

# Sauerkraut

## 1 Übersicht

### 2 Milchsäuregärung

- 2.1 Geschichte
- 2.2 Die Milchsäurebakterien
  - 2.2.1 Homofermentative Milchsäurebakterien
- 2.3 Der biochemische Prozess der Milchsäuregärung
  - 2.3.1 Die Glykolyse
  - 2.3.2 Der Citronensäurezyklus
  - 2.3.3 Die Reaktion des NADH
- 2.4 Die Gärung

### 3 Sauerkraut herstellen

- 3.1 Vorbereitungen
- 3.2 Ausführung
- 3.3 pH-Messwerte
  - 3.3.1 Beobachtungen
  - 3.3.2 Interpretationen

### 4 Nachweis der Säurebildner und Bestimmung der Zellzahl

- 4.1 Versuchsdurchführung
- 4.2 Resultate

### 5 Schlussfolgerung

### 6 Glossar

## 2 Die Milchsäuregärung

### 2.1 Geschichte

Schon früher wurde diese bei Luftausschluss spontan einsetzende Säuerung zuckerhaltiger Nahrungs- und Futterpflanzen als Konservierung genutzt.

### 2.2 Die Milchsäurebakterien

Die Milchsäurebakterien treten als Kokken<sup>1</sup> sowie als Lang- und Kurzstäbchen auf. Sie sind eine physiologisch einheitliche Bakteriengruppe mit GRAM-positiver Zellwand, die Zucker nur fermentativ<sup>2</sup> unter Bildung von Milchsäure verwerten kann. Die Milchsäurebakterien können nicht Atmen, da sie keine häminhaltigen<sup>3</sup> Enzyme haben. Sie haben einen anaeroben Stoffwechsel, sind aber sauerstofftolerant.

Milchsäurebakterien sind auf einem reinen Zuckersubstrat nicht existent, da sie immer eine Vielzahl von Stoffen, die synergistisch<sup>4</sup> auf ihr Wachstumsverhalten wirken, benötigen. Das ist auch die Erklärung dafür, weshalb ihre natürlichen Wachstumsorte in komplexen Wirkstoffkompartimenten zu finden sind. Sie haben eine intensive Milchsäurebildung und sind nur in einem pH-Bereich zwischen 4 und 5 existent.

Es gibt zwei Arten von Milchsäurebakterien, die homofermentativen und die heterofermentativen. Die homofermentativen Milchsäurebakterien vergären C6-Zucker zu Milchsäure. Die Heterofermentativen bilden nebst Milchsäure auch Essigsäure oder Ethanol und CO<sub>2</sub>.

### 2.2.1 Homofermentative Milchsäurebakterien

Die Homofermentativen Milchsäurebakterien bauen Glucose, Wein- und Bierhefe auf dem Fructosebisdiphosphat-Weg zu Brenztraubensäure ab. Sie übertragen den Substratwasserstoff mit Hilfe von NAD auf die Brenztraubensäure und wandeln diese somit in Milchsäure um.

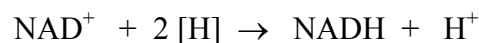
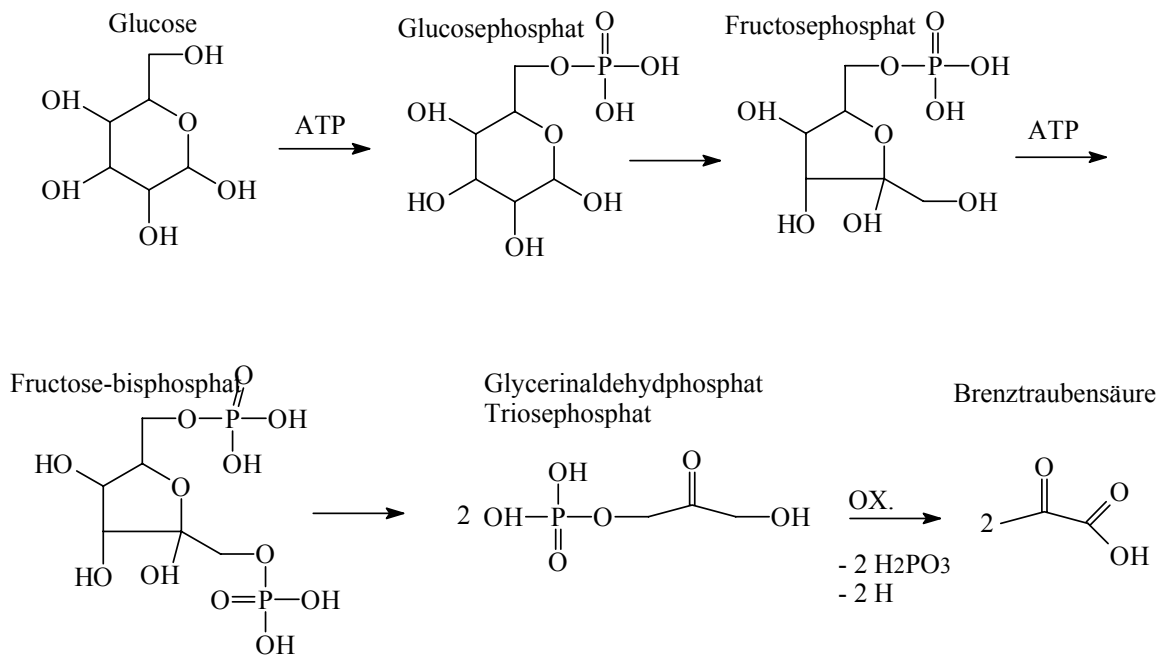
Das Brenztraubensäure zu Milchsäure reduzierende Enzym ist je nach Bakterienart verschieden spezifisch. Deshalb bilden manche Bakterien optisch rechts (D-(+)) und andere optisch links (L-(-)) drehende Milchsäure. Ein zusätzlich gebildetes Enzym kann die beiden optischen Formen ineinander umwandeln, so ergibt sich das Gemisch D,L-Milchsäure.

Bei Sauerstoffzutritt kann auch bei den homofermentativen Milchsäurebakterien ein geringer Teil der Brenztraubensäure in Essigsäure und Ethanol umgewandelt werden.

## 2.3 Der biochemische Prozess der Milchsäuregärung

### 2.3.1 Die Glykolyse

Glucose wird in Gegenwart von ATP zu Glucosephosphat umgewandelt, welches zu weiter Fructosephosphat gebildet wird. Das Fructosephosphat wird mit Hilfe von ATP zu Fructosebisdiphosphat umgesetzt. Dieses Molekül wird in zwei Glycerinaldehyddiphosphate gespalten, welche unter Wasserstoff- und Phosphatabgabe, sowie Oxidation zu Brenztraubensäure synthetisiert werden. Der nun freigesetzte Wasserstoff reduziert NAD<sup>+</sup> zu NADH.

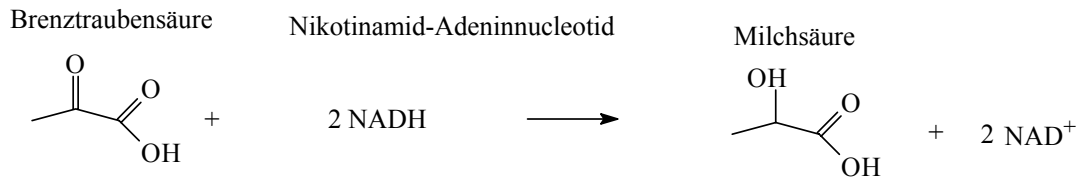


### 2.3.2 Der Citronensäurezyklus

Mit Sauerstoff würde nun die Brenztraubensäure in aktivierte Essigsäure umgewandelt und der Tricarbonsäurezyklus würde beginnen. Da wir aber unter Sauerstoffausschluss gearbeitet haben, kann dieser Zyklus nicht beginnen.

### 2.3.3 Die Reaktion des NADH

Das NADH reagiert statt mit O<sub>2</sub> nun mit Brenztraubensäure und verwandelt dies in Milchsäure. Dabei entsteht wieder NAD<sup>+</sup>. Die Energie des NADH ist also jetzt in der Milchsäure gespeichert.



## 2.4 Die Gärung

Die bei der Sauerkrautherstellung genutzten Bakterien vergären den Zucker und bilden Mannit. Die starke CO<sub>2</sub>-Bildung dieser ersten, homofermentativen Gärungsphase treibt das Kraut in die Höhe, so dass es niedergestampft werden muss. In den folgenden Gärungsphasen wird der restliche Zucker vergärt und die Bakterien sind weitgehend pH-tolerant.

Die zu Beginn der Gärung wachsenden Hefen, die den Luftsauerstoff verbrauchen, entwickeln Alkohol, der dann mit anderen während des Gärungsprozesses entstehenden Säuren verestert. Diese Ester sind eine wichtige Geschmackskomponente.

## 3 Sauerkraut herstellen

### 3.1 Vorbereitungen

2. Dezember 2003

Auf dem Berner Wochenmarkt kaufen wir die benötigten Zutaten zur Sauerkraut-Herstellung.

Zutaten:

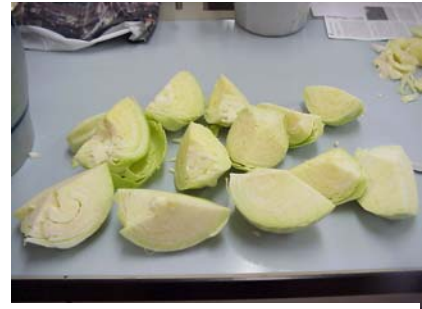
- ca. 2 kg Weisskohl
- Salz
- Kümmel
- Wacholderbeeren

Material:

- Steintopf
- Zwischenholz
- Stein zur Beschwerung
- pH-Meter Metrohm
- Küchenhobel
- Abdeckglas

## 3.2 Ausführung

Zu Beginn wird der Kohl gewaschen, danach entfernt man die äusseren Blätter mit einem Messer. Diese werden aufbewahrt, da sie später zum Abdecken benötigt werden. Jetzt wird der Kopf des Kohls gewaschen, geviertelt und mit einem Küchenhobel in feine Streifen geschnitten. Im Steintopf werden diese Streifen übereinander aufgeschichtet. Nach jeder Schicht streut man Salz darüber und stampft mit einem Holz so lange bis der Saft austritt. Nun werden der Kümmel und die Wacholderbeeren darüber gestreut, und zum Schluss deckt man das Ganze mit den besagten äussersten Blättern des Kohls ab.



Die geviertelten Kohlköpfe

*Dezember 2003 bis Januar 2004*

Der so zubereitete Kohl lagerten wir nun einige Wochen in unserer Schule, wobei jede Woche jemand den pH-Wert kontrollierte.

Auch musste fast jede Woche der Schimmel entfernt werden, was wegen dem penetranten Geruch ziemlich unangenehm war.



Manuel bei der wohl schlimmsten Arbeit

## 3.3 pH-Messwerte

### 3.3.1 Beobachtungen

Datum	pH	$c(\text{H}_3\text{O}^+)$ [mol/L]	Bemerkungen
02.12.2003	5.80	$1.5849 \cdot 10^{-6}$	Start
03.12.2003	5.36	$4.3652 \cdot 10^{-6}$	
04.12.2003	4.56	$2.7542 \cdot 10^{-5}$	
05.12.2003	4.12	$7.5858 \cdot 10^{-5}$	
06.12.2003	4.01	$9.7724 \cdot 10^{-5}$	
08.12.2003	3.98	$1.0471 \cdot 10^{-4}$	
09.12.2003	3.95	$1.1220 \cdot 10^{-4}$	Leichter Schimmel
11.12.2003	3.98	$1.0471 \cdot 10^{-4}$	
16.12.2003	4.12	$7.5858 \cdot 10^{-5}$	Arg verschimmelt
19.12.2003	4.12	$7.5858 \cdot 10^{-5}$	Arg verschimmelt
22.12.2003	4.08	$8.3176 \cdot 10^{-5}$	Viel Flüssigkeit
27.12.2003	4.10	$7.9433 \cdot 10^{-5}$	Wasser wird entfernt
02.01.2004	4.40	$3.9811 \cdot 10^{-5}$	
06.01.2004	3.86	$1.3804 \cdot 10^{-4}$	
13.01.2004	3.96	$1.0965 \cdot 10^{-4}$	Beinahe keine Flüssigkeit mehr vorhanden
20.01.2004			Abbruch

### 3.3.2 Interpretationen

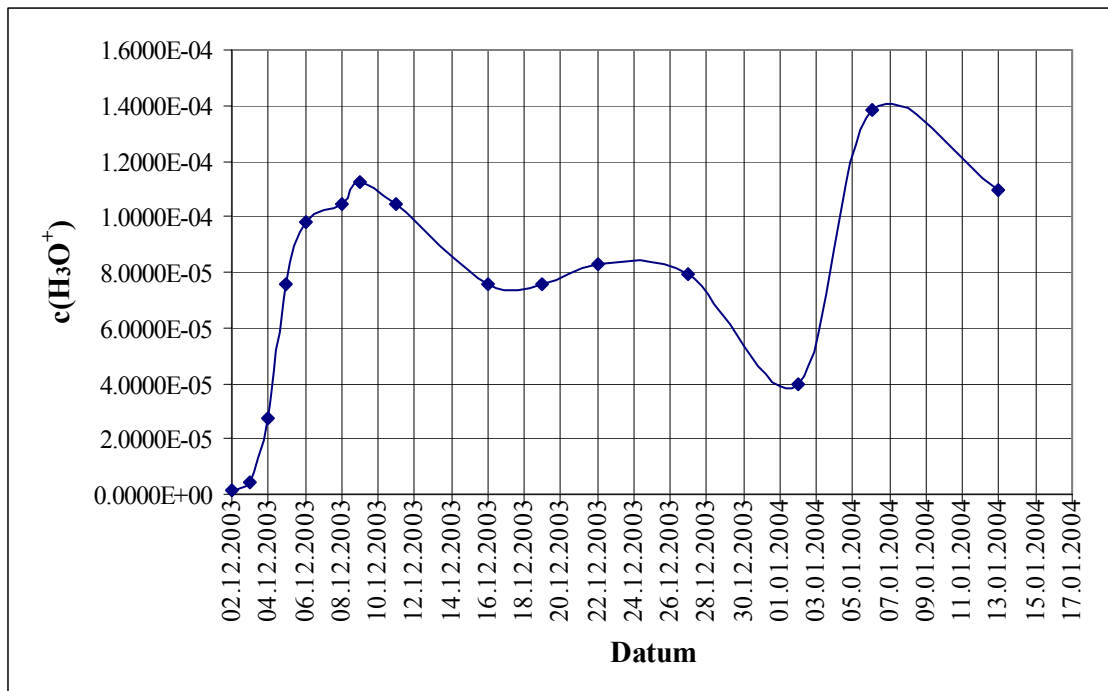
Wie man der Tabelle entnehmen kann, sinkt der  $pH$ -Wert in den ersten sieben Wochen von 5.8 auf 3.95. Dies wird durch die Milchsäurebakterien und deren Milchsäureproduktion verursacht. Während den darauf folgenden sechs Wochen steigt der  $pH$ -Wert (bis auf zwei Messungen) wieder an. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass die Milchsäurebakterien ab einer gewissen  $H_3O^+$  Konzentration nicht mehr überleben können, sie verenden an ihrem eigenen Produkt. Das folgende Sinken des  $pH$ -Wertes wird auf die Erholung des Milchsäurebakterienbestands zurückgeführt.

Der Schimmelbefall auf den obersten Blättern im Topf lässt sich dadurch erklären, dass wir keinen „richtigen“ Gärtopf mit einer Wasserrinne zur Verfügung hatten. Diese verhindert das Eindringen von Luft in den Steintopf und somit auch den Pilzbefall und die Schimmelbildung.



Verschimmelter Holzdeckel

Die Grafik zeigt den exponentiellen Anstieg und Fall der  $H_3O^+$  Konzentration



Diese ist dem exponentiellen Wachstum der Milchsäurebakterien sehr ähnlich. Nach einigen Wochen bilden sich neue Bakterien; der  $pH$  sinkt.

19. Januar 2004

Schliesslich ist der Sauerkraut bereit zum Verzehr.



Das Sauerkraut am Kochen

## 4 Nachweis der Säurebildner und Bestimmung der Zellzahl

### 4.1 Versuchsdurchführung

Es wird 1.1 mL Saftlösung mit einer sterilen Pipette entnommen. Davon werden 0.1 mL auf die Platte mit Chinablactoseagar gegeben und mit einer Öse gut verteilt. Die restlichen 1 mL werden in das Röhrchen mit 9 mL physiologischer NaCl-Lösung gegeben → Verdünnung 1. Es werden 10 weitere Verdünnungen hergestellt.

Verdünnungsreihe:

Verdünnung #	Verdünnung
1	$1 \cdot 10^{-1}$
2	$1 \cdot 10^{-2}$
3	$1 \cdot 10^{-3}$
4	$1 \cdot 10^{-4}$
5	$1 \cdot 10^{-5}$
6	$1 \cdot 10^{-6}$
7	$1 \cdot 10^{-7}$
8	$1 \cdot 10^{-8}$
9	$1 \cdot 10^{-9}$
10	$1 \cdot 10^{-10}$

Die Platten werden bei 27°C für 24-48 h im Brutschrank bebrütet. Danach werden sie bis zur Auszählung in den Kühlschrank gestellt, damit keine weiteren Bakterien mehr wachsen. Durch den Abbau von diversen Stoffen wird eine pH-Veränderung hervorgerufen, was eine Farbveränderung zur Folge hat.

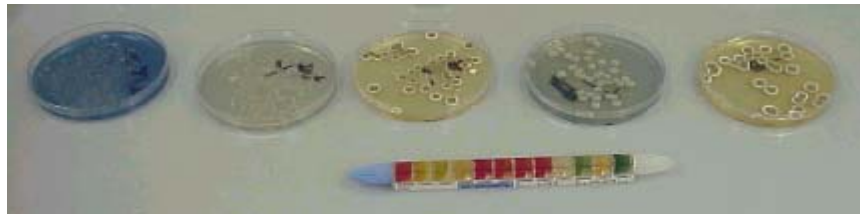
## 4.2 Resultate

Nach dem Brüten konnte keine Auswertung vorgenommen werden. Es sind Mischkulturen gewachsen, welche nicht ausgezählt werden können. Somit können die gewünschten Bakterien auch nicht gewertet werden.

Alle Verdünnungen sind von Schimmel heimgesucht worden und sind somit kontaminiert. Jedoch haben sich manche Gels blau (Verdünnung 4), andere gelb (Verdünnungen 1, 2, 3, 6, 8, 9, 10) verfärbt und wiederum andere haben ihre Eigenfarbe (hellblau) behalten (Verdünnung 5, 7). Dieses Verhalten kann nicht erklärt werden.

In der Verdünnung 10 ist praktisch nur Schimmel zu sehen und die Probe gibt auch diesen Geruch von sich.

Für eine Identifikation der verschiedenen Bakterien müsste man die einzelnen Bakterien isolieren und Kolonien züchten. Anschliessen würde man diese Kolonien bio-chemischen Tests unterziehen. Eine Möglichkeit ist die Kolonien auf ein Tube mit verschiedenen Nährmedien, welche mit Farbindikatoren versehen sind, aufzuziehen. Dort vermehren sich die Bakterien und durch die Farbveränderung der verschiedenen Nährmedien, kann das Bakterium identifiziert werden.



Verschiedene Verdünnungen mit dem Test-Tube

## 5 Schlussfolgerung

Es konnten zwar keine Bakterien ausgezählt werden, dafür konnte das Sauerkraut gegessen werden. Im Vorfeld waren der Schimmel und der Gestank noch ziemlich unappetitlich, richtig zubereitet schmeckte der Sauerkraut jedoch gut. Es schmeckte extrem säuerlich und etwas bitter. Doch ansonsten schienen es alle, obwohl es mehrmals geschimmelt war, gut vertragen zu haben.



Die Klasse beim Verzehr

## 6 Glossar

- <sup>1</sup> Kokken *kleine ovale bis kugelige Bakterien*
- <sup>2</sup> Fermentativ *durch Enzyme bewirkt*
- <sup>3</sup> Häminhaltig *enthält das Salz von Blutstein*
- <sup>4</sup> Synergistisch *Zusammenwirken von Genen in die gleiche Richtung*