

Nr. 91

10. jan. 1977

Upplitun á grásleppukavíarNýtt sjónarmið

Í ársskýrslu stofnunarinnar 1975 og í Tækni tíðindum nr. 75, 19/3 1976, er greint frá hreinræktun 23 gerlastofna úr jafnmörgum sýnum af grásleppukavíar, sem hafði upplitast við geymslu, en kavíar þessi hafði verið litaður svartur, svo sem títt er um svona vöru. Gerlastofnar þessir virtust allir sömu tegundar: Gram-pósítífir, ókvikir stafgerlar án gróa, sem ekki leystu gelatíni. Þeir reyndust þola vel benzóat. Átján þessara stofna voru prófaðir, hvort þeir gætu valdið upplitun á sams konar kavíar, og reyndust þeir allir hafa þann hæfileika. Til samanburðar voru prófaðir 12 gerlastofnar, sem algengastir höfðu reynst í venjulegum grásleppukavíar. Voru þeir af ættkvíslunum *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus* og *Torula*, og reyndist engin þeirra geta valdið upplitun.

Samkvæmt þessum niðurstöðum var litið svo á, að gerlastofnarnir 18 hefðu orsakað upplitunina á kavíarnum, sem þeir voru ræktaðir úr, og voru 2 af þeim sendir Torry Research Station í Aberdeen til greiningar. Hafði rannsóknastofnun þessi áður með bréfi dags. 11/3 1976, tjáð sig fúsa til að framkvæma þessa greiningu endurgjaldslaust, þar sem stofnunin hefði áhuga á gerlum sem þessum. Niðurstöðurnar frá Torry bárust svo með bréfi, dag. 24/5 og voru þær eins og hér segir:

Gerlastofnarnir 2 reyndust báðir vera af tegundinni Lactobacillus plantarum. Voru gerðar á báðum stofnunum 52 mismunandi lífefnafræðilegar prófanir og reyndust þeir alls staðar vera eins. Tegundin *L. plantarum* er algengur mjólkursýrustafgerill, sem finnst í ýmsum matvælum og hefur oft verið ræktaður úr súrpækluðum (marineruðum) vörum.

Samkvæmt tilmælum Torry var stofnuninni sent sýni af litarefni því, sem notað hafði verið hér í kavíarinn. Litarefni þetta var frá Oehme & Baier í V-Dýskalandi og nefnist Kaviarschwarz 72363. Er þetta blanda af 3 litarefnum: Brilliant Black (CI 28440), Tartrazine (CI 19140) og Amaranth (CI 16185). Gerði stofnunin Torry eftirfarandi tilraun með þetta litarefni:

Gert var gerilæti úr kjötseyði (Oxoid cm 67) + 0.3% agar og bætt í það 0.1% af litarefninu Kaviarschwarz. Ætið var síðan sett í tilraunaglös og þau steriliseruð á venjulegan hátt. Í nokkur glasanna var nú sáð gerlastofnunum hvorum fyrir sig, en önnur glös látin ósáin til samanburðar. Hvor tveggja glösin voru sett til ræktunar við 25°C, annars vegar bæði sáin og ósáin glös á venjulegan hátt í nærveru súrefnis (aerob) og hins vegar tilsvarendi glös í fjarveru súrefnis (anaerob). Eftir 7 daga var komin fram meiri og minni upplitun í öllum glösunum eins og sýnt er í töflu I.

Tafla I.

Sáning	Ræktun	Hluti upplitaður	Litur varð
Sáin	Aerob	50%	Rauðgulur
Sáin	Anaerob	100%	Rauðgulur/gulur
Ósáin	Aerob	20%	Rauðgulur
Ósáin	Anaerob	100%	Gulur

Eins og taflan ber með sér, þá hafa glösin, sem sett voru til ræktunar í fjarveru súrefnis (anaerob), upplitast algerlega á 7 dögum bæði þau sánu og ósánu, en glösin, sem geymd voru í nærveru súrefnis (aerob) upplituðust mun hægar og af þeim þau ósánu minnst. Af þessu dregur Torry þá ályktun, að upplitunin orsakist af breyttu ildunarstigi (Redox-potential) og hafi firrun súrefnis við ræktunina haft meiri áhrif en gerlastofnarnir sjálfir.

Þessi niðurstaða Torry, að upplitunin stafi af lágu ildunarstigi, kemur heim við tilraunina, sem gerð var hér heima, en þar kom í ljós, að upplitunin í kavíarglösunum "hófst við botninn og færðist upp eftir í glösinu því meiri sem hún varð". (Tæknitíðindi nr. 75). Súrefnis-

leysis gætir að sjálfsögðu fyrst við botn glasanna, standi þau rétt og sé kaviarinn svo blautur að vatn safnist neðst í glasið, verður súrefnisleysið þar ennþá meira. Þegar svo bætist við súrefnisnotkun gerlagróðursins, í þessu tilfalli *Lactobacillus plantarum*, í kaviarnum, lækkar ildunarstigið svo mjög að litarefnið missir litinn, þ.e. afildast eða redúserast, eins og það er nefnt. Afildun er þannig orsök upplitunarinnar, bæði í tilraunaglösunum í Torry og í kaviarglösunum hér heima. Hér er þó sá munur á, að gerilætið, þ.e. Oxoid-kjötsoðið með agarnum, sem notað var í Torry, virðist sjálft hafa verkað redúserandi, en slík verkun kom ekki fram í ósánu kaviarglösunum í tilrauninni hér heima. Mest áhrif á ildunarstigið í tilraunaglösunum í Torry hefur þó sýnilega haft sú firrun súrefnis, sem framkvæmd hefur verið þar við hina súrefnisfríu (anaerob) ræktun, en glösin, sem þessa meðferð hlutu, upplituðust 100% á 7 dögum, bæði þau sánu og ósánu.

Þegar framleiddur er kaviar í glösunum, þá eru glösin loftdregin (evakúeruð) um leið og þeim er lokað. Við þetta verður undirþrýstingur í glösunum, venjulegast $0.4 - 0.6 \text{ kg/cm}^2$, svo að lokið sogast fast að röndinni á glasinu, en þar er gúmmípétting á milli. Augljóst er að í glasinu er enn eftir talsvert af lofti, eða annað eins og burtu var dregið. Fer því fjarri að þessi firrun súrefnis úr glasinu nálgist það mark, sem ná verður við gerlarækt í fjarveru súrefnis (anaerob ræktun), þó að hún sé spor í áttina.

Við tilraunirnar tvær til upplitunar á kaviar, sem greint var frá í Tæknitíðindum nr. 75, var eins farið að og við venjulega framleiðslu á þessari vöru, að öll glösin voru loftdregin um leið og þeim var lokað, bæði þau sánu og ósánu. Hést undirþrýstingur á glösunum allan tímann meðan á tilraunum stóð.

Eftir að niðurstöðurnar komu frá Torry varð margt af því, sem kom fram við tilraunirnar hér, auðskildara en áður, m.a. það að upplitunin í kaviarglösunum hófst alltaf við botninn. Þykir því rétt að greina hér nokkru nánar frá þessum tilraunum, einkum þeirri seinni (tilraun II) sem var nákvæmari.

Við báðar tilraunirnar var reynt að fylgjast nokkuð með gerlagróðrinum í kaviarglösunum meðan á tilrauninni stóð og því tekin glös til rannsóknar öðru hverju. Þessum glösunum var ekki lokað aftur og

þau hurfu því úr sögunni að rannsókn lokinni. Þegar nú sýnt þykir að líta megi á gerlastofnana 18, sem reyndust upplita kaviárin, sem eina og sömu tegund af mjólkursýrustafgerlum, þ.e. *Lactobacillus plantarum*, öðlast talningarnar, sem gerðar voru á þessum gerlum meðan á tilrauninni stóð, meira gildi og skal því frá þeim skýrt.

Tilraunirnar voru báðar gerðar í venjulegum kaviarglösum, sem tóku 50 g. Var glösunum skipað í 3 flokka.

Flokkur A: Glös, sem í var sáð gerlastofnunum 18 úr upplitaða kaviárunum.

Flokkur B: Glös, sem í var sáð öðrum gerlastofnum ræktuðum úr kaviár.

Flokkur C: Glös, sem látin voru ósáin.

Sáning gerlastofnanna í kaviarglösin fór í báðum tilraununum þannig fram, að gróður stofnsins á skáagar var strokinn af og hrærður út í 2 cm³ af sterilu saltvatni (0.85%). Gruggi þessu var svo hellt öllu í glasið, sem í var 50 g af kaviár. Gerlafjöldinn í kaviárunum fyrir sáningu var hverfandi lítill, 450-690/g í fyrri tilrauninni og aðeins 20/g í þeirri seinni. Í ósánu glösin (flokkur C) voru settir 2 cm³ af sterilu saltvatni í hvert glas. Ræktað var við 28°C.

Við gerlatalningarnar í kaviarglösunum í flokki A voru hlutað-eigandi gerlastofnar, sem sáð hafði verið í þau, algerlega ríkjandi, svo að kólóníur annarra tegunda komu þar varla fyrir. Talningar þessar gefa því alls staðar fjölda mjólkursýrustafgerlanna *L. plantarum*. Það kom strax fram í tilraun I, að þessi fjöldi var mjög mikill fyrst í stað, en fór svo minnkandi, og lítið samræmi virtist vera á milli gerlafjöldans og upplitunarstigsins. Eitt glasið í þessari tilraun upplitaðist algerlega á 10 dögum og reyndist þá hafa gerlafjöldann 66.000.000/g. Fjórum vikum eftir sáningu þá voru hin glösin 17 öll farin að upplitast niður við botninn. Var gerð gerlatalning í 8 glösum og var gerlafjöldinn 410.000-6.200.000/g. Að liðnum alls 8 vikum höfðu glösin 9, sem eftir voru, upplitast mjög mikið og 3 af þeim alveg. Gerlafjöldi í 4 glösum 850.000-5.500.000/g. Eftir alls 12 vikur voru síðustu glösin 5 orðin alveg upplituð, gerlafjöldi 80.000-550.000/g. Sýrustig kaviársins hafði lítið eitt lækkað í nokkrum glösum úr pH 5.0 í pH 4.8 - 4.9, en í öðrum

ekkert. Engin upplitun varð í glösunum í flokkunum B og C, en 3 þeirra voru geymd í 6 mánuði. Sáningar frá glösunum í þessum flokkum gáfu mjög lítinn gerlagróður.

Tilraun II var að mestu leyti endurtekning á tilraun I, en nokkru stærri og ítarlegri. Notaður var nú kaviar frá annarri verksmiðju, en báðar notuðu þessar verksmiðjur sama kaviarlitinn. Kaviarinn í tilraun II var frá sömu verksmiðju og framleiddi mest af kaviarnum, sem upplitaðist í byrjun og stofnarnir 18 voru ræktaðir frá. Verksmiðja þessi gerilsneyðir stundum kaviarinn við lághitun, og var gerilsneyddur kaviar valinn í þessa tilraun. Að öðru leyti var kaviarinn í tilraun II frábrugðinn þeim í tilraun I í því, að vatnsmagn og saltmagn var nú heldur minna, en magn af benzóati mun meira. Nánar til tekið var munurinn eins og sýnt er í töflu II.

Tafla II.

Kaviar í tilraun	I	II
	<u>Ógerilsneyddur</u>	<u>Gerilsneyddur</u>
Vatn %	73.6	71.1
Salt %	5.3 - 6.1	4.7
Benzóat %	0.09 - 0.11	0.26
Sýrustig pH	4.9 - 5.0	5.1
Gerlafjöldi í 1 g	450 - 690	20

Upplitun kaviarsins í tilraun II var miklu hraðari en í tilraun I. Upplitun var byrjuð við botninn í nær öllum glösunum eftir 1 viku og eitt glas var þá algerlega upplitað. Ekki var það þó sami gerlastofn og sá, sem upplitaði á 10 dögum í tilraun I. Fór nú upplitunin hratt vaxandi, og eftir 4 vikur höfðu 15 glös algerlega upplitast og 3 glös nær alveg, eins og sýnt er í töflu III. Eins og taflan ber með sér varð engin upplitunin í glösunum í flokki B og C fyrr en að 33 vikum liðnum, að kaviarinn í öllum þessum glösunum hafði fengið gulbrúnan blæ, sem var jafnt dreifður í öllu glösinu og ólíkur þeim litbrigðum, sem urðu í flokki A.

Tafla III. Upplitun í kafiarglösum í tilraun II. Tala stofna og glasa.

Liðnar vikur	Flokkur A 18 stofnar					Flokkur B 12 stofnar			Flokkur C 6 glös		
	-	+	++	+++	(R)	-	+	(R)	-	+	(R)
1	3	9	5	1		12			6		
2	2	4	10	2		12			6		
3	0	1	7	10		12			6		
4		0	3	15	(8)	12		(1)	6		(1)
10			1	9	(6)	11		(5)	5		(3)
33			0	4	(4)	0	6	(6)	0	2	(2)

Magn upplitunar: - = engin, + = byrjuð, ++ = mikil, +++ = alger.

Tölur í svigum (R): Glös tekin til rannsóknar.

Tafla IV. Gerlatalningar í kafiarglösum í tilraun II.

Liðnar vikur	Flokkur A		Flokkur B			Flokkur C	
	Tala glasa	Meðalfjöldi í 1 g	Tala glasa	Meðalfjöldi í 1 g	Ættkvíslir gerla	Tala glasa	Meðalfjöldi í 1 g
4	8	4.700.000	1	<100	Cb.	1	<10
10	4	140.000	4	30	Cb. Str. T.	1	5
33	4	53.000	5	30	Cb. Str. T.	2	0
			1	1400	B.		

Ættkvíslir gerla: Cb. = Corynebacterium, Str. = Streptococcus, B. = Bacillus, T. = Torula.

Gerlatalningar voru gerðar á kaviarglösunum úr öllum flokkum að 4 vikum liðnum og svo síðan að 10 og 33 vikum liðnum. Niðurstöður þessara talninga eru skráðar í töflu IV. Eins og þar kemur fram, þá hefur gerlafjöldinn í flokki A (*L. plantarum*) farið mjög minnkandi á tímabilinu. Í glösunum í flokki B hvarf gerlagróðurinn nær alveg, nema 1 stofn af ættkvíslinni *Bacillus*, sem hélt sæmilega velli, að sjálfsögðu vegna dvalagróanna. Glösin í flokki C reyndust nánast steril.

Á sýrustigi kaviarsins í glösunum af flokki A varð mikil breyting, enda um mjólkursýrugerla að ræða. Lækkaði sýrustigið úr pH 5.1 í pH 4.6 á 4 fyrstu vikunum og að lokum niður í pH 4.5. Í flokkunum B og C varð engin breyting á sýrustigi.

Litbrigðin á kaviarnum meðan hann var að upplitast voru dálítið mismunandi. Varð hann víðast hvar meira eða minna gulur eða gulgrænn en annars staðar nær hvítur. Eins og áður var getið (tafla I) urðu litbrigðin í tilrauninni hjá Torry þau, að glösin urðu gul eða rauðgul (orange). Þess var einnig getið hér að framan að umræddur kaviárlitur var blanda af þremur litarefnum: *Amaranth*, sem er rautt, *tartrazine*, gult og *brilliant black*, sem er svart. Er þannig útlit fyrir, að það sé svarta litarefnið, sem fyrst missir litinn (redúserast). Öll þrjú litarefnin eru úr flokki Azo-litarefnanna, nánar tiltekið natríumsölt af súlfósúrum azó-samböndum.

Enda þótt öll kaviarglösin væru alltaf geymd við 28°C meðan á tilrauninni stóð, komu ekki fram á kaviarnum nein einkenni rotnunar, hvorki á lykt né á gerð hrognanna, og ekki heldur þar sem upplitun varð. Er þetta að sjálfsögðu að þakka miklu magni af benzóati í kaviarnum og svo því, að þar sem gerlafjöldi var mikill var aðeins um mjólkursýrugerla að ræða.

Yfirlit og ályktanir

Greint er frá niðurstöðum rannsókna á íslenskum grásleppukavíar lituðum með *Kaviarschwarz 72363* (Oehme & Baier), en kavíar þessi upplitaðist við geymslu. Frá þessum upplitaða kavíar var hreinræktuð geriltegund, sem við tilraunir hér heima reyndist geta upplitað sams konar kavíar og hún var ræktuð úr. Geriltegund þessi var greind af

Torry Research Station í Aberdeen og reyndist vera *Lactobacillus plantarum*. Í ljós kom enn fremur hjá Torry, að litarefnið Kaviarschwarz missti einnig litinn undir "anaerob" skilyrðum, án nærveru gerla, og var því dregin sú ályktun, að upplitinin stafaði af lækkuðu ildunarstigi (Redox-potential).

Út frá þessum forsendum og öðrum þeim, sem hér að framan hafa verið taldar, verða dregnar eftirfarandi ályktanir um upplitinina á nefndum kavíar:

Í kavíarinn hafa borist mjólkursýrustafgerlar af tegundinni *Lactobacillus plantarum*. Þar sem gerlar þessir þoldu vel benzóatið, sem kavíarinn var rotvarinn með, náðu þeir í honum miklum vexti. Þar við bættist að gerlar þessir eru "mikroaerofil", þ.e. þeir komast af með mjög lítið súrefni. Það hindraði því ekkert vöxt þeirra, þó að helmingur loftsans í glasinu væri dreginn út við lokun, né þó súrefnið í glasinu minnkaði stöðugt við öndun gerlanna, en fjöldi þeirra komst upp í tugi milljóna í 1 g. Þar kom að lokum að súrefnið minnkaði svo mjög, þ.e. ildunarstigið lækkaði svo mikið í kavíarinum, að litarefnið missti litinn (redúseraðist) og kavíarinn upplitaðist.

Til staðfestingar á þessari kenningu þarf að endurtaka tilraunina með upplitinina á kavíarinum að viðbættum mælingum á ildunarstigi kavíarsins meðan á tilrauninni stendur. Hliðstæða tilraun þarf að gera með litarefnið Kaviarschwarz í öðrum efnablöndum, sem ætla má að verki redúserandi, s.s. Oxoid-kjötseyðið með agarnum, sem notað var hjá Torry.

Þá ber að færa þakkir Torry Research Station í Aberdeen fyrir þá mikilvægu aðstoð, sem sú stofnun hefur af einstakri velvild veitt okkur við lausn þessa verkefnis.

Sigurður Pétursson.