

## Vliv bakteriálních proteáz na aktivitu jogurtové kultury

JINDRA LUKÁŠOVÁ

**Souhrn.** V práci byl sledován účinek bakteriálních proteáz na aktivitu jogurtové kultury. Mléko kontaminované proteolytickými mikroorganismy bylo skladováno 24—72 hodin při 4 °C. Po přidání jogurtové kultury byly vzorky inkubovány při 43 °C 3—6 hodin. Výsledky práce prokázaly, že v přítomnosti bakteriálních proteáz se zvyšuje aktivita jogurtové kultury. Pokusné vzorky vykazovaly vyšší kyselost než vzorky kontrolní. Největší rozdíl (10 ml NaOH  $c = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ ) byl zaznamenán po 3 hodinách inkubace při použití mléka skladovaného 48 h při 4 °C.

Proteolytické mikroorganismy mají schopnost růst v chlazeném syrovém mléce a produkovat proteázy, které štěpí mléčnou bílkovinu. Jejich rozkladná činnost ovlivňuje smyslové vlastnosti mléka a mléčných výrobků [1, 2], způsobuje snížení výtěžnosti sýrů a zvýšení ztrát dusíku do syrovátky [3, 4].

Bakteriální proteázy také zasahují do metabolických procesů mléčných kultur. V práci byl sledován jejich vliv na aktivitu jogurtové kultury.

### Materiál a metodika

K pokusům bylo použito 10% sušené odtučněné mléko. Před započítím pokusů byl u mléka zjištěn počet proteolytických mikroorganismů a stanovena kyselost titračně a potenciometricky. Poté byly vzorky mléka naočkovány směsí proteolytických mikroorganismů (hustota  $5 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$ ). Současně byly připraveny kontrolní vzorky bez proteolytických mikroorganismů.

I. část — vzorky společně s kontrolami byly skladovány 24 a 48 h při 4 °C. Po této době byl stanoven znovu počet proteolytických mikroorganismů.

---

MVDr. Jindra Lukášová, Katedra hygieny a technologie potravin, Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno.

Vzorky byly rozděleny po 50 ml, zahřáty na 85 °C 10 min a po zchlazení na 43 °C byly přidány 2 ml jogurtové kultury (ředěné 1 : 1). Byla použita kultura J 22 a JT 10. Mléko bylo inkubováno v termostatu při teplotě 43 °C 3 h. Každou hodinu inkubace bylo měřeno pH potenciometricky a titrační kyselost vyjádřená v ml NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ ).

II. část — mléko bylo skladováno 24, 48 a 72 h při 4 °C. Další postup byl stejný jako v I. části. Doba inkubace byla prodloužena na 6 h. Rovněž každou hodinu byla měřena kyselost titračně a potenciometricky.

## Výsledky

Počty proteolytických mikroorganismů jsou uvedeny v tabulce 1. Vliv proteolytické mikroflory na jogurtovou kulturu se projevil vyšší kyselostí pokusných vzorků. Rozdíl v kyselosti mezi pokusnými a kontrolními vzorky se začal projevovat po 2 h a největší difference jak v titrační kyselosti tak i v pH bylo dosaženo po 3 h inkubace (obr. 1A, B). Pokusné vzorky i při prodloužení inkubační doby na 6 h vykazovaly vyšší kyselost ve srovnání s kontrolami, avšak rozdíly již nebyly tak výrazné (obr. 2—4A, B, C).

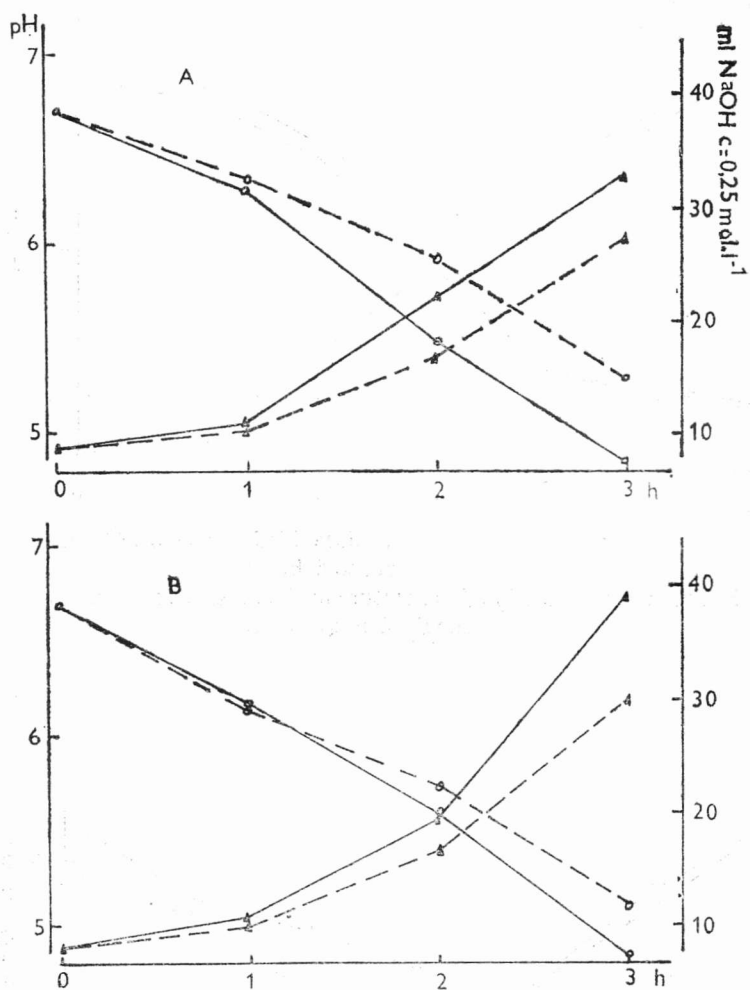
Největší rozdíly v kyselosti, s přihlédnutím k délce skladování mléka, byly zaznamenány u mléka skladovaného 48 h při 4 °C (obr. 5).

Tabulka 1. Počty proteolytických mikroorganismů v mléce v průběhu pokusu [ $\text{ml}^{-1}$ ]  
Table 1. Number of proteolytic microorganisms in milk during the experiment [ $\text{ml}^{-1}$ ]

Pokusná část <sup>1</sup>	0	Doba skladování mléka při 4 °C <sup>2</sup> [h]					
		24		48		72	
		K	P	K	P	K	P
I	3,8.10 <sup>2</sup>	1,4.10 <sup>4</sup>	7,8.10 <sup>8</sup>	8,1.10 <sup>4</sup>	2,1.10 <sup>9</sup>	—	—
II	1,2.10 <sup>2</sup>	1.10 <sup>3</sup>	4,9.10 <sup>9</sup>	1,8.10 <sup>3</sup>	5,3.10 <sup>9</sup>	7,2.10 <sup>3</sup>	1,1.10 <sup>10</sup>

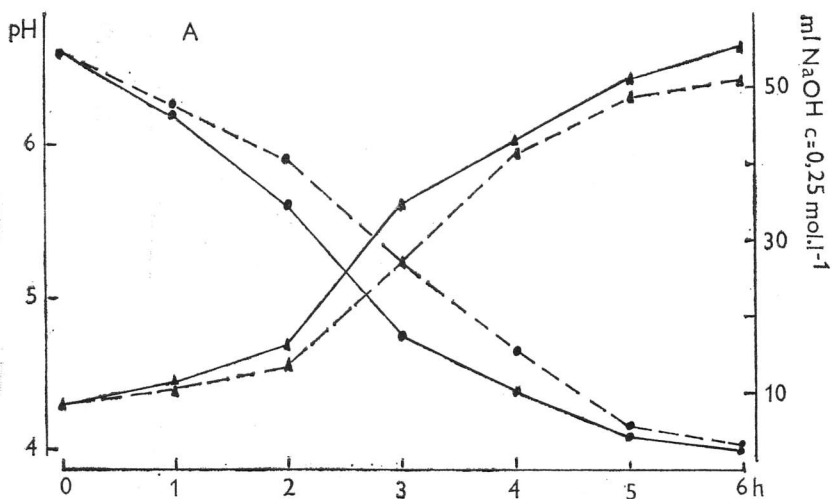
K — kontrolní vzorky; control samples. P — pokusné vzorky; experimental samples.

<sup>1</sup>Experimental part; <sup>2</sup>Storage time of the milk at 4 °C h.



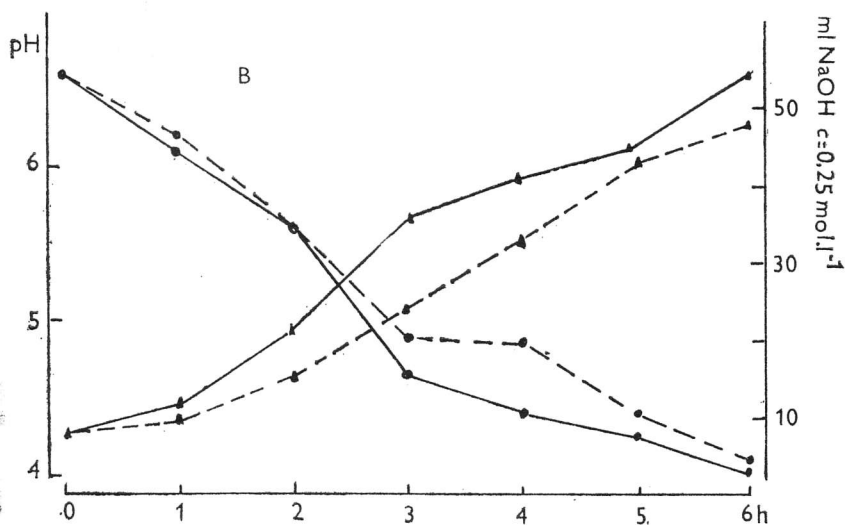
Obr. 1. Růst aktivity jogurtové kultury v mléce skladovaném při 4°C, A — 24 h.  
B — 48 h. Inkubace 3 h.

Fig. 1. The activity growth of yoghurt culture in the milk stored at 4°C, A — 24 h,  
B — 48 h. Incubation for 3 h.



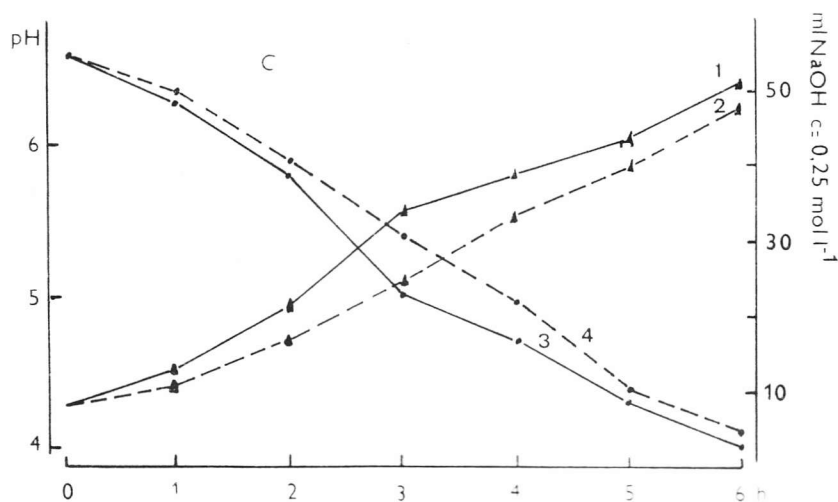
Obr. 2. Růst aktivity jogurtové kultury v mléce skladovaném při 4°C, A — 24 h.  
Inkubace 6 h.

Fig. 2. The activity growth of yoghurt culture in the milk stored at 4°C, A — 24 h.  
Incubation for 6 h.



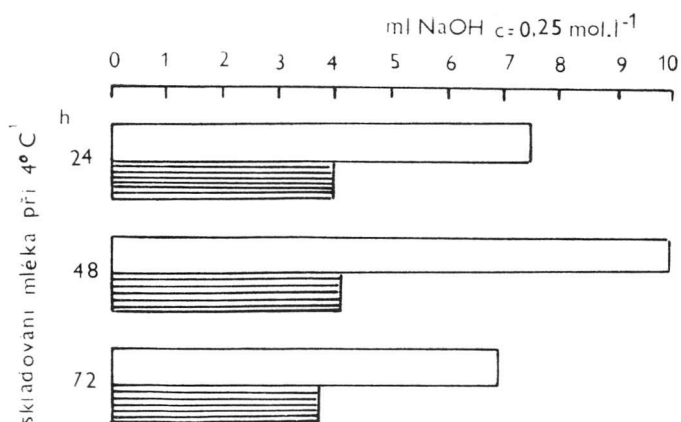
Obr. 3. Růst aktivity jogurtové kultury v mléce skladovaném při 4°C, B — 48 h.  
Inkubace 6 h.

Fig. 3. The activity growth of yoghurt culture in the milk stored at 4°C, B — 48 h.  
Incubation for 6 h.



Obr. 4. Růst aktivity jogurtové kultury v mléce skladovaném při 4°C, C — 72 h. Inkubace 6 h. ml NaOH  $c = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ : 1 — pokusné vzorky, 2 — kontrolní vzorky; pH: 3 — pokusné vzorky, 4 — kontrolní vzorky.

Fig. 4. The activity growth of yoghurt culture in the milk stored at 4 °C, C — 72 h. Incubation for 6 h. ml NaOH  $c = 0.25 \text{ mol l}^{-1}$ : 1 — experimental samples, 2 — control samples; pH: 3 — experimental samples, 4 — control samples.



Obr. 5. Rozdíl v kyselosti mezi pokusnými a kontrolními vzorky mléka za daných podmínek skladování. 1 — inkubace 3 h, 2 — inkubace 6 h.

Fig. 5. The difference in acidity observed in the experimental and control milk samples under the given storage conditions. 1 — incubation for 3 h, 2 — incubation for 6 h. Milk storage at 4 °C.

## Diskuse

Činnost bakteriálních proteáz se projevuje rozkladem bílkovin mléka, uvolňováním peptidů, z nichž některé mohou smyslově ovlivnit mléko a mléčné výrobky. Adams a kol. [5] na základě svých pokusů soudí, že štěpení mléčné bílkoviny bakteriálními proteázami negativně ovlivňuje aktivitu mlékařských kultur. Na druhé straně však existují práce, které prokazují stimulační vliv nespecifických bakteriálních proteáz na tyto kultury, což se projevuje zvýšenou tvorbou kyseliny mléčné [6]. Magdoub a kol. [7] prokázali, že přidáním filtrátů *B. cereus*, *B. pumilis* a *B. circulans* do mléka se zrychlí proces sýření a smyslové vlastnosti sýrů, vyrobených z tohoto mléka, jsou stejné jako u kontrol. Podobných výsledků dosáhl i Law [8], který do mléka pro výrobu sýrů přidával proteázy *B. subtilis*, *B. licheniformis* a *Asp. oryzae*.

Naše výsledky prokázaly, že činnost proteáz kontaminujících mikroorganismů v mléce má příznivý vliv na aktivitu jogurtových kultur. Ten je výrazný zvláště v době největšího rozvoje kultury, tj. po 3 h inkubace.

Bakteriální nespecifické proteázy vytvářejí vhodné prostředí pro činnost jogurtové kultury tím, že štěpí kazein na peptidy a aminokyseliny, které jsou zdrojem dusíku nezbytného pro růst mléčných bakterií. Tyto nízkomolekulární látky umožňují dosáhnout vysoké buněčné hustoty těchto kultur a tím i rychlé fermentace mléka. V mléce s nízkým obsahem těchto látek je omezen růst mléčných bakterií [9]. Tyto závěry potvrzují v naší práci rozdíly v kyselosti mezi pokusnými a kontrolními vzorky zvláště po 3 h inkubace.

Za 6 h inkubace vytvořily mléčné bakterie svými proteázami vhodné prostředí pro svůj metabolismus i v kontrolních vzorech, takže rozdíly v titrací kyselosti byly menší.

Přesto, že proteázy kontaminujících mikroorganismů stimulují aktivitu jogurtových kultur, je jejich přítomnost v syrovém mléce nežádoucí z hlediska hygienického i zdravotního. Tyto enzymy jsou termorezistentní a přecházejí do mléčných výrobků, kde mohou ovlivnit jejich kvalitu [10].

## Literatura

1. DRIESSEN, F. M. — von HOOYDONK-STREUPER, A. — KINGMA, E.: Neth. Milk Dairy J., 35, 1981, č. 2, s. 121.
2. COUSIN, M. A. — MARTH, E. H.: Cult. Dairy Prod. J., 1977, č. 5, s. 15.
3. YATES, A. R. — ELLIOTT, J. A.: J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment., 10, 1977, č. 4, s. 269.
4. MOHAMED, F. O. — BASSETIE, R.: J. Dairy Sci., 62, 1979, č. 2, s. 222.

5. ADAMS, D. M. — BARACH, J. T. — SPECK, M. L.: *J. Dairy Sci.*, 59, 1976, ч. 2, s. 823.
6. CLAUDON, T. J. — KOBURGER, J. A.: *Appl. Microbiol.*, 9, 1961, s. 117.
7. MAGDOUB, M. N. I. — SBERATA, A. E. — PAYED, E. O. — HOFI, A. A.: *Dairy Ind. int.*, 1979, ч. 12, s. 5.
8. LAW, B. A. — WIGMORE, A. S.: *J. Soc. Dairy Technol.*, 35, 1982, ч. 2, s. 75.
9. THOMAS, T. D. — MILLS, O. E.: *Neth. Milk Dairy J.*, 35, 1981, s. 255.
10. COGAN, T. M.: *Bull. Fed. int. laiterie, Doc.*, 118, 1980, s. 26.

## Влияние бактериальных протеаз на активность йогуртной культуры

### Резюме

В работе рассматривается влияние бактериальных протеаз на активность йогуртной культуры. Молоко, зараженное протеолитическими микроорганизмами, хранили в продолжении 24—72 часов при температуре 4 °С. Результаты работы показали, что при наличии бактериальных протеаз повышается активность йогуртной культуры. Опытные образцы отмечали более высокую кислотность, чем контрольные. Самую большую разницу (10 мл NaOH  $c = 0,25$  мол.л<sup>-1</sup>) отметили после 3 часов инкубации с применением молока, хранимого в продолжении 48 часов при температуре 4 °С.

## The effect of bacterial proteases on the activity of yoghurt culture

### Summary

The influence of bacterial proteases on the activity of yoghurt culture has been investigated in this paper. Milk contaminated by proteolytic microorganisms was stored for 24—72 h at 4 °C. After adding yoghurt culture the samples were incubated for 3—6 h at 43 °C. The obtained results have shown that the activity of yoghurt culture increases with the presence of bacterial proteases. The tested samples indicated higher acidity than the control ones. The highest difference (10 ml of NaOH  $c = 0.25$  mol l<sup>-1</sup>) was recorded after 3-hour incubation using the milk stored for 48 h at 4 °C.