kulturen bestimmt, zwischen der Keimzahl und der Säurebildungsaktivität eine gute Korrelation bestand. Im Keimzahlbereich von 10^8 - 10^9 betrug die Säureausbeute 6-35 µmol/ml, gerechnet als Milchsäure. Auf dieser Basis wurde die Säurebildungsaktivität von 152 verschiedenen Kulturen, deren Keimzahl auf 10^8 Zellen/ml eingestellt worden war, bestimmt. Die Aktivitätswerte lagen zwischen 4,3 und 22,3 µmol/ml, ausgedrückt als Milchsäure, bei einem Mittelwert von $13,2 \pm 4,3$ µmol/ml.

Nitrat-reduktions-Aktivität

Verfahrensbeschreibung: Als Testorganismus diente *Micrococcus* sp., der aus dem bereits erwähnten Handelspräparat "Duploferment 06" isoliert wurde. Als für die Nitratreduktion optimale Umweltverhältnisse wurden auf Grund von Untersuchungen von PUOLANNE u.a. (1977) gewählt: pH 6, Temperatur 44°C , 100 ppm NaNO_3 . Bei dem von PUOLANNE u.a. (1977) angewandten Verfahren handelt es sich um eine Variante des Nitratbestimmungsverfahrens von EGAMI und TANIGUCHI (1970).

Lösungen: 1) 1% NaCl-Lösung, 2) 1/15 M Phosphatpuffer pH 6,0 nach Sörensen (MERCK 1972), 3) Phosphatpuffer-/Formiatlösung: 1,7 g $\text{HCOONa} \times \text{H}_2\text{O}/100$ ml Phosphatpuffer (2), 4) Nitratlösung: 100 mg $\text{NaNO}_3/1000$ ml H_2O , 5) Uranylacetatlösung: 10 g $\text{UO}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}/100$ ml H_2O (60°C), filtrieren, 6) Sulfanilamidlösung: 75 ml H_2O + 25 ml konzentrierte HCl + 1,0 g Sulfanilamid, 7) 1-Naphthylösung: 20 mg n- (1-Naphthyl-)äthylendiammoniumchlorid/100 ml H_2O , 8) Nitritstandardlösung 2,0 µg NaNO_2/ml H_2O , 9) Chapman-Agar (MERCK 5469), 10) Vibrio-Bouillon (PETROFF 1973).

Abweichend von den Untersuchungen von PUOLANNE u.a. (1977) werden bei diesem Verfahren anstelle von verschlossenen Thunberg-Röhrchen gewöhnliche offene Reagenzgläser verwendet, denn die Vorversuche ergaben, dass die Art des Behältnisses keinen Einfluss auf die reduzierte Nitratmenge hat. Die Zellen werden in NaCl-Lösung (1) auf eine Konzentration von $2 \cdot 10^8$ Keime/ml aufgeschwemmt. In ein Reagenzglas werden 1 ml Phosphatpuffer-/Formiatlösung (3), 2 ml Zellsuspension und 1 ml Nitratlösung (4) pipettiert. Beim Nullversuch wird anstelle der Zellsuspension NaCl-Lösung (1) zugegeben. Die Reagenzgläser werden für zwei Stunden in ein Wasserbad von 44°C gebracht; danach wird zum Aufbrechen der Reaktion je 1 ml Uranylacetat (5) in die Reagenzgläser gegeben. Die Lösung wird zentrifugiert (1000 G/10 min), und vom klaren Teil wird eine 2-ml-Probe ein Reagenzglas pipettiert. Im Bedarfsfall wird die Lösung für die Nitritbestimmung verdünnt. Der Probe werden 0,5 ml Sulfanilamidlösung (6) und 0,5 ml 1-Naphthylösung (7) zugesetzt, und das Ganze wird geschüttelt. Die sich bildende Farbe wird spektralfotometrisch mit einer Wellenlänge von 540 nm gemessen. Die reduzierte Nitratmenge wird folgendermassen berechnet:
 $1,28 \times \text{entstandenes NaNO}_2 \text{ (ppm)} = \text{reduziertes NaNO}_3$.

Die Brauchbarkeit dieses Verfahrens zur Feststellung von Aktivitätsunterschieden wurde geprüft durch Bestimmung 1) der Aktivitäten von verschiedenen starken Verdünnungen ein und derselben Kultur, und 2) der Aktivitäten von verschiedenen auf gleiche Weise verdünnten, lyophilisierten Kulturen.

Resultate und Diskussion

1) In von ein und derselben Kultur hergestellten Verdünnungen wurde bei niedrigen Keimzahlen ($1,5 - 6 \times 10^7$ Keime/ml) weniger als $1 \mu\text{g}$ Nitrat/ml reduziert. Mit zunehmender Keimzahl stieg dann im Bereich von $6 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ Keimen/ml die Nitratreduktion in Abhängigkeit von der Keimzahl ziemlich linear an. Der Korrelationskoeffizient betrug hierbei $r = +0,909$ (Abb. 3).

Ab einer Keimzahl von 10^9 /ml hatte deren weiterer Anstieg keine Zunahme der Nitritmenge mehr, jedoch eine Abnahme der Restnitratmenge zur Folge. Ab einer Keimzahl von 10^{10} /ml waren Nitrit und Nitrat schon nahezu vollständig verschwunden. Dies lässt den Schluss zu, dass dieser Organismus auch Nitrit reduziert, wie auch PFEIL und LIEPE (1973) festgestellt haben. Bei hohen Keimzahlen verläuft die Nitritreduktion sehr rasch, weshalb empfohlen wird, bei der Bestimmung mit einer Konzentration von 10^8 Zellen/ml zu arbeiten.

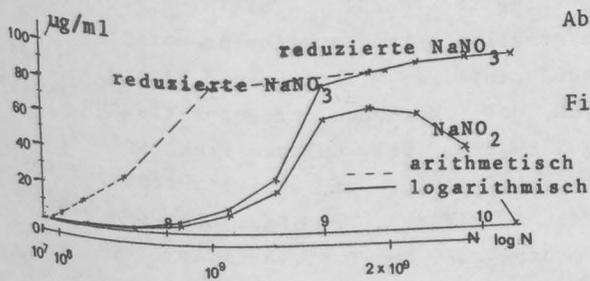
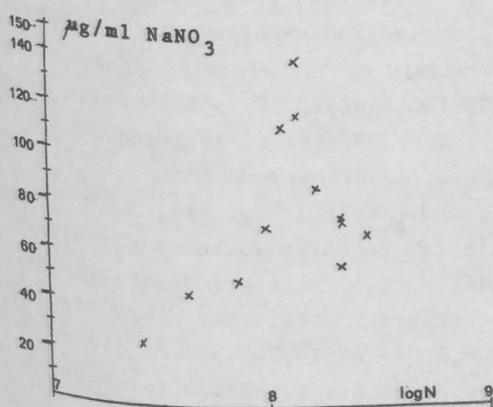


Abb. 3. Die Menge des Nitrits und reduzierten Nitrats in Abhängigkeit von Mikrokokkenzahl.

Fig. 3. Amount of nitrite and nitrate reduced as a function of number of micrococci.

Abb. 4. Die reduzierte Nitratmenge und Keimzahl von verschiedenen lyophilisierten Mikrokokkenkulturen (Substratkonzentration $400 \mu\text{g/ml}$).

Fig. 4. Amount of nitrate reduced and number of micrococci in different lyophilized micrococcus cultures (Substrate concentration $400 \mu\text{g/ml}$).



2) Bei den auf gleiche Weise hergestellten Verdünnungen der verschiedenen gefriergetrockneten Kulturen schwankte die Keimzahl zwischen $2,7 \times 10^7$ und $2,9 \times 10^8$ /ml. Die Nitratreduktionsaktivitäten bewegten sich dabei zwischen $25,3$ und $139,5 \mu\text{g/ml}$ (Abb. 4). Aus der starken

G 6:6

Streuung der Punkte in Abb. 4 ist ersichtlich, dass bei der Nitratreduktionsaktivität beträchtliche von der Keimzahl unabhängige Schwankungen auftraten, so dass also eine bestimmte Keimzahl kein ausreichendes Kriterium für die Nitratreduktionsaktivität einer Kultur ist.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde nicht geklärt, wovon diese vom Zellengehalt unabhängigen Schwankungen herrührten. Bei der industriellen Herstellung wird die Keimzahl der Präparate standardisiert, deshalb kommt diesartige Variation der Keimzahl in der Praxis nicht vor. Auch die Aktivität der Kulturen wird kontrolliert (LIEPE 1978, persönliche Mitteilung).

Schlussfolgerungen

Säurebildungsaktivität: Mit der vorliegenden Arbeit wurde ein Verfahren zur Bestimmung der Säurebildungsaktivität des bei der Rohwurstherstellung eingesetzten *Lactobacillus plantarum* entwickelt.

Der Hersteller der für die Versuche verwendeten Starterkultur empfiehlt einen Zusatz von mindestens 5×10^6 Laktobazillen pro Gramm Wurst. Auf Grund dieser Untersuchung wird die Empfehlung aufgestellt, dass die Säurebildungsaktivität - bestimmt auf diese Weise und bei einem Zellengehalt von 10^8 /ml - $10 \mu\text{mol}$ Milchsäure/ml betragen sollte. Diese Zellenmenge entspricht der auf 20 g Wurst benötigten Zellenmenge.

Nitratreduktionsaktivität: Es wurde ein Verfahren zur Bestimmung des Nitratreduktionsvermögens von *Micrococcus* sp. beschrieben. Bei der Nitratreduktion treten grössere Schwankungen als bei der Säurebildung auf, so dass davon Abstand genommen wurde, im Rahmen dieser Arbeit eine entsprechende Empfehlung aufzustellen.

Die vorgeführten Verfahren als solche eignen sich nur für die bei dieser Untersuchung verwendeten Stämme. Soll es auch für andere Starterkulturstämmen zur Anwendung kommen, so müssen zunächst deren optimale Umweltverhältnisse geklärt werden. Beim Vergleich verschiedener Präparate muss jedoch auch die vom Hersteller empfohlene Zusatzmenge als Kriterium herangezogen werden.

AOAC 1970. Official Methods for Analysis of the Association of official Agricultural Chemists Ed. Horwitz, W. The Collagiate Press, George Banta Company, Inc. Menasha, Wisconsin, USA., CLAYTON, T.J. & FRYER, H.C. 1960. Effect of raw milk storage and bacterial development on subsequent lactic culture activity. Appl. Microbiology 8:278-281., EFSTATHIOU, J.D., MCKAY, L.L., MORRIS, H.A. & ZOTTOLA, E.A. 1975. Growth and preservation parameters for preparation of a mixed species culture concentrate for cheese manufacture. J. Milk and Food Technol. 38:444-448., EGAMI, F. & TANIGUCHI, S. 1970. Nitrat in BERGMAYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Band II: 2179-2184. Verlag Chemie, Weinheim., FOSTER, E.M. 1962. Culture Preservation. J. of Dairy Sci. 45 (1290-1294)., HORRALL, B.E. & ELLIKER, P.R. 1950. An activity test for cheddar and cottage cheese starters. J. Dairy Sci. 33:245, NIINIVAARA, F.P. 1955. Über den Einfluss von Bakterienreinkulturen auf die Reifung und Umrötung der Rohwurst. Acta Agr. Fenn. 84, Helsinki, PFEIL, E. & LIEPE, H.-U. 1973. Der Einfluss des Nitratreduktasesystems auf den Rest-nitritgehalt in Rohwurst und seine Abhängigkeit von äusseren Bedingungen. Die Fleischw. 53: 1745-1748, PETÄJÄ, E. 1973. The influence of a *Vibrio*-strain on the ripening of dried hams. Ber. 19. Eur. Fleischforscherkongress, L 5, 1623-1628, PUOLANNE, E. 1977. Die verringerten Nitrit- und Nitratzusätze in Rohwurst. J. of Sci. Agr. Soc. of Finland 49:1-106. PUOLANNE, E., TÖRMÄ, P. & DJEDJEVA, G. 1977. Über das Nitratreduktionsvermögen der Stämme *Micrococcus* M_{III} und *Vibrio* 21. Lebensm.-Wiss. und -Technol. 10:7-11, SCHORMÜLLER, J. & SCHILLING, M. 1961. Über die Nitratreduktase einiger in der Rohwurst vorkommender Mikroorganismen. Nahrung 5:18-40, SCHORMÜLLER, J. & SCHILLING, M. 1963. Weitere Untersuchungen über die Nitratreduktase verschiedener an der Reifung von Rohwurst beteiligter Mikroorganismen. Z. Lebensm. Unt. u. Forschung 118:492-509, STADHOUDERS, J. & HASSIN, F. 1972. A standardized method for estimation of the activity of cheese starters. Voedingsmiddelen technologie 34/35: 190-193,