UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE KATALASE-AKTIVITÄT DER BEI DAUERWÜRSTEN ALS STARTERKULTUR VERWENDETEN HEFESTÄMME K_1 UND K_{12}

M. Stoitschev, G. Djejeva, M. Radeva, M. Tschernev
Institut für Fleischwirtschaft - Sofia

Zusammenfassung

Es wurde die Katalase-Aktivität der als Starterkultur verwendeten Hefestämme K_1 und K_{12} untersucht, die bei folgenden pH-Werten kultiviert wurden: 2,0; 4,0; 4,4; 5,0; 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,6; 7,0; 8,0; 10,0; 12,0 und 14,0.

Dabei wurde das pH-Optimum des Enzyms und seine Aktivität in Abhängigkeit von der Anzahl der Mikroorganismen in der Kulturflüssigkeit und der Biomasse in Suspensionen von ruhenden Zellen festgestellt. Es wurde der Einfluss des pH bei einer Inkubation der Suspensionen von Zellen auf die Geschwindigkeit der enzymatischen Reaktion nachgeprüft.

Die erhaltenen Ergebnisse sind von einer wichtigen theoretischen und praktischen Bedeutung bei der Verwendung der untersuchten Hefestämme als Starterkultur bei der Reifung der Dauerwürste.

ETUDE SUR L'ACTIVITE CATALASIQUE DES LEVURES - SOUCHES K_1 ET K_{12}, UTILISEES COMME CULTURES - STARTERS DANS LES SAUCISSONS SECS

M. Stoytchev, G. Djejeva, M. Radeva, M. Tchernev
Institut de recherches sur la viande - Sofia

Résumé

Des études ont été effectuées sur l'activité catalasique des cultures - starters - levures, souches K_1 et K_{12}, cultivées à différents pH: 2,0; 4,0; 4,4; 5,0; 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,6; 7,0; 8,0; 10,0; 12,0 et 14,0.

On a établi le pH optimal de l'enzyme et son activité en fonction des germes des microorganismes dans le liquide en suspension de la culture et la biomasse des cellules en repos. On a vérifié l'influence du pH sur la vitesse de la réaction enzymatique lors de l'incubation des suspensions cellulosiques.

Les résultats obtenus sont d'une grande importance théorétique et pratique pour utiliser les souches étudiées comme cultures - starters pendant la maturation des saucissons secs.

INVESTIGATIONS ON CATALASE ACTIVITY OF YEASTS STRAINS K_1 AND K_{12} AS STARTER CULTURES IN RAW DRIED SAUSAGES

M.Stoychev, G.Djejeva, M.Radeva, M.Chernev
Meat Industry Institute - Sofia

Summary

The catalase activity of starter yeast cultures of strains K_1 and K_{12} was investigated in cultures of pH 2,0; 4,0; 4,4; 5,0; 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,6; 7,0; 8,0; 10,0; 12,0 and 14,0.

Optimal pH value was established for the enzyme activity in connection with the count of the microorganisms in the culture and the biomass in suspension cells, on the rate of the enzyme reaction.

The obtained results have important theoretical and practical importance for the investigated yeast strains as possible starter cultures for raw dried sausages.

ИЗУЧЕНИЕ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕЙ-ШТАММОВ K_1 И K_{12}, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В КАЧЕСТВЕ СТАРТЕРНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ СЫРОВЯЛЕНЫХ КОЛБАС

М.Стойчев, Г.Джежева, М.Радева, М.Чернев

Институт мясной промышленности - София

Аннотация

Изучена каталазная активность дрожжей-штаммов K_1 и K_{12}, культивированных в жидкой пищевой среде при pH: 2,0; 4,0; 4,4; 5,0; 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,6; 7,0; 8,0; 10,0; 12,0 и 14,0.

Установлен pH-оптимум энзима и его активность в зависимости от числа микроорганизмов в культуральной жидкости и биомассы в суспенсии покоящихся клеток. Проверено влияние pH при инкубации суспенсии клеток на скорость энзимной реакции.

Полученные результаты имеют важное теоретическое и практическое значение при использовании исследованных штаммов дрожжей в качестве стартерных культур при производстве сыровяленых колбас.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE KATALASE-AKTIVITÄT DER BEI DAUERWÜRSTEN ALS STARTERKULTUR VERWENDETEN HEFESTÄMME K_1 UND K_{12}

M. Stoitschev, G. Djejeva, M. Radeva, M. Tschernev
Institut für Fleischwirtschaft - Sofia

Die Katalase ist ein Enzym aus der grossen Gruppe der Oxydoreduktasen, das das Wasserstoffperoxyd auf dem Wege des Molekularmechanismus ohne Bildung von freien Peroxydradikalen im Reaktionsmedium zerlegt. Die Katalase kommt in fast allen aerob atmenden Zellen und bei einigen fakultativen Anaerobiern vor. Aerobier, die keine Katalase enthalten, wie z.B. Acetobacter Suboxydans, kommen sehr selten vor. Bei diesem o.g. Mikroorganismus erfolgt die Zerlegung des Peroxydes auf dem Wege der Peroxydase. Die Aktivität dieses Enzymes aber ist erheblich unterschiedlich nicht nur für die verschiedenen Arten, sondern auch für ein und dieselbe Art in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium, vom physiologischen Zustand, von der Reaktion des Mediums, sowie auch von vielen anderen unbekannten Faktoren. Die Katalase-Aktivität der Mikroflora der rohgetrockneten Fleischprodukte spielt eine ausserordentlich grosse Rolle im Reifungsprozess. Die Auswirkung des mikrobiell gebildeten H_2O_2 auf die Farbe der Rohwürste ist von der in der Fleischmasse vorhandenen Katalase abhängig /REUTER 1972/, die aus der Muskulatur stammen kann oder aber auch von anderen Mikroorganismen gebildet werden kann. Nach den Untersuchungen von ROZIER /1971/ verliert die gewebseigene Katalase bei einer Erhöhung des Säuregrades des Mediums zunehmend an Wirkung, deshalb wäre also die Anwesenheit einer säuretoleranten Mikroflora mit Fähigkeit zur Katalasebildung wünschenswert /REUTER 1972/. Diese Fähigkeit ist bisher nur bei L. plantarum nachgewiesen worden /TJABERG und HILDRUM 1968/.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Katalase-Aktivität der Hefestämme K_1 und K_{12} festzustellen, die bei uns als Starterkulturen verwendet werden und die bei verschiedenen pH-Werten kultiviert wurden.

Material und Methodik

1 ml von einer 24-stündigen Suspension von den untersuchten zwei Hefestämmen K_1 und K_{12} mit einer Konzentration 10^8 wurde in 100 ml Malzbouillon mit 6° Bl und bei folgenden pH-Werten zugesetzt: 2,0; 4,0; 4,4; 5,0; 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,6; 7,0; 8,0; 10,0; 12,0 und 14,0. Die Kultivierung erfolgt im Brutschrank bei einer Temperatur von 26°C. Das Untersuchungsmaterial wurde während der stationären Entwicklungsphase entnommen /eine 24-stündige Hefekultur/. Die Bestimmung der Aktivität des Enzymes erfolgte nach der modifizierten Methode von KREINDY /1962/ in einer Kulturflüssigkeit und in Suspensionen von ruhenden intakten Zellen, die nach Zentrifugierung des Nährmediums und zweifacher Spülung mit einer physiologischen Lösung erhalten wurden. Die Auswirkung des pH bei einer Bebrütung der Suspensionen von Zellen auf die Geschwindigkeit der Enzymreaktion wurde bei verschiedenen Puffersystemen nachgeprüft /Azetat-, Phosphat- und Boratsystem/: 4,0; 4,2; 4,4; 4,6; 4,8; 5,0; 5,2; 5,4; 5,6; 5,8; 6,0; 6,2; 6,4; 6,6; 6,8; 7,0; 7,2; 7,4; 7,6; 7,8 und 8,0. Die Anzahl der Mikroorganismen in der Kulturflüssigkeit wurde nach der Methode von DRIGALSKI durch Beimpfung eines festen Nährmediums ermittelt.

Die Biomasse der Mikroorganismen wurde nach dem Kohlenstoffgehalt in den Zellen bestimmt /STOITSCHEV und DJEJEVA 1971/.

Die Enzymaktivität wird in Einheiten ausgedrückt und wird nach der Formel

$$\text{Katalase-Fähigkeit} = \frac{K}{a}$$

ermittelt, wobei

a=quantitatives Merkmal des untersuchten Objektes /in diesem Falle ml Kulturflüssigkeit oder mg Zellenkohlenstoff/;

K=die Konstante der Molekularreaktion der Zerlegung des Wasserstoffperoxydes, die nach der Formel

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{X_o}{X}$$

berechnet wird, wobei

t=Zeitdauer der Reaktion in min;

X_o= ml Kaliumpermanganat bei Beginn der Bestimmung /t_o= 0/;

X = nach t min

Ergebnisse und Diskussion

Die Auswirkung der pH-Werte des Nährmediums auf die Enzymaktivität der untersuchten Hefestämme wurde bei einem pH-Bereich von 2,0 bis 14,0 untersucht. Aus den in Abb. 1 und 2 dargestellten Ergebnissen, die die Abhängigkeit der Katalase-Aktivität in der Kulturflüssigkeit und in den Zellensuspensionen vom pH zeigen, wird es ersichtlich, dass die beiden Stämme ein pH-Optimum aufweisen; ein Aktivitätsmaximum des Enzymes wurde für den Stamm K_1 bei pH 6,0 beobachtet und für den Stamm K_{12} - bei pH 7,0. Es wurde bei beiden Stämmen eine verhältnismässig breite optimale Zone der Enzymaktivität festgestellt /von 6,0 bis 4,4 für den Stamm K_1 und von 7,0 bis 5,0 für den Stamm K_{12}/. Ausserdem wurde eine ziemlich hohe Aktivität des Enzymes im sauren Bereich beobachtet. Dies ist von einer wichtigen praktischen Bedeutung bei der Verwendung dieser Mikroorganismenstämme als Starterkulturen bei der Herstellung von Rohwürsten. Diese verhältnismässig hohe Katalase-Aktivität beider Stämme bei pH 4,0-2,0 steht in Korrelation mit der hohen Anzahl der Mikroorganismen, die sich in Nährmedien mit derselben Wasserstoff-Ionen-Konzentration entwickeln /Abb. 3, 4/.

Bei der Vergleichung der Angaben in den Abbildungen 1, 2, 3 und 4 werden gleiche Tendenzen im Verlauf der Kurven der Gesamtanzahl der Hefen und ihrer Katalase-Aktivität in der Kulturflüssigkeit und in den Zellensuspensionen bezüglich des pH beobachtet. Die Verminderung der Anzahl der Zellen beim Stamm K_{12} im pH-Bereich von 8,0 bis 14,0 erfolgt allmählich, welche Erscheinung mit der allmählichen Abnahme seiner Katalase-Aktivität bei denselben pH-Werten korreliert, während beim Stamm K_1 entsprechend der starken Abnahme seiner Katalase-Aktivität diese Verminderung der Anzahl schneller erfolgt und schon bei pH 7,0 beginnt.

Nach 24-stündiger Züchtung der Hefestämme K_1 und K_{12} bei verschiedenen pH-Anfangswerten des Nährmediums /von 4,0 bis 8,0/ wurde eine Senkung des pH festgestellt, welche unabhängig von den Ausgangswerten in nahen Grenzen variierte /Tabelle 1/.

Tabelle 1 Veränderungen des pH der Nährmedien nach 24-stündiger Züchtung der Hefen

Anfangswert des pH	pH nach 24 Stunden	
	Stamm K_1	Stamm K_{12}
4,0	3,50	3,60
4,4	3,60	3,55
5,0	3,60	3,60
5,2	3,65	3,65
5,4	3,70	3,65
5,6	3,80	3,70
5,8	3,75	3,75
6,0	3,85	3,85
7,0	4,00	3,95
8,0	4,25	4,30

Es wurde eine Untersuchung über die Abhängigkeit der Enzymaktivität der Zellensuspensionen vom pH im Milieu der Inkubation bei verschiedenen Puffersystemen /Azetat-, Phosphat- und Boratsystem/ durchgeführt. Die in Abb. 5 angegebenen Ergebnisse zeigen, dass die Konzentration der Wasserstoffionen im Milieu der Inkubation auch einen Einfluss auf die Geschwindigkeit der Enzymreaktion ausübt. Die die Abhängigkeit zwischen der Geschwindigkeit der Enzymreaktion und dem pH des Nährmediums darstellende Kurve gibt die maximale Geschwindigkeit der Enzymreaktion bei pH 7,2 /Stamm K_{12}/ an. Eine verhältnismässig hohe Geschwindigkeit der Enzymreaktion wird auch bei pH 4,0 beobachtet.

Die festgestellte hohe Katalase-Aktivität der untersuchten Stämme K_1 und K_{12} bei den für die Praktik wichtigen pH-Werten von 6,0

Abb. 2 Einfluss des pH auf die Katalase-Aktivität in den Zellensuspensionen von den Hefestämmen K_1 und K_{12}

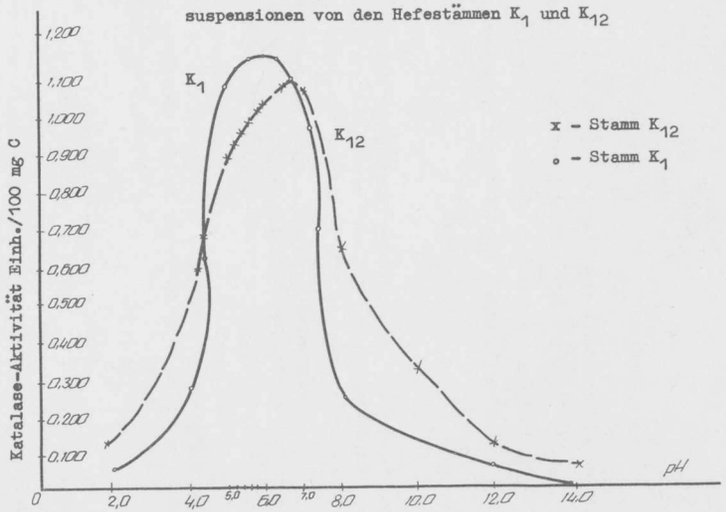


Abb. 1 Einfluss des pH auf die Katalase-Aktivität in der Kulturflüssigkeit von den Hefestämmen K_1 und K_{12}

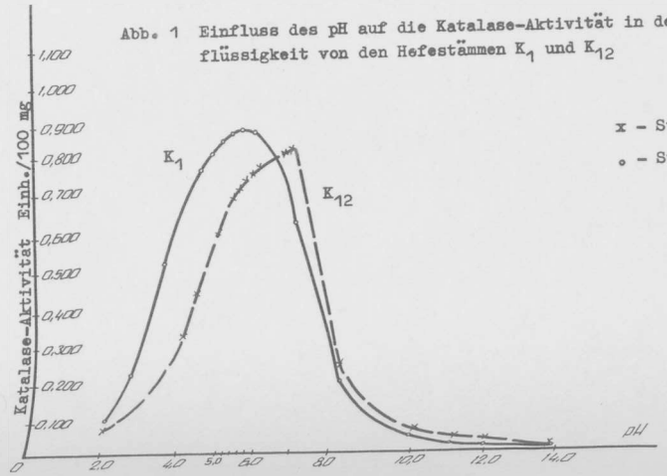


Abb. 5 Einfluss des pH auf die Geschwindigkeit der Enzymreaktion

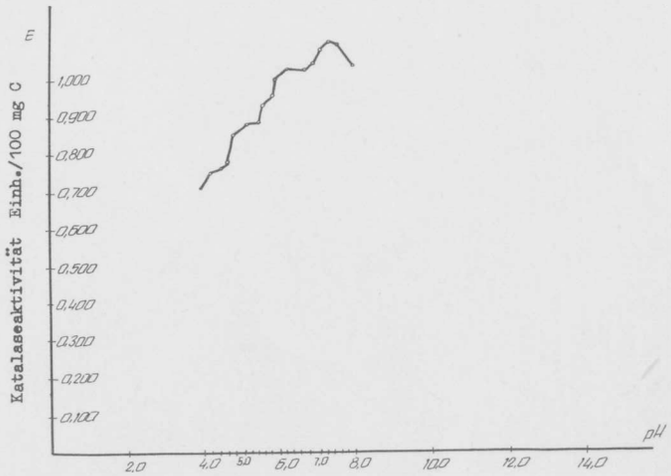


Abb. 3. Gesamtzahl des Hefestammes K_1 bei verschiedenen pH-Werten der Kultivierung

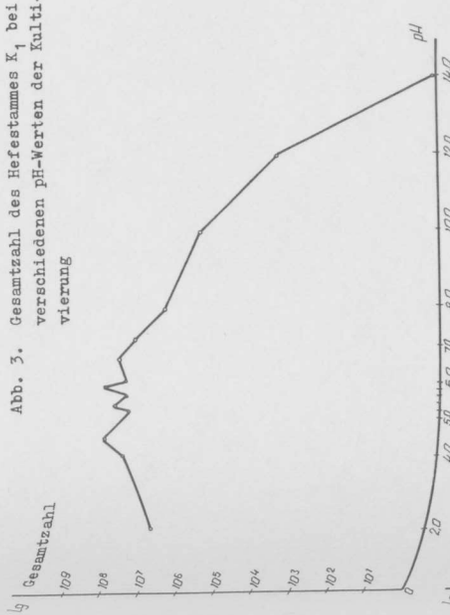
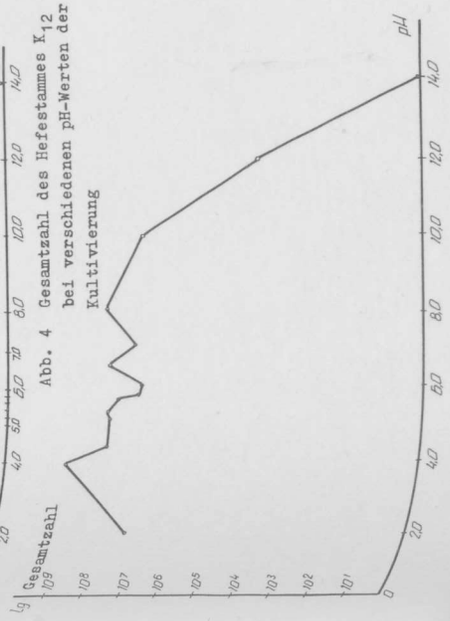


Abb. 4 Gesamtzahl des Hefestammes K_{12} bei verschiedenen pH-Werten der Kultivierung



bis 4,8 und die hohe Anzahl der Hefen bei diesem pH-Bereich geben uns den Anlass anzunehmen, dass diese Hefekulturen eine positive Rolle im Prozess der Bildung und Stabilisierung der Farbe bei Erhaltung der anderen organoleptischen Eigenschaften bei der Reifung der Rohwürste spielen können.

Schlussfolgerungen

1. Es wurde eine hohe Katalase-Aktivität bei den bei dem pH-Optimum 6,0 für den Stamm K_1 bzw. 7,0 für den Stamm K_{12} isolierten Hefen festgestellt.
2. Es wurde ein hohes Niveau der Katalase-Aktivität und der Anzahl der untersuchten Hefen bei den für die Praktik wichtigen pH-Werten von 6,0 bis 4,8 nachgewiesen.
3. Die erhaltenen Ergebnisse sind von einer wichtigen theoretischen und praktischen Bedeutung bei der Verwendung dieser Hefestämme als Starterkulturen bei der Herstellung von Rohwürsten.

Literatur

1. Kreinev S.I. Biochimija, 27, 1962, 5, 780
2. Reuter G. Die Fleischwirtschaft, 52, 1972, 4, 465
3. Rozier J. Die Fleischwirtschaft, 51, 1971, 7, 1063
4. Stoitschev M., G. Djejeva. Inf. bületin NITPKI po mesoprom., 1971, 4, 29