

# Afslutningsrapport

Interaktioner mellem mælkens egne enzymer  
og *Penicillium roqueforti*

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 2002-44

*April 2002*



**mejeri**foreningen

danish dairy board

## **Afslutningsrapport for FØTEK-samarbejdsprojektet:**

### **"Interaktioner mellem mælkens egne enzymer og *Penicillium roqueforti*"**

#### Projektperiode:

1. februar 1998 - 31. december 2001

#### Projektdeltagere:

- Professor Mogens Jakobsen, Levnedsmiddelmikrobiologi, KVL, tlf. 3528 3216, e-mail: [moj@kvl.dk](mailto:moj@kvl.dk) (projektleder)
- Forskningsadjunkt Mette Dines Cantor, tlf. 3266 2237, e-mail: [mette.dines.cantor@danisco.com](mailto:mette.dines.cantor@danisco.com)
- Levnedsmiddeltekniker Per M. Christensen
- Arla Foods Innovationscenter Brabrand, Rørdrumvej 2, 8220 Brabrand, v. Teamleder Søren Lillevang
- Vegetabilieområdet, KVL, v. Lektor Leif Poll

#### Finansiering:

Mejeribrugets ForskningsFond og Direktoratet for FødevareErhverv (FØTEK III)

## Sammendrag

Projektets mål var at undersøge betydningen af mælkens egne enzymer, specielt den native mælkelipase, for modning og kvalitet af Danablu. Da den native mælkelipase inaktiveres næsten fuldstændigt ved lavpasteurisering, var et af formålene at undersøge om der kunne kompenseres for dette tab af lipolytisk aktivitet ved en pasteurisering af ostemælk til fremstilling af Danablu, ved enten at tilsætte (lipolytiske) gær eller lipaser fra disse.

Tre forskellige mejerirelevante gær, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* og *Debaryomyces hansenii* blev indledningsvist undersøgt for interaktioner med *P. roqueforti*. Heraf udviste kun *S. cerevisiae* FB7 positive interaktioner. Denne stamme blev anvendt til et mejeriforsøg som starterkultur i Mycella, og kunne genfindes inde i forsøgsosten gennem modningen. Generelt var der en højere relativ mængde af aromakomponenter i forsøgsostene, men forskellen var kun statistisk signifikant efter 6 uger. Ved en sensorisk kvalitetstest fik forsøgsostene højere karakterer end referenceostene for smag og lugt, udseende og farve, mens karaktererne for struktur og tekstur var lidt lavere. I den samlede bedømmelse fik ostene med tilsat gær højere karakter end de traditionelt fremstillede referenceoste.

Hele celler af *Y. lipolytica* samt cellefrit ekstrakt (CFE) indeholdende lipase blev undersøgt for interaktioner m.h.t. vækst og lipolyse med stammer af *P. roqueforti*. De observerede interaktioner var meget stammespecifikke. Effekten af CFE indeholdende lipase fra *Y. lipolytica* 200, blev undersøgt i stor skala ved fremstilling af Danablu af termiseret mælk, pasteuriseret mælk og pasteuriseret mælk tilsat CFE. Osten lavet af pasteuriseret mælk tilsat CFE havde et niveau af frie fedtsyrer (FFA) på højde med eller højere end den traditionelt fremstillede ost. Ved en intern smagsbedømmelse fik den traditionelt fremstillede ost hovedkarakteren 11, osten af pasteuriseret mælk fik 7 og osten lavet af pasteuriseret mælk tilsat lipase blev bedømt til 9, hvilket stadig er en acceptabel karakter. På trods af nogle bemærkninger var det en væsentlig forbedring i forhold til osten lavet af pasteuriseret mælk og ved hjælp af forholdsvis få justeringer og en mere oprenset lipase, skønnes det at være muligt at erstatte aktiviteten fra den native mælkelipase med lipase fra *Y. lipolytica* og fremstille Danablu af høj kvalitet af pasteuriseret mælk.

Resultaterne fra projektet bekræfter det store potentiale gær har som starterkultur, enten som hele celler eller som enzymtilsætning. Det anvendte cellefrie ekstrakt er dog et råekstrakt, der sandsynligvis indeholder flere forskellige enzymer, bl.a. proteinaser, hvilket kan gøre det svært at styre modningen præcist. Der er derfor behov for en yderligere oprensning og karakterisering af denne lipase, hvorefter den kan produceres i stor skala til brug for mejeriindustrien.

## Abstract

The aim of the project was to investigate the importance of the indigenous milk enzymes, especially the native milk lipase, for the ripening and quality of Danablu. As the native milk lipase is almost completely inactivated by pasteurisation one of the aims was to investigate if we could compensate for this loss of lipolytic activity when pasteurising the milk used for Danablu production, either by adding (lipolytic) yeast or lipases from these yeast.

Three different dairy-associated yeasts, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* and *Debaryomyces hansenii* were included in preliminary investigations on interactions with *P. roqueforti*. Of these three yeast only *S. cerevisiae* FB7 showed positive interactions. This strain was used for a dairy trial, as a starter culture in Mycella, and could be detected in the interior of the experimental cheese throughout the ripening. In general, there was a higher relative amount of aroma compounds in the experimental cheeses, but the difference was only statistically significant after 6 weeks. In a sensory quality test the experimental cheeses received higher scores than the reference cheeses for taste and odour, appearance and colour, while the scores for structure and texture were slightly lower. In the overall judgement the cheeses with added yeast received higher scores than the traditionally produced reference cheeses.

Whole cells of *Y. lipolytica* together with cell free extract containing lipase was investigated for interactions with strains of *P. roqueforti* considering growth and lipolysis. The observed interactions were very strain specific. The effect of cell free extract (CFE) containing lipase from *Y. lipolytica* 200 was investigated in a large-scale dairy trial producing Danablu from thermised milk, pasteurised milk and pasteurised milk with added CFE. The cheese produced with pasteurised milk with added CFE had a level of free fatty acids (FFA) equivalent to or higher than the level found in the traditionally produced cheese. In an internal judgement the traditionally produced cheese received a score of 11, the cheese made with pasteurised milk received 7 and the cheese produced with pasteurised milk with added CFE was judged to 9, which is still an acceptable score. Despite the few remarks it was a considerable improvement in the quality compared to the cheese produced from pasteurised milk and with some fairly small adjustments and a more purified lipase, it is considered possible to replace the activity from native milk lipase with lipase from *Y. lipolytica* and produce high quality Danablu with pasteurised milk.

The results obtained confirm the large potential of yeast as starter culture, either as whole cells or as enzyme addition. The CFE used is, however, a raw extract that presumably contains several different enzymes, like proteinases, which might make it difficult to control the ripening in detail. Therefore, there is a need for a further purification and characterisation of this lipase after which it can be produced in large amounts to be used in the dairy industry.

## Formål og baggrund

Det var projektets mål at undersøge betydningen af mælkens egne enzymer, specielt den native mælkelipase, for modningen og kvaliteten af Danablu. Den native mælkelipase er et meget varmfølsomt enzym, der inaktiveres næsten fuldstændigt ved lavpasteurisering, hvilket er grunden til den mildere varmebehandling (termisering) af ostemælk til fremstilling af Danablu.

Mikrobiologisk set er der dog en større risiko for overlevelse af uønskede mikroorganismer ved en termisering af ostemælken, og derfor var et af formålene med dette projekt at undersøge muligheden for at kompensere for tabet af mælkelipasens aktivitet ved en pasteurisering af ostemælk til fremstilling af Danablu. De mulige løsninger kunne være:

- 1) tilsætning af kraftigt lipolytiske stammer af *Penicillium roqueforti*,
- 2) tilsætning af (lipolytiske) gær, eller
- 3) tilsætning af lipaser fra lipolytiske gær.

I dette projekt har vi arbejdet med de to sidste muligheder.

Lipolysen blev karakteriseret ved titrering af frie fedtsyrer (FFA), GC-fedtsyreprofiler for oprenset mælkelipase, stammer af *P. roqueforti*, gær med forskellig lipolytisk aktivitet og lipase fra *Y. lipolytica* samt bestemmelse af aromakomponenter for udvalgte kombinationer.

## Resultater

### Interaktioner mellem nativ mælkeliase og *Penicillium roqueforti*

Kommerciel, oprenset bovin lipoprotein lipase blev anvendt til interaktionsforsøg med *P. roqueforti*. Mælkeliase havde en positiv, men stammeafhængig, effekt på væksten af *P. roqueforti* på osteagar, både med 0 % og 3,5 % salt i osteagaren. Den fremmede effekt sås også ved titrering af FFA fra sødmælk podet med mælkeliase og *P. roqueforti* og inkuberet ved 25 °C i hhv. 5 og 10 dage; der var flere FFA i mælk podet med begge sammenlignet med mælken podet med kun den ene. Selve fedtsyreprofilen ændredes dog ikke væsentligt.

### Indledende interaktionsforsøg mellem forskellige gær og *Penicillium roqueforti*

Stammer af de mejerirelevante gær, *S. cerevisiae* (1 stamme), *Y. lipolytica* (4 stammer) og *D. hansenii* (2 stammer) blev undersøgt for interaktioner med fem stammer af *P. roqueforti* med forskellig enzymatisk aktivitet (Larsen & Jensen, 1999) m.h.t. vækst, FFA-dannelse og aromadannelse i et ostebaseret medium (kogt, usaltet Danablu). Alle gærene voksede op til et højt niveau,  $10^6 - 10^9$  CFU/ml. *S. cerevisiae* udviste tendens til stimulering af *P. roqueforti*, både ved vækst og til aromadannelsen, hvorimod *Y. lipolytica* hæmmede skimlen, specielt når den var tilstede i høje koncentrationer ( $10^4 - 10^5$  celler/ml og derover). Hæmningen er meget stammespecifik både m.h.t. *Y. lipolytica* og *P. roqueforti*. Der kunne ikke observeres nogen effekt på *P. roqueforti* af *D. hansenii*.

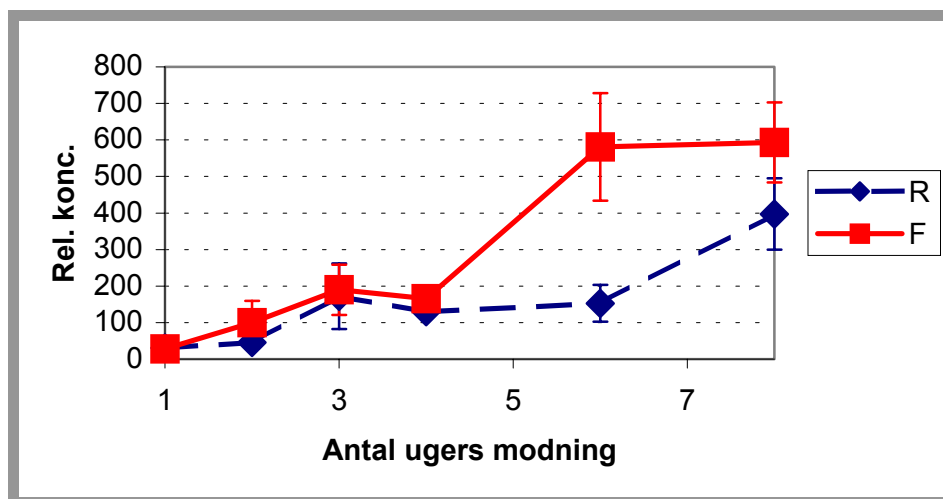
### *Saccharomyces cerevisiae* som starterkultur til Mycella

*S. cerevisiae* anvendes som starterkultur i udlandet, bl.a. til Gorgonzola, og vi har derfor undersøgt muligheden for at tilsætte gærstammen *S. cerevisiae* FB7 til Mycella, der er en dansk pendant til Gorgonzola. Samtidig er Mycella mindre saltholdig end Danablu, hvilket passer med den lavere salttolerance for *S. cerevisiae*. Ønsket fra det mejeri som deltog i forsøget, var at fremstille en Mycella med en blødere konsistens og mere aroma. I tidligere undersøgelser har *S. cerevisiae* FB7 vist en stimulerende effekt på væksten af *P. roqueforti* i modelsystemer baseret på usaltet Danablu, en synergistisk effekt på kasein nedbrydning, dog kun hvis *P. roqueforti*-stammen var svagt proteolytisk, samt en tendens til at øge indholdet af aromakomponenter (Hansen & Jakobsen, 2001). *S. cerevisiae* er desuden kun svagt proteolytisk og lipolytisk aktiv, så risikoen for typiske gær-smagsfejl i en normal modningsproces vil være meget lille.

Der var ingen signifikante forskelle mellem forsøgsostene med tilsat gær og referenceostene uden gær under modningen m.h.t. fysisk-kemiske parametre og antallet af mælkesyrebakterier. Antallet af gær var også meget ens, men ostene adskilte sig ved sammensætningen af gærfloraen:

I referenceostene dominerede *D. hansenii* både på overfladen og inde i osten, mens det i forsøgsostene kun var på overfladen. Inde i forsøgsostene var der en blanding af *D. hansenii* og *S. cerevisiae* FB7, begge i højt tal. Det blev observeret at væksten af *P. roqueforti* begyndte lidt tidligere i forsøgsostene. Generelt var der en højere relativ mængde af aromakomponenter i forsøgsostene, men forskellen var

kun signifikant efter 6 uger (Figur 1). De dominerende aromakomponenter var metylketonerne 2-pentanon, 2-heptanon og 2-nonanon, der udgjorde op til 80 % af den totale mængde, men forskellige alkoholer, aldehyder og estre blev også påvist i mindre mængder. I forsøgsostene med gær var der et ikke-signifikant højere niveau af de to metylketoner 2-heptanon og 2-nonanon, der regnes for at være de sensorisk vigtigste for aromaen i blåskimmeloste. Ved en sensorisk kvalitetstest fik forsøgsostene også højere karakterer end referenceostene for smag og lugt, udseende og farve, mens karaktererne for struktur og tekstur var lidt lavere. I den samlede bedømmelse fik ostene med tilsat gær højere karakter end de traditionelt fremstillede referenceoste. Endvidere kunne et utrænnet panel smage forskel på forsøgs- og referenceostene, blandt andet på grund af en bedre mundfornemmelse og en blødere og mere cremet konsistens. Mejeriforsøget er beskrevet af Hansen et al. (2001).

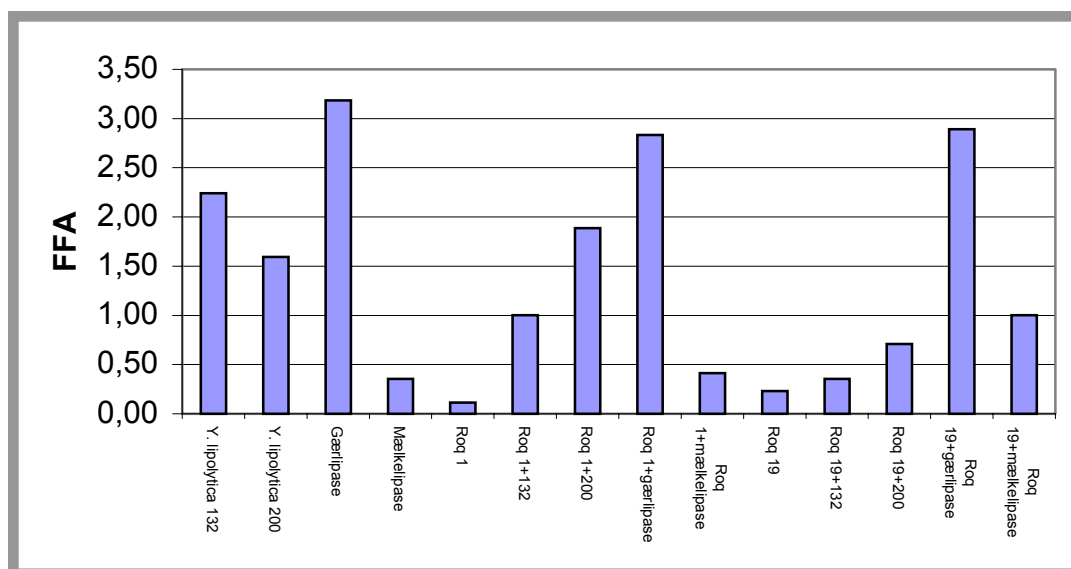


Figur 1: Den relative mængde af aroma i Mycella. (R: referenceoste uden gær tilsat; F: forsøgsoste med *S. cerevisiae* tilsat.)

### Lipolytisk aktivitet af *Yarrowia lipolytica* og interaktion med *Penicillium roqueforti*

Et større antal stammer af gæren *Y. lipolytica*, der er kendt for at være både stærkt lipolytisk og proteolytisk, blev udvalgt til undersøgelser, både med hele celler og med CFE indeholdende lipase. Som tidligere beskrevet kan *Y. lipolytica* hæmme væksten af *P. roqueforti*, specielt når den er tilstede i høje koncentrationer, hvilket sandsynligvis skyldes substratkonkurrence. Hvis koncentrationen af *Y. lipolytica* derimod justeres til et realistisk niveau for Danablu, typisk  $10^2 - 10^3$  celler/ml, er en evt. hæmning væsentlig mindre udtalt og for nogle stammer ses endda en fremmede effekt på vækst af *P. roqueforti*, specielt med salt i mediet. Den lave salttolerance af *Y. lipolytica* gør sig også gældende for den lipolytiske aktivitet, der falder med stigende saltkoncentration. Dette indebærer at effekten af hele celler af *Y. lipolytica* i blåskimmelost vil begrænse sig til midten af osten i starten af modningen.

Interaktionsforsøg med *P. roqueforti* og *Y. lipolytica* inkuberet sammen og hver for sig i sødmælk, viste at mængden af dannede frie fedtsyrer (FFA), bestemt ved titrering, var højest når gæren voksede alene, lavest når *P. roqueforti* voksede alene og blev hhv. mindsket og øget, når de voksede sammen, i forhold til når de voksede alene (Figur 2).



Figur 2: Mængden af FFA (mikroækvivalenter/ml mælk) i mælk inkuberet v. 25 °C i 5 dage ved forskellige kombinationer af *P. roqueforti* (roq 1 og roq 19, 10<sup>5</sup> konidier/ml), *Y. lipolytica* (132 og 200, 10<sup>2</sup> celler/ml), cellefrit ekstrakt fra *Y. lipolytica* 200 (gærilipase, 100 µl) og nativ mælkelipase (10 µl).

Et indledende forsøg med aromadannelse efter vækst i 5 og 10 dage ved 25 °C på kogt, usaltet Danablu, viste igen betydningen af at vælge de rigtige stammer pga. stammespecificitet. For begge stammer af *P. roqueforti* var methylketoner dominerende i aromaprofilen, og det var også i mængden af disse stoffer effekten af interaktionerne kunne ses. I Tabel 1 ses forskellen mellem de undersøgte skimmelstammer i mængden af de vigtigste metylketoner efter 5 dage afhængig af om de var podet med *Y. lipolytica* 200 eller CFE fra denne. Der var de samme tendenser efter 10 dage. Som det ses er effekten på roq 19 kraftigere end på roq 1 hvad angår 2-heptanon, til gengæld dannes der så mere 2-nonanon. Derimod er der intet fald i mængden af aromakomponenter for roq 1 ved samtidig podning med CFE. Dette, sammenholdt med interaktionsresultaterne for vækst og FFA-dannelse, viser de potentielle muligheder for at anvende enzymer fra *Y. lipolytica* til produktion af Danablu.

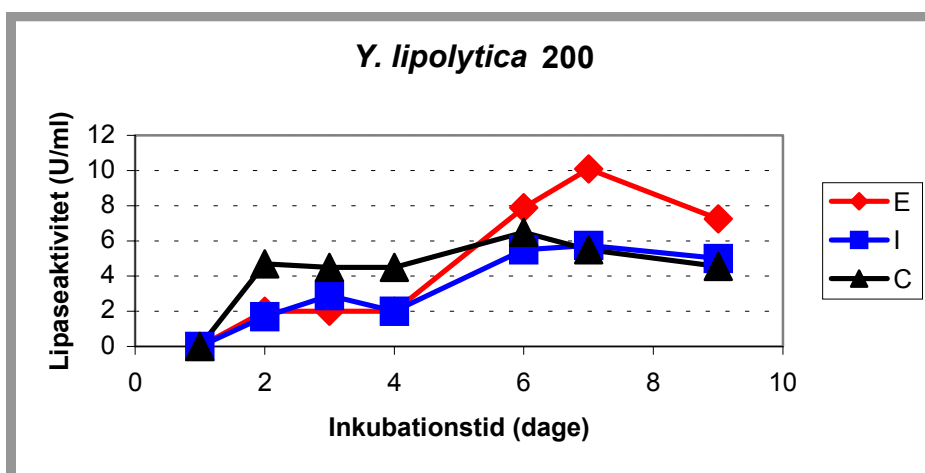
Tabel 1: Den relative mængde (%) de vigtigste methylketoner, efter fem dages inkubation ved 25 °C i kogt, usaltet Danablu. (Roq 1, roq 19: stammer af *P. roqueforti*; Gær 200: *Y. lipolytica* 200; Lipase: CFE fra *Y. lipolytica* 200; Kontrol: upodet ost.)



Metylketoner	2-hexanon	2-heptanon	2-nonanon	8-nonen-2-one
Kombinationer				
Roq 1	2,9	61	13,8	3,7
Roq 1 + lipase	2,7	61,9	15,6	3,8
Roq 1+ gær 200	2,7	54,5	12,8	2,8
Roq 19	3,1	66,9	20,1	4,4
Roq 19 + lipase	5	29,8	34,7	8
Roq 19 + gær 200	4,5	35,3	23,7	5,9
Lipase	0	9,8	0,8	0
Gær 200	0	10,5	1	0
Kontrol	0	7	0,8	0

### Lipase fra *Yarrowia lipolytica*

Den kraftige enzymatiske aktivitet samt gærens evne til at danne et rødbrunt pigment på osten, kan give problemer og derfor vil det ikke altid være optimalt at bruge hele celler af *Y. lipolytica* til ostefremstilling. Et alternativ kunne være at tilsætte enzymer i stedet for hele celler. For at undersøge muligheden for at anvende lipase til fremstilling af Danablu, blev tolv stammer af *Y. lipolytica* undersøgt for deres ekstracellulære, cellevægsbundne og intracellulære lipolytiske aktivitet. Stammerne var overvejende isoleret fra forskellige trin i produktionen af Danablu og fra andre mejeriprodukter. Forskellene mellem stammerne m.h.t. lipolytisk aktivitet, og hvilken af de tre undersøgte lipasefraktioner der var mest aktiv, var meget store (Figur 3). Aktiviteten af den cellebundne lipasefraktion var størst for 8 af de 12 stammer, og det var også denne fraktion, der gav de højeste målte aktiviteter. Tre af stammerne havde højst aktivitet ekstracellulært og kun en enkelt stamme var mest aktiv intracellulært.

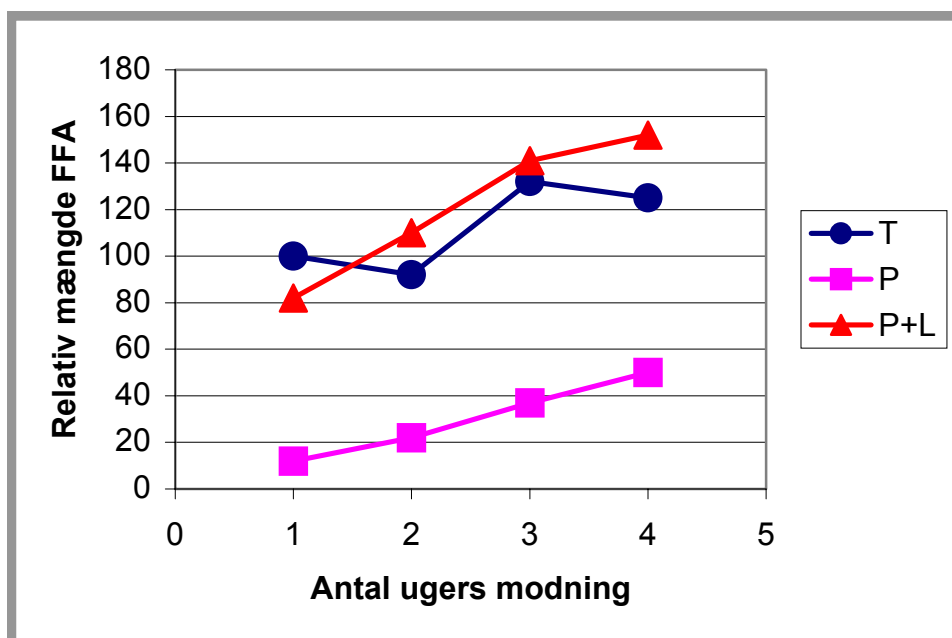


Figur 3: Aktivitet og fordeling af lipaser produceret af *Y. lipolytica* 200. E: ekstracellulær aktivitet; I: intracellulær aktivitet; C: cellebunden aktivitet. Resultaterne er et gennemsnit af to gentagelser.

Fem stammer med høj ekstracellulær lipolytisk aktivitet blev yderligere undersøgt for kvantitativ og kvalitativ nedbrydning af mælkefedt ved henholdsvis en titrering af frie fedtsyrer (FFA) og en gaschromatografisk (GC) analyse af fedtsyresammensætningen efter inkubering i sødmælk i tre timer ved 37 °C. Syregraden blev for tre af stammerne målt til ca. 12. Til sammenligning skal oplyses at smagstærskelen i mælk svarer til en syregrad på ca. 1,5. GC analysen viste, at i forhold til en blindprøve var det primært caprylsyre (C8), caprinsyre (C10) og oliesyre (C18:1), der blev frigivet. Specielt de mellemlange fedtsyrer (C8, C10) menes at have betydning for den samlede aromaprofil.

### Mejeriforsøg med tilsætning af lipase fra *Yarrowia lipolytica* til Danablu

For at afprøve effekten af ekstracellulær lipase fra *Y. lipolytica* i stor skala, blev der fremstillet Danablu af termiseret mælk, pasteuriseret mælk og pasteuriseret mælk tilsat lipase. Gennem modningen blev ostene analyseret for indholdet af FFA. I Figur 4 ses tydeligt den hæmmende effekt af pasteurisering; selv efter 4 ugers modning, hvor der var kraftig skimmelvækst, er der et meget lavt indhold af FFA. Osten lavet af pasteuriseret mælk tilsat lipase har derimod et FFA niveau på højde med eller højere end den traditionelt fremstillede ost. Den største forskel i fedtsyresammensætningen af ostene sås for palmitinsyre (C16) og stearinsyre (C18), hvor der var et højere niveau i ostene lavet af termiseret mælk, mens ostene lavet af pasteuriseret mælk tilsat lipase havde det højeste niveau af oliesyre (C18:1), hvilket direkte afspejler aktiviteten af den tilsatte lipase.



Figur 4: Den relative mængde af FFA i Danablu fremstillet af forskelligt behandlet mælk. T: termiseret mælk; P: lavpasteuriseret mælk; P+L: lavpasteuriseret mælk tilsat CFE fra *Y. lipolytica* 200.

Mængden af C10 og C12 var også lidt højere i denne ost, specielt i starten af modningen. Ved en intern smagsbedømmelse fik den traditionelt fremstillede ost hovedkarakteren 11, osten af pasteuriseret mælk fik 7 og osten lavet af pasteuriseret mælk tilsat lipase blev bedømt til 9. Denne ost var underskimlet, den var mere skarp i smagen og den havde en mere ”grynet” konsistens. Disse tre punkter blev dog alle bedømt til karakteren 9, hvilket stadig er en acceptabel karakter. Den mere skarpe smag og den underskimlede bygning skyldtes nok det høje indhold af FFA, der er kendt for dels at give smag, dels for at have en væksthæmmende effekt overfor *P. roqueforti*. Den ”gryne” konsistens var sandsynligvis et resultat af, at det ikke var oprenset lipase, men et cellefrit ekstrakt der blev tilsat, hvor der måske også har været protease tilstede. På trods af disse bemærkninger var det en væsentlig forbedring i forhold til osten lavet af pasteuriseret mælk, og ved hjælp af forholdsvis få justeringer og en mere oprenset lipase, skønnes det at være muligt at erstatte den native mækelipase med lipase fra *Y. lipolytica* og fremstille Danablu af høj kvalitet af pasteuriseret mælk (Cantor et al., 2002).

### **Oprensning af lipase fra *Yarrowia lipolytica***

I samarbejde med Danisco A/S, Innovation Copenhagen, og Ph.D. studerende Agata Skiba, Wroclaw, Polen, har vi arbejdet på at oprense den ekstracellulære lipase fra *Y. lipolytica*. Det har været vanskeligere end først antaget, bl.a. fordi der skal være både Tween 80 og olie i vækstmediet for inducere lipasen og begge dele kan give problemer ved en del af de metoder, der anvendes til oprensningen. Derudover taber lipasen forholdsvis hurtigt sin aktivitet, hvilket gør det svært at genfinde den efter de forskellige oprensningstrin. Det er derfor endnu ikke lykkedes at få en helt oprenset lipase, men arbejdet forventes at blive videreført.

## Konklusion

Interessen for gær associeret med mejeriprodukter, specielt oste, er steget kraftigt inden for de seneste år, hvilket har ført til ny viden om de positive og negative effekter af gær på kvaliteten. De positive effekter kan være en synergistisk effekt på lipolyse, herunder aromadannelse, og proteolyse, stimulering af vækst af starterkulturen samt forbrug af restnæringsstoffer, så et stabilt mikromiljø bevares. Negative effekter kan være kraftig enzymatisk aktivitet, så smags- eller konsistensfejl opstår, eller misfarvninger, typisk på overfladen af osten. Disse problemer kan overvindes ved kun at tilsætte enzymer fra gæren, typisk proteaser eller lipaser.

Indeværende projekt har belyst effekten af interaktioner mellem den native mælkelipase, stammer af *P. roqueforti* og *Y. lipolytica* på vækst, lipolyse og aromadannelse, under miljøforhold der er realistiske for Danablu. Endvidere har mejeriforsøg med tilsætning af hele celler af *S. cerevisiae* FB7 til Mycella og cellefrit ekstrakt fra *Y. lipolytica* 200 til Danablu fremstillet af pasteuriseret mælk, vist en positiv effekt på den overordnede kvalitet af de fremstillede oste, specielt på lipolysen og aromadannelsen, som bliver forbedret, men ikke ændret. Disse forsøg bekræfter det store potentiale gær har som starterkultur, enten som hele celler eller som enzyntilsætning. Det anvendte cellefrie ekstrakt er dog et råekstrakt, der sandsynligvis indeholder flere forskellige enzymer, bl.a. proteinaser, hvilket kan gøre det svært at styre modningen præcist. Der er derfor behov for en yderligere oprensning og karakterisering af denne lipase, hvorefter den kan produceres i stor skala til brug for mejeriindustrien.

## Praktisk og videnskabelig betydning

Projektet har tilført ny viden om anvendelse af gær eller deres enzymer til osteproduktion og påvist det p.t. uudnyttede potentiale der ligger heri. En del resultater er direkte anvendelige for mejeribrug, bl.a. brug af *S. cerevisiae* FB7 som starterkultur til Mycella, mens andre resultater kræver yderligere optimering for at kunne anvendes, herunder tilsætning af lipase fra *Y. lipolytica* som erstatning for tab af lipolytisk aktivitet ved pasteurisering af mælk til produktion af Danablu.

## Relationer til andre/nye projekter

Projektets resultater har forbindelse til igangværende projekter om brug af gær i forskellige fermenteringer af levnedsmidler, inklusive overflademodning af oste, som er hovedemnet for et projekt finansieret af Mejeribrugets ForskningsFond under FØTEK-programmet. Disse andre projekter har et stærkt molekylærbiologisk præg der, sammenholdt med indeværende resultater, understreger den betydning gær kan få som en ressource for enzymer af stor interesse for mejeriindustrien.

## Samarbejdsrelationer nationalt og internationalt

Agata Skiba, Agricultural University, Faculty of Food Science, 25/27 C. K. Norwida Street, 50-375 Wroclaw, Polen.

Dr. habil. Rolf Geisen, Federal Research Centre for Nutrition, Haid- und Neustr. 9, 76131 Karlsruhe, Tyskland.

International Dairy Federation (IDF) Group F47, Yeast in the Dairy Industry.

## Publikationer

- Larsen, M. D. & Jensen, K. (1999). The effects of environmental conditions on the lipolytic activity of strains of *Penicillium roqueforti*. *Int. J. Food Microbiology* **46**, 159-166.
- Larsen, M. D. & Jakobsen, M. (1999). Interactions between indigenous milk enzymes and *Penicillium roqueforti*. [Interaktioner mellem mælkens egne enzymer og *Penicillium roqueforti*.] *Mælkeritidende* **17**, 408-410.
- Geisen, R., Cantor, M. D., Hansen, T. K., Holzapfel, W. H. & Jakobsen, M. (2001). Characterization of *Penicillium roqueforti* strains used as cheese starter cultures by RAPD typing. *Int. J. Food Microbiology* **65**, 183-191.
- Hansen, T. K., Cantor, M. D., van den Tempel, T. & Jakobsen, M. (2001). *Saccharomyces cerevisiae* as a starter culture in Mycella. *Int. J. Food Microbiology* **69**, 101-111.
- Jakobsen, M., Cantor, M. D. & Jespersen, L. (2001). Production of Bread, Cheese and Meat. In "The Mycota. A comprehensive treatise on fungi as experimental systems and applied research. Vol. X. Industrial applications" K. Esser & J. W. Bennett (eds.). H. D. Osiewacz (vol. ed.), Springer-Verlag, Berlin, p. 3-22.
- Cantor, M. D., Kristensen, H. T. & Jakobsen, M. (2002). Microbial interactions between *Yarrowia lipolytica* and *Penicillium roqueforti*. To be submitted to *Int. Dairy J.*
- Cantor, M. D. & Jakobsen, M. (2002). Interactions between indigenous milk enzymes and *Penicillium roqueforti*. [Interaktioner mellem mælkens egne enzymer og *Penicillium roqueforti*.] Afslutningsartikel, indsendt til *Mælkeritidende*.

## Mundtlige og skriftlige indlæg

- van den Tempel, T., Hansen, T. K., Larsen, M. D. & Jakobsen, M. Microbial interactions in Danablu. **Poster** præsenteret ved 25<sup>th</sup> IDF Congress, Århus (DK), 21. – 24. september 1998.
- Larsen, M. D., Rasmussen, M. S., Petersen, T. E. & M. Jakobsen. (1999). Identification of peptides produced by *Penicillium roqueforti* from casein. **Poster** præsenteret på IUMS 99. Sydney, Australia, 16. – 20. August 1999.

- Larsen, M. D., van den Tempel, T., Hansen, T. K. & Jakobsen, M.: *Saccharomyces cerevisiae* as starter culture in Mycella. **Mundtlig præsentation** ved “Yeast in the dairy industry”, 2. symposium, Bologna, Italien, 9. – 10. september 1999.
- Larsen, M. D., van den Tempel, T., Hansen, T. K. & Jakobsen, M.: *Saccharomyces cerevisiae* as starter culture in Mycella. **Poster + foredrag** præsenteret ved Levnedsmiddelkongres, januar 2000 (DTU).
- Er der liv i en ost? Foredrag udbudt på Dansk Naturvidenskabsfestival og holdt for folkeskolebørn, september 2000.
- Hansen, T. K. & Cantor, M. D. Interaktioner mellem starterkulturer og andre mikroorganismer i og på osten. **Mundtlig præsentation**, ”Udvikling og forskning vedrørende syrningskulturer og kvalitetssikring”, Mejeribrugets Forårsseminar, Odense (DK), 20. – 21. marts 2001.

### **Tilknyttede studerende**

- Bettina Olesen (1999). Effekt af *Saccharomyces cerevisiae* på vækst, lipolytisk aktivitet og aromadannelse hos *Penicillium roqueforti*. Bacheloropgave (KVL).
- Henrik Tribler Kristensen (2000). Anvendelse af lipaser fra *Yarrowia lipolytica* ved fremstilling af Danablu ud fra pasteuriseret mælk. Speciale (KVL).
- Juan Echevarria Gayubo (2000). General study about growth and heat resistance of some common dairy yeasts. Speciale (Socrates-Erasmus, KVL).
- Agata Skiba (2001). Purification and characterization of lipase from the yeast *Y. lipolytica*. Ph.D. student, Wroclaw, Poland. (I samarbejde med Danisco A/S, Innovation Copenhagen).
- Anitha Rasmussen & Mette Winther (2001). Lipolytiske interaktioner mellem *P. roqueforti* og *Y. lipolytica*. Bacheloropgave (KVL).

