

## Probiotinių mikroorganizmų įtaka pieno rūgšties izomerų kiekiui jogurte

G. Garmienė, M. Kulikauskienė, V. Saikauskienė

KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-51180 Kaunas; lmai@lmai.lt

Fermentiniu metodu tirtas pieno rūgšties izomerų kiekis jogurte. Nustatyta, kad jogurto gamyboje kartu vartojant tradicinių pieno rūgšties bakterijų *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* ir probiotinių kultūrų *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* mišinius bei didinant santykinį *S. thermophilus* kiekį bendroje tradicinių jogurto kultūrų masėje, galima produktui suteikti ne tik pageidaujamas kokybines savybes, bet ir sumažinti D(-)-pieno rūgšties izomero kiekį. Tarp naudotų probiotikų didžiausią poveikį D(-)-pieno rūgšties izomero kiekio sumažėjimui turėjo *Lb. casei* subsp. *casei*. Jogurte su šiuo probiotiku nustatytas du kartus mažesnis D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis nei produkte, kurį gaminant pienas buvo užraugiamas tik tradicinėmis jogurto kultūromis. Nustatytas mažiausias D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis sudarė 0,043 g/100g produkto.

**Raktažodžiai:** D(-)- ir L(+)-pieno rūgšties izomerai, jogurtas, probiotinės bakterijos, fermentinė analizė.

### Įvadas

Dėl mikroorganizmų veiklos vykstantis laktozės rūgimo procesas, kurio metu kaupiasi pieno rūgštis, etanolis, angliarūgštė, aromatinės ir kt. medžiagos, turi didelę įtaką pieno produktų kokybei. Susidariusi pieno rūgštis ne tik dalyvauja formuojantis produktų struktūrai, bet ir suteikia jiems malonų rūgštų skonį. Rauginių pieno produktų gamybos metu gali susidaryti du pieno rūgšties izomerai: L(+) ir D(-).

L(+)-pieno rūgštis – įprastas žmogaus ir gyvūnų organizme vykstančio medžiagų apykaitos proceso produktas. Su maisto produktais į žmogaus organizmą patenkanti L(+)-pieno rūgštis paprastai nepažeidžia metabolizmo procesų ir žarnyno mikrofloros gyvybinės veiklos. Ši pieno rūgšties forma svarbi oksidaciniams medžiagų apykaitos procesams, gliukozės, glikogeno, amino rūgščių sintezei. Pienarūgščio rūgimo metu susidariusi L(+)-pieno rūgštis padidina ir mitybinę produktų vertę [1].

D(-)-pieno rūgštis susidaro tik mikroorganizmų medžiagų apykaitos metu ir todėl fiziologiškai svetima žmogaus organizmui [1–3]. Nors kai kurios žarnyno bakterijos gali sudaryti D(-)-pieno rūgšties izomerą, nedideli endogeninės D(-)-pieno rūgšties kiekiai neturi reikšmingesnio poveikio medžiagų apykaitos procesams. Tačiau su maisto produktais patenkančios D(-)-pieno rūgšties rekomenduojamas maksimalus suvartojamas kiekis turi būti ne didesnis kaip 65 mg per parą vienam kūno masės kilogramui [3]. Todėl pieno produktų gamyboje tikslinga taikyti

tokias technologijas, kurios užtikrintų ne tik gerą produktų kokybę, bet ir leistų reguliuoti L(+)- ir D(-)-pieno rūgšties izomerų susidarymą.

Daugelio pieno produktų gamyboje vartojamų laktokokų, streptokokų ir bifidobakterijų veiklos rezultatas – L(+)-pieno rūgštis. Išskyrus *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, daugelis *Lactobacillus* padermių sintezuoja daugiausia D(-)-pieno rūgštį arba abiejų izomerų mišinį [4, 5]. Jogurto gamyboje vartojamos *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* padermės 100 % sintezuoja D(-)-, *S. thermophilus* – 100 % L(+)-pieno rūgšties izomeras [6]. Žinoma, kad rauginimo sąlygos (temperatūra, trukmė, terpės sudėtis) neturi įtakos susidariusios rūgšties konfigūracijai [5]. Tačiau pieno produktų gamyboje kartu vartojamų įvairių pieno rūgšties bakterijų mišinių įtaka pieno rūgšties izomerų kiekių susidarymui produktuose nėra pakankamai ištirta.

Darbo tikslas – ištirti kartu vartojamų tradicinių jogurto kultūrų ir probiotinių bakterijų įtaką pieno rūgšties izomerų kiekiui produkte.

### Medžiagos ir metodai

Jogurtas buvo gaminamas iš 2,0 % riebumo homogenizuoto pieno pagal tokią technologinę schemą: pienas → pasterizavimas (90–95 °C, 3–5 min) → atšaldymas iki užraugimo temperatūros (42 °C) → užraugimas (42 °C) → rauginimas iki

pH 4,5–4,6 (42 °C) → išmaišymas ir greitas atvėsinimas iki 20 °C → laikymas (4–6 °C).

Pienas buvo užraugiamas Chr. Hanseno firmos (Danija) jogurto kultūromis *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB-12, *Streptococcus thermophilus* TH-4 (bendras jų kiekis – 0,02 %, santykis tarp kultūrų 1:2 ir 1:4), probiotinėmis kultūromis *Bifidobacterium* Bb-12 ir Bb-46, *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 01 (santykis tarp jogurto kultūrų ir skirtingų probiotinių kultūrų 1:1).

L(+)- ir D(-)-pieno rūgšties izomerai nustatyti fermentiniu metodu, vartojant „Boehringer Mannheim/R-biopharm“ firmos reagentų rinkinį ir metodą.

### Rezultatai ir jų apibendrinimas

Ankstesnių mūsų tyrimų metu pieno rūgšties izomerų kiekis buvo nustatytas Kauno miesto prekybos tinkle išigytaime skirtingų rūšių jogurte, papildytame įvairiais skoniniais priedais, bifidobakterijomis, kalciu, vitaminu C [7]. Tarp tirtų devynių jogurto mėginių nustatytas didžiausias D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis – 0,306 g/100g produkto, kas sudarė 39,6 % nuo bendro pieno rūgšties kiekio [7].

Pastaruoju metu kartu su tradicinėmis simbiotinėmis *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ir *S. thermophilus* kultūromis jogurto gamyboje papildomai vartojami probiotiniai mikroorganizmai – *Bifidobacterium*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* subsp. *casei*, *Lb. rhamnosus* ir kiti. Parenkant mikroorganizmų rūšis ir jų padermes visada svarbu atsižvelgti į jų tarpusavio suderinamumą ir veiklos stimuliavimą, glikolizės proceso pobūdį, subalansuotą aromatinių medžiagų susidarymą, proteolitinį aktyvumą, įtaką būsimo produkto klampiui ir kt. Be šių veiksnių būtų pageidautina įvertinti taip pat ir dietinius reikalavimus, tarp jų ir mažą D(-)-pieno rūgšties izomero kiekį produkte.

Duomenys apie pieno rūgšties izomerų kiekį jogurte, pagamintame taikant skirtingą privalomųjų *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ir *S. thermophilus* kultūrų santykį (1:2 ir 1:4) ir papildomai pridodant skirtingus probiotikus, pateikti 1 lentelėje. Visų tirtų mėginių aktyvusis rūgštingumas svyravo nuo pH 4,53 iki 4,59.

Palyginimui 2 lentelėje pateiktas pieno rūgšties izomerų kiekis, nustatytas produkte, suraugintame atskirai vien tik su tomis pačiomis *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB-12 arba *S. thermophilus* TH-4 kultūromis. Pastarųjų produktų aktyvusis rūgštingumas atitinkamai pH 4,15 ir 4,51.

**1 lentelė.** Probiotinių mikroorganizmų įtaka pieno rūgšties izomerams jogurte

Tradicinių <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ir <i>S. thermophilus</i> santykis	Tradicinių ir probiotinių kultūrų santykis	Probiotikas	Pieno rūgšties izomerų kiekis				Pieno rūgšties izomerų santykis
			g/100 g produkto		procentais nuo bendro rūgšties kiekio		
			L(+)	D(-)	L(+)	D(-)	L(+)/D(-)
1:2	–	–	0,497±0,015	0,138±0,005	78,2	21,8	3,6
	1:1	<i>Bifidobact.</i> Bb-12	0,467±0,014	0,087±0,003	84,2	15,8	5,4
	1:1	<i>Bifidobact.</i> Bb-46	0,502±0,015	0,109±0,004	82,2	17,8	4,6
	1:1	<i>Lb. acidop.</i> La-5	0,516±0,015	0,114±0,004	81,9	18,1	4,5
	1:1	<i>Lb. casei</i> 01	0,589±0,018	0,072±0,003	89,1	10,9	8,1
1:4	–	–	0,515±0,015	0,081±0,003	86,4	13,6	6,3
	1:1	<i>Bifidobact.</i> Bb-12	0,533±0,016	0,072±0,003	88,1	11,9	7,4
	1:1	<i>Bifidobact.</i> Bb-46	0,522±0,016	0,078±0,003	87,0	13,0	6,7
	1:1	<i>Lb. acidop.</i> La-5	0,520±0,016	0,079±0,003	86,8	13,2	6,6
	1:1	<i>Lb. casei</i> 01	0,593±0,018	0,043±0,002	93,2	6,8	13,8

**2 lentelė.** Pieno rūgšties izomerų kiekis produkte, suraugintame vien tik atskirai su tradicinėmis jogurto kultūromis

Mikroorganizmai	Pieno rūgšties izomerų kiekis				Pieno rūgšties izomerų santykis
	g/100 g produkto		procentais nuo bendro rūgšties kiekio		
	L(+)	D(-)	L(+)	D(-)	L(+)/D(-)
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> LB-12	0,124±0,004	0,832±0,030	13,0	87,0	0,15
<i>S. thermophilus</i> TH-4	0,718±0,021	0,014±0,001	98,1	1,9	51,6

Įvertinant tai, kad *Bifidobacterium* ir *Lb. casei* subsp. *casei* 100 % sintezuoja L(+)-pieno rūgštį, *Lb. acidophilus* – 60 % L(+) ir 40 % D(-), galima buvo tikėtis, kad papildomai vartojant probiotinius mikroorganizmus bei didinant santykinį *S. thermophilus* kiekį bendroje tradicinių jogurto kultūrų masėje turėtų sumažėti D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis produkte. Tai patvirtino mūsų tyrimų rezultatai.

Iš 1 lentelėje pateiktų duomenų galima apskaičiuoti, kokią įtaką susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekio sumažėjimui turėjo abu mūsų tirti veiksniai: santykinio *S. thermophilus* kiekio padidinimas bendroje tradicinių jogurto kultūrų masėje ir papildomas skirtingų probiotinių kultūrų vartojimas.

Mūsų tyrimų metu vien tik dvigubai padidinus santykinį *S. thermophilus* kiekį bendroje tradicinių jogurto kultūrų masėje, susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis procentais nuo bendro rūgšties kiekio produkte sumažėjo 8,2 %.

Pieną užraugus jogurto kultūromis *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB-12, *S. thermophilus* TH-4 santykiu 1:2 ir probiotinėmis kultūromis *Bifidobacterium* Bb-12 bei Bb-46, *Lb. acidophilus* La-5, *Lb. casei* subsp. *casei* 01 santykiu tarp jogurto ir skirtingų probiotinių kultūrų 1:1, susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis procentais nuo bendro rūgšties kiekio produkte sumažėjo atitinkamai – 6,0; 4,0; 3,7; 10,9 %.

Pieną užraugus jogurto kultūromis *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB-12, *S. thermophilus* TH-4 santykiu tarp kultūrų 1:4 ir probiotinėmis kultūromis *Bifidobacterium* Bb-12 ir Bb-46, *Lb. acidophilus* La-5, *Lb. casei* subsp. *casei* 01 santykiu tarp jogurto kultūrų ir skirtingų probiotinių kultūrų 1:1, susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis procentais nuo bendro rūgšties kiekio produkte sumažėjo atitinkamai – 1,7; 0,6; 0,4; 6,8 %.

Mūsų atveju naudoti probiotikai *Bifidobacterium* Bb-12 ir Bb-46, *Lb. acidophilus* La-5, bei *Lb. casei* subsp. *casei* 01 susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekį produkte vidutiniškai sumažino atitinkamai 3,8; 2,3; 2,0 ir 8,5 %.

Kaip matyti iš pateiktų duomenų, tarp naudotų probiotikų didžiausią poveikį D(-)-pieno rūgšties izomero kiekio sumažėjimui turėjo *Lb. casei* subsp. *casei*. Jogurte su šiuo probiotiku nustatytas mažiausias D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis – 0,043 g/100 g produkto. Manome, kad tam turėjo įtakos taikyta 42 °C pieno rauginimo temperatūra, kuri palankesnė *Lb. casei* subsp. *casei* augimui nei bifidobakterijoms.

## Išvados

1. Nustatyta, kad vien tik dvigubai padidinus santykinį *S. thermophilus* kiekį bendroje tradicinių jogurto kultūrų masėje, susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis procentais nuo bendro rūgšties kiekio produkte sumažėjo 8,2 %.
2. Nustatyta, kad pieną užraugus jogurto kultūromis *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB-12, *S. thermophilus* TH-4 (bendras jų kiekis – 0,02 %, santykis tarp kultūrų 1:2) ir probiotinėmis kultūromis *Bifidobacterium* Bb-12 ir Bb-46, *Lb. acidophilus* La-5, *Lb. casei* subsp. *casei* 01 (santykis tarp jogurto kultūrų ir skirtingų probiotinių kultūrų 1:1) susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis procentais nuo bendro rūgšties kiekio produkte sumažėjo atitinkamai – 6,0; 4,0; 3,7; 10,9 %.
3. Nustatyta, kad pieną užraugus jogurto kultūromis *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LB-12, *S. thermophilus* TH-4 (bendras jų kiekis – 0,02 %, santykis tarp kultūrų 1:4) ir probiotinėmis kultūromis *Bifidobacterium* Bb-12 ir Bb-46, *Lb. acidophilus* La-5, *Lb. casei* subsp. *casei* 01 (santykis tarp jogurto kultūrų ir skirtingų probiotinių kultūrų 1:1) susidariusio D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis procentais nuo bendro rūgšties kiekio produkte sumažėjo atitinkamai – 1,7; 0,6; 0,4; 6,8 %.
4. Tarp naudotų skirtingų probiotikų didžiausią poveikį D(-)-pieno rūgšties izomero kiekio sumažėjimui turėjo *Lb. casei* subsp. *casei*. Jogurte su šiuo probiotiku nustatytas du kartus mažesnis D(-)-pieno rūgšties izomero kiekis nei produkte, kurį gaminant pienas buvo užraugiamas tik tradicinėmis jogurto kultūromis.

## Literatūra

1. **Cohen R. D., Woods H. F.** Clinical and Biochemical Aspects of Lactic Acidosis. Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1976. P. 1.
2. **Flemstrom G.** Intracellular accumulation and permeability effects of some weak acids in the isolated frog gastric mucosa // Acta Physiologica Scandinavia. 1971. Vol. 82. P. 1.
3. **Duran M., vanBierliet J. P. G. M., Kamerling J. M., Wadmann S. K.** D-lactic aciduria, an inborn error of metabolism // Clinica Chimica Acta. 1977. Vol. 74. P. 297.
4. **Motyl I., Libudzish Z.** Changes in quality factors of non-fermented and fermented bifidus milk during storage // Zywnosc. 2001. Vol. 8, No. 3 (suppl.). P. 10–108.
5. **Колеснов А. Ю., Володина Е. М., Альперович Е. Д.** Ферментативный анализ изомеров молочной кислоты в молочных продуктах и сырье // Пищевая промышленность 1997. № 3. С. 32–34.

6. **Bizzozero N., Sprocati G.** Chemical characteristics of yoghurt samples from the market // *Industri Alimentari*. 2001. Vol. 40. P. 7–10.
7. **Garmienė G., Saikauskienė V., Kulikauskienė M.** Pieno rūgšties izomerų kiekio tyrimai pieno produktuose // *Maisto chemija ir technologija*. 2003. T. 37, Nr. 1. P. 17–21.

Pateikta spaudai 2005-04

G. Garmienė, M. Kulikauskienė, V. Saikauskienė

#### **IMPACT OF PROBIOTIC CULTURES ON THE AMOUNT OF LACTIC ACID ISOMERS IN YOGHURT**

##### **Summary**

The amount of lactic acid isomers was studied using the enzymatic method. By combining the mixtures of the mandatory lactic acid bacteria (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* Lb-12 and *Streptococcus thermophilus* TH-4) together with probiotic cultures (*Bifidobacterium* Bb-12, Bb-46, *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 01) and by increasing the relative amount of *S. thermophilus* in the total mass of the mandatory yoghurt cultures it is possible not only to supply the product with the desired qualities but also to reduce the amount of D(–)-lactic acid isomer. Of all the probiotics used the highest impact on the decrease of the amount of D(–)-lactic acid isomer was exerted by *Lb. casei* subsp. *casei*. In yoghurt containing this probiotic the smallest amount of D(–)-lactic acid isomer was 0.043 g in 100 g of the product.

**Keywords:** D(–)-isomers of lactic acid, L(+)-isomers of lactic acid, yoghurt, probiotic cultures, enzymatic analysis.

Г. Гармене, М. Куликаускене, В. Сайкаускене

#### **ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА КОЛИЧЕСТВО ИЗОМЕРОВ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ В ЙОГУРТЕ**

##### **Резюме**

Ферментативным методом исследовали содержание D(–)- и L(+)-изомеров молочной кислоты в йогурте. Совместное применение в производстве йогурта традиционных культур *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и пробиотических культур *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, а также повышение относительного количества *S. thermophilus* в общей массе традиционных культур закваски йогурта способствовало не только получению желаемых качественных свойств продукта, но и снижению количества D(–)-изомера молочной кислоты. Среди использованных пробиотиков наибольшее влияние на снижение количества D(–)-изомера молочной кислоты оказала культура *Lb. casei* subsp. *casei*. В йогурте с данным пробиотиком установлено снижение количества D(–)-изомера молочной кислоты на 50 % по сравнению с таковым в йогурте без пробиотиков. Установленное наименьшее содержание D(–)-изомера составляло 0,043 г/100 г продукта.