

5A Fermentation von Laktose durch Milchsäure- produzierende Bakterien: Joghurt-Herstellung

VerfasserInnen: Brunner Janine janinebrunner@gmx.net
 Gegenschatz Silvan silversilvan@freesurf.ch
 Ravaioli Sarah sarahravaioli@hotmail.com

Betreuer: Thomi Horath horath@hotmail.com

Ziel

Das Ziel des Versuches war es, durch Joghurtbakterien aus Vollmilch „Nature“-Joghurt herzustellen. Dabei untersuchten wir, ob verschiedene Temperaturen sowie das vorherige Abkochen der Milch einen Einfluss auf die Joghurtherstellung haben. Es ging also darum, herauszufinden, ob die Joghurtbakterien thermophil sind.

Hintergrund

Die Herstellung von Joghurt ist ein homofermentativer Vorgang, in welchem Lactose (Milchzucker) als Energiequelle von den Bakterien verwendet wird und dabei als einziges Produkt Milchsäure entsteht. Unter anderem spielen folgende zwei Bakterien dabei die Hauptrollen:

- *Streptococcus thermophilus*: Sie sind am Anfang des Fermentationsprozesses aktiv. Ihr Wachstum wird aber durch den sinkenden pH-Wert durch die eigene Säurebildung nach einiger Zeit unterdrückt.
- *Lactobacillus bulgaricus*: Sie sind diejenigen Bakterien, welche die übrig gebliebene Lactose der Streptococcen abbauen; dabei sinkt der pH-Wert weiter. Schliesslich kommt auch deren Wachstum zum Stillstand und das fertige Joghurt verändert sich (bei entsprechender Kühlung) nicht mehr.

Vorgehen

In sechs Bechergläser wurden je ca. 20 ml Milch gegeben. Die 6 Ansätze wurden danach unterschiedlich behandelt:

1. Wenig Joghurt dazu, vermischen, bei 4°C inkubieren (jeweils 24 Stunden)
2. Wenig Joghurt dazu, vermischen, bei 37°C inkubieren
3. Wenig Joghurt dazu, vermischen, kurz aufkochen, bei 37°C inkubieren
4. Kurz aufkochen, wieder abkühlen, wenig Joghurt dazu, vermischen, bei 37°C inkubieren
5. Wenig Joghurt dazu, vermischen, bei 42° inkubieren
6. Milch bei 37°C inkubieren (ohne Zugabe von Joghurt)

Ergebnisse

Becherglas	Beschreibung des Inhalts nach 24-stündiger Inkubation	PH-Wert (ungefähr)
1	Flüssige, normale Milch	6.7
2	Festes, normales Joghurt	4.2
3	Unten fest, oben flüssig, unangenehmer Geruch	5.8
4	Festes, normales Joghurt, stichfest	4.3
5	Dickflüssig, unangenehmer Geruch (*)	4.3
6	Flüssig, am Rand Ablagerungen, leicht unangenehmer Geruch	6

(* Dies muss nicht unbedingt immer der Fall sein, Anm. d. Red.)

Auswertung

1. Bei 4°C praktisch kein Wachstum der Joghurtbakterien.
2. Optimale Wachstumstemperatur der Joghurtbakterien.
3. Die Joghurtbakterien wurden durch das Aufkochen geschädigt; andere Bakterien wuchsen jedoch nun besser und verursachten unerwünschte Nebenprodukte.
4. Durch das Aufkochen der Milch wurden unerwünschte Bakterien abgetötet; dadurch konnten sich die Joghurtbakterien, die nach der Hitzebehandlung zugegeben wurden, optimal entwickeln.
5. Durch die erhöhte Inkubationstemperatur wurde das Wachstum der Bakterien leicht eingeschränkt und jenes anderer Bakterien, mit unerwünschten Nebenreaktionen, verbessert. (Anm. d. Redaktion: Der unangenehme Geruch könnte auch von einer überaus starken Säureproduktion herrühren, weil eigentlich auch 42°C noch eine optimale Temperatur für die Joghurtbakterien darstellt.)
6. Milch blieb Milch (mit Tendenz zu "lactis ultro", d' Milch isch übäre, Anm. d. Red.) da keine Joghurtbakterien vorhanden waren.

Schlussfolgerung

Joghurtbakterien sind ganz klar mesophil und kaum thermophil, auf keinen Fall aber hyperthermophil (siehe auch "Brock - Biology of Microorganisms" neunte Ausgabe Figur 5.13) und wachsen am besten zwischen 37°C und 43°C. Daneben können unerwünschte Bakterien in der Milch durch Aufkochen eliminiert werden. Dies führt zu stichfestem Joghurt. Bei tiefen Temperaturen ist das Wachstum der Bakterien stark eingeschränkt und bei höheren nimmt das Wachstum unerwünschter Bakterien zu.

5B Vergärung von Kohlenhydraten

Ausführende: Silvan Gegenschanz, Sarah Ravaioli, Janine Brunner

Betreuer: Thomi Horath horath@hotmail.com

1. Ziel

1. Nachweis von Gas- und Säureproduktion bei der Gärung.
2. Welche Zucker (Glucose, Lactose, Saccharose) können durch Joghurtbakterien und Mikroorganismen aus anderen Inokula vergärt werden? Lässt sich Stärke vergären?

2. Hintergrund

Gärung meint den anaeroben Ab- und Umbau von organischen Substraten, wobei ein mit der Atmung korrelierter Elektronentransport auf einen externen Elektronenakzeptor fehlt. Die Elektronen erscheinen in reduzierten Produkten wie z.B. Lactat oder Ethanol, wobei gleichzeitig NAD^+ wieder hergestellt wird aus Rückoxidation von $\text{NADH}+\text{H}^+$. Die Energie wird über Substratphosphorylierung in energiereiche Zwischenprodukte und schlussendlich in energiereiche Bindungen im ATP umgewandelt.

3. Vorgehen

- 6 Reagenzgläser mit stark verdünntem LB-Medium auffüllen, das mit 0.8 g/L NH_4NO_3 und 0.35 g/L K_2HPO_4 angereichert wurde (Anm. d. Red: Die Anreicherung mit Stickstoff und Phosphat wurde in der Hitze des Gefechts leider nicht durchgeführt.)
- Indikator Phenolrot zugeben: wechselt unter pH 7 die Farbe von rot (basisch) über orange zu gelb (sauer)
- Durham Röhrchen: Zur Kontrolle der Gasproduktion wird ein kleines RG umgekehrt ins grosse gegeben.
- Inoculum: Joghurtwasser mit Streptococcus und Lactobacillus

Zugaben:

1. RG: Wasser
2. RG: Saccharose
3. RG: Lactose
4. RG: Glucose
5. RG: Stärke
6. RG: Kein LB-Medium, kein Inoculum. Dieses RG dient als Referenzprobe

Bei 32°C 2-3 Tage inkubieren (Effektiv wurde 3 Tage bei 37°C und dann bei Raumtemperatur inkubiert.)

4. Resultat

Die Vergärbarkeit der einzelnen Zucker und der Stärke durch das Inoculum lässt sich anhand der Säurebildung (organische Säure, Freisetzung von CO_2), einfach nachweisbar durch Farbumschlag des pH-Indikators, messen.

Teilweise konnte eine mehr oder weniger starke Gelbfärbung des Mediums beobachtet werden, bedingt durch die pH-Absenkung bei der Gärung zu organischen Säuren. Eine Gasproduktion konnte hingegen in keinem der Reagenzgläser festgestellt werden. Dies mag vielleicht daran liegen, dass das produzierte CO_2 ausschliesslich im Medium gelöst blieb, bzw., dass alle C-Atome der Substrate in organischen Produkten gebunden geblieben sind.

1. RG: LB, keine Veränderung, LB-Medium kann von Joghurtbakterien nicht verwertet werden
2. RG: Saccharose verwertbar (Farbänderung = Absinken des pH → Gärung)
3. RG: Lactose verwertbar (Farbänderung = Absinken des pH → Gärung)
4. RG: Glucose, keine Veränderung, Glucose kann nicht verwertet werden
5. RG: Stärke kann vom Inokulum abgebaut werden (Absinken des pH → Gärung)
6. RG: Referenz, keine Veränderung

Resultate der Donnerstag Gruppe B mit anderen Inokula

Nr.	zugegebenes Inokulum	zugegebenes Substrat	Gasbildung im kleinen Röhren	pH
1	Hefe	1 ml Saccharose 10g/40ml	500 µl	5.1
2	Joghurt	1 ml Saccharose 10g/40ml	0 µl	4.4
3	Erde	1 ml Saccharose 10g/40ml	20 µl	6.9
4	filtrierte Erde	1 ml Saccharose 10g/40ml	20 µl	7.2
5	filtrierte Erde	1 ml Lactose 10g/40ml	40 µl	5.1
6	filtrierte Erde	1 ml Glucose 22g/100ml	10 µl	7.4
7	filtrierte Erde	1 ml Maltose 15g/40ml	20 µl	6.8
8	Erde	kein	0 µl	8.0

Die Vergärbarkeit der einzelnen Zucker und der Stärke durch das Inokulum lässt sich anhand der Säurebildung (organische Säure, Freisetzung von CO₂) durch Farbumschlag des pH-Indikators einfach nachweisen.

Wenn nicht viel Ethanol und/oder CO₂ gebildet wurden, muss dies noch nicht heißen, dass der Organismus den Zucker nicht verwerten könne. Verschiedene Gründe können die Produktion von Endstoffen hemmen:

1. Es hat gar keine oder nur sehr wenige Organismen im Inokulum.
2. Die Zuckerkonzentration ist zu hoch für die Organismen: vergleichbar mit Punkt 4
3. Es hat zu wenig andere wichtige Aufbaustoffe im Medium, wie z.B. N und P. (Wahrscheinlich der Hauptgrund für das spärliche Wachstum in unserem Versuch.)
4. Die Organismen im Inokulum sind noch nicht angepasst für die Verarbeitung von Zuckern und brauchen eine längere Anlaufzeit.