

## Utjecaj povećane količine proteina u mlijeku na rast i aktivnost kulture za proizvodnju jogurta

Prof. dr. Ljerka KRŠEV, Anica BOROVIĆ, dipl. inž.,  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper  
Prispjelo: 15. 2. 1992.

UDK: 637.045/146.35

### Sažetak

*Cilj rada bio je utvrditi utjecaj ultrafiltracijom ugušćenog mlijeka na aktivnost i rast kulture za proizvodnju jogurta.*

*Uzorci ultrafiltriranog mlijeka (sa različitom količinom proteina) i kontrolni uzorak — mlijeko, nacijspljeni su jogurtnom kulturom 2% (V/V) te inkubirani pri 42°C do pH vrijednosti: 4,6 ; 4,45 i 4,35. Tijekom inkubacije praćen je rast kulture za proizvodnju jogurta i promjene kiselosti.*

*Rezultati istraživanja pokazuju da se sa povećanom količinom proteina u uzorcima ultrafiltriranog mlijeka, u odnosu na kontrolni uzorak, produžava vrijeme inkubacije. Broj živih bakterija koje su se razvile u ultrafiltriranom mlijeku značajno je bio veći od broja bakterija koje su se razvile u kontrolnom mlijeku. Također, veća je bila i količina proizvedene mlječne kiseline.*

*Najveća količina mlječne kiseline (1,5%) nadena je u uzorcima ultrafiltriranog mlijeka s najvećom količinom proteina (6,6% proteina).*

*Riječi natuknice: Povećana količina bjelančevina u mlijeku, Utjecaj na rast i aktivnost kulture za jogurt, Količina mlječne kiseline*

### Uvod

Jogurt je već niz godina omiljena hrana svih generacija, vrlo cijenjene nutritivne vrijednosti, a mogu ga trošiti i osobe koje ne probavljaju laktozu. Također, prema Specku (1979), jogurt sadrži metabolite koji inhibitorno djeluju na neke toksične tvari unesene u organizam nekom drugom hranom. Jogurt se odlikuje blago kiselim okusom i prijatnom aromom. Specifičan blago kiseli okus potječe od mlječne kiseline koju proizvode bakterije fermentiranjem lakoze, dok aroma jogurta potječe od prisustva više kemijskih tvari proizvedenih tijekom fermentacije mlijeka (Rašić, 1973).

Hranjiva vrijednost jogurta ovisi o sastavu i hranjivoj vrijednosti sirovine — mlijeka, od koje se jogurt proizvodi.

Primjenom procesa ultrafiltracije (UF) u proizvodnji jogurta, povećava se suha tvar mlijeka, ali i udio proteina. Zbog povećane količine proteina povećava se i prehrambena vrijednost jogurta, a nova organoleptička svojstva proizvoda proširuju izbor potrošača (Rašić i Kurmann, 1978; Atamer i sur. 1978). Međutim, ako se za proizvodnju kulture koristi UF mlijeko, promijenjeni kemijski sastav mlijeka utječe na rast i aktivnost mljekarske kulture za proizvodnju jogurta.

Svrha ovog rada bila je utvrditi utjecaj tako složenog substrata, kao što je ultrafiltracijom ugušeno mlijeko, na aktivnost i rast kulture za proizvodnju jogurta, a cilj rada odabrati najpovoljniji supstrat s različitim udjelom proteina za uzgoj radne kulture, potrebne u proizvodnji jogurta.

### Materijal i metode rada

#### *Materijal rada*

##### *Mlijeko i ultrafiltrcijom ugušćeno mlijeko*

Za pripremu radne kulture za proizvodnju jogurta korišteno je obrano mlijeko koncentrirano ultrafiltracijom od 1/10 od početnog volumena (retentat).

Koristeći rezultate kemijskih analiza ultrafiltracijom dobivenog retentata i permeata računski je nađen omjer u kojem treba pomiješati retentat i permeat (1:1,6; 1:2; 1:2,5) da se dobije supstrat sa različitim udjelom proteina: 4,8; 6,0 i 6,6% (UF-mlijeko). Za kontrolne uzorke upotrijebljeno je mlijeko tipizirano na 2,8% mlječne masti i pomiješano s 2% obranog mlijeka u prahu i homogenizirano.

#### *Kultura*

Za naciepljivanje mlijeka korištena je matična kultura sastavljena od *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* koja je u 1 ml sadržavala  $1 \times 10^7$  bakterijskih stanica.

#### **Metode rada**

U uzorcima UF-mlijeka pH vrijednost podešena je na pH vrijednost kontrolnog mlijeka (pH 6,7). Svi su uzorci pasterizirani pri 90°C/5 i ohlađeni do 45°C pa potom naciepljeni sa 2% (V/V) matične jogurtne kulture. Naciepljeno mlijeko inkubirano je pri 42°C do pojave čvrstog koagulama i sljedećih pH-vrijednosti koagulama: 4,6; 4,45 i 4,35.

Nađeno je potrebno vrijeme inkubacije naciepljenog mlijeka do postizanja navedenih pH-vrijednosti. Tijekom fermentacije, u pravilnim razmacima, praćene su promjene kiselosti i broja bakterija u naciepljenim uzorcima mlijeka (kontrolnim i istraživanim).

#### **Metode analiza**

Suha tvar u uzorcima mlijeka odredena je metodom sušenja do konstantne mase, a količina mineralnih tvari žarenjem uzoraka na 550°C do konstantne mase (Vajić, 1963). Količina proteina određena je formol-filtracijom (Vajić, 1963), laktosa titracijski Schoorl-Luffovom metodom (Vajić, 1963), a mast metodom Gerber (Vajić, 1963).

Promjene kiselosti praćene su mjeranjem pH-vrijednosti pH-metrom »KNICK» tip 647-1 i određivanjem titracijske kiselosti metodom Soxhlet-Henkel (Vajić, 1963).

Rast streptokoka i laktobacila u uzorcima mlijeka praćen je brojenjem kolonija izraslih na hidroliziranom mlijeko-agaru (Mašek, 1960), te standarnom Plate count agaru (Marth, 1978), primjenjujući za pripremu uzorka koji je nacijspljen na petrijevu zdjelicu IDF standard 117:1983. Nacijspljene ploče inkubirane su pri 37°C/72<sup>h</sup>.

### Rezultati rada i rasprava

Prosječni kemijski sastav UF-mlijeka s različitom količinom proteina prikazuje Tablica 1.

**Tablica 1. Prosječni kemijski sastav uzorka UF-mlijeka (n = 5)**

**Table 1. Average chemical composition of UF-milk samples**

UF-mlijeko UF-milk (Bjelančevine) (Proteins)	Besmasna suha tvar Solid non fat	Ukupna suha tvar Total solids	Mlječna mast Milk fat	Laktoza Lactose	Pepeo Ash	Proteini Proteins	Voda Water
(W/%)							
4,8	10	10,3	0,3	4,32	0,83	4,82	89,7
6,0	11,54	11,94	0,4	4,58	0,95	6,12	88,06
6,6	12,33	12,78	0,45	4,73	1,02	6,59	87,67

Povećanjem koncentracije proteina u uzorcima, povećava se i ukupna suha tvar kao i suha tvar bez masti (Tabl. 1). Koncentracija proteina, utvrđena analizom, nije u potpunosti jednaka željenoj, jer se u praksi rijetko postiže preciznost dobivena računskim putem.

U svim pokusima korištena je matična jogurtna kultura 2% (V/V) s približno jednakim brojem stanica u ml jer je, prema Mistry i Kosikowski (1985), vrijeme potrebno za postizanje odredene pH vrijednosti u retentatu, funkcija broja bakterijskih stanica u 1 ml inokulama.

Potrebno vrijeme inkubacije uzorka pri temperaturi 42 °C do pojave čvrstog koagulama i postizanja željenog pH, prikazano je u Tablici 2.

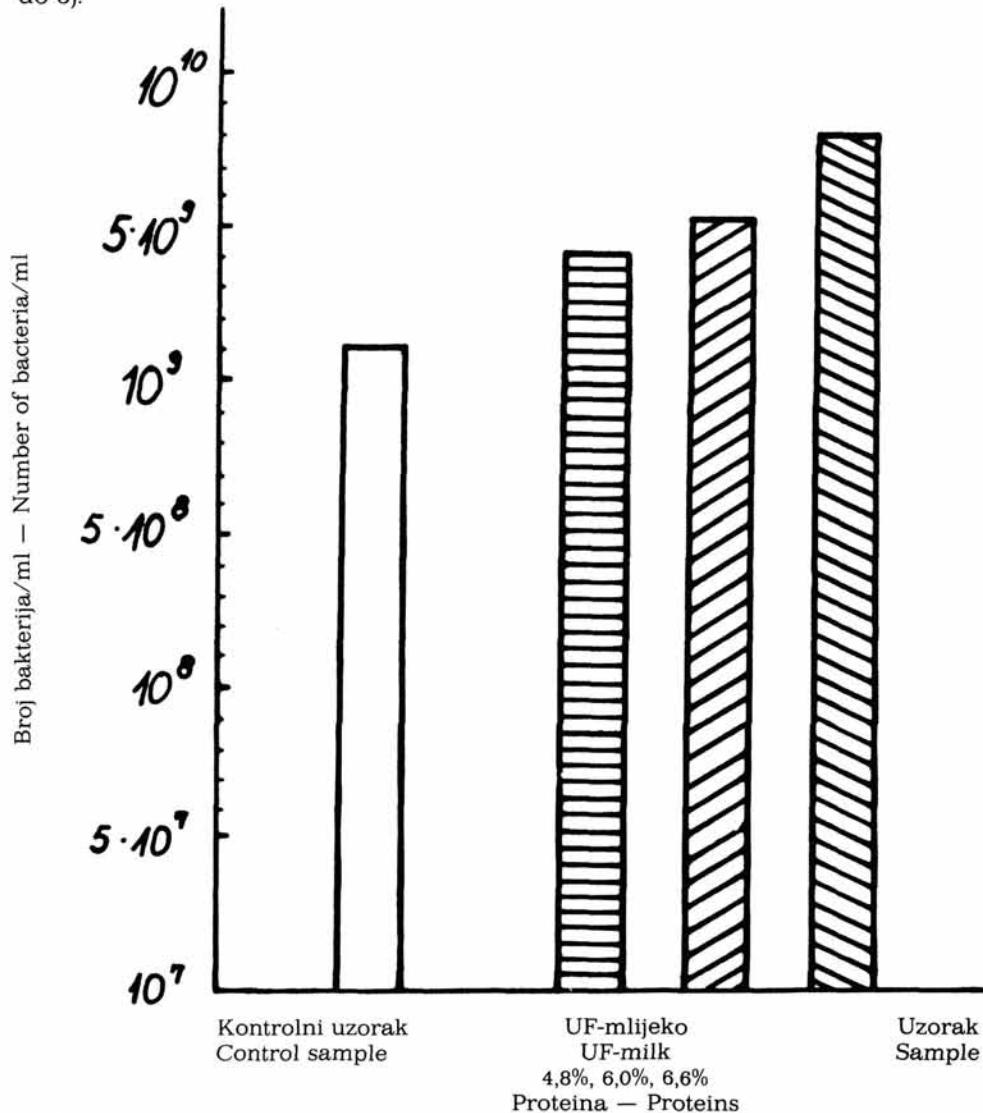
**Tablica 2. Trajanje inkubacije uzorka mlijeka do postizanja željenog pH koagulama: 4,6 i 4,45 i 4,35**

**Table 2. Duration of incubation of milk samples until attaining pH of coagulum (pH = 4,6; 4,45 and 4,35)**

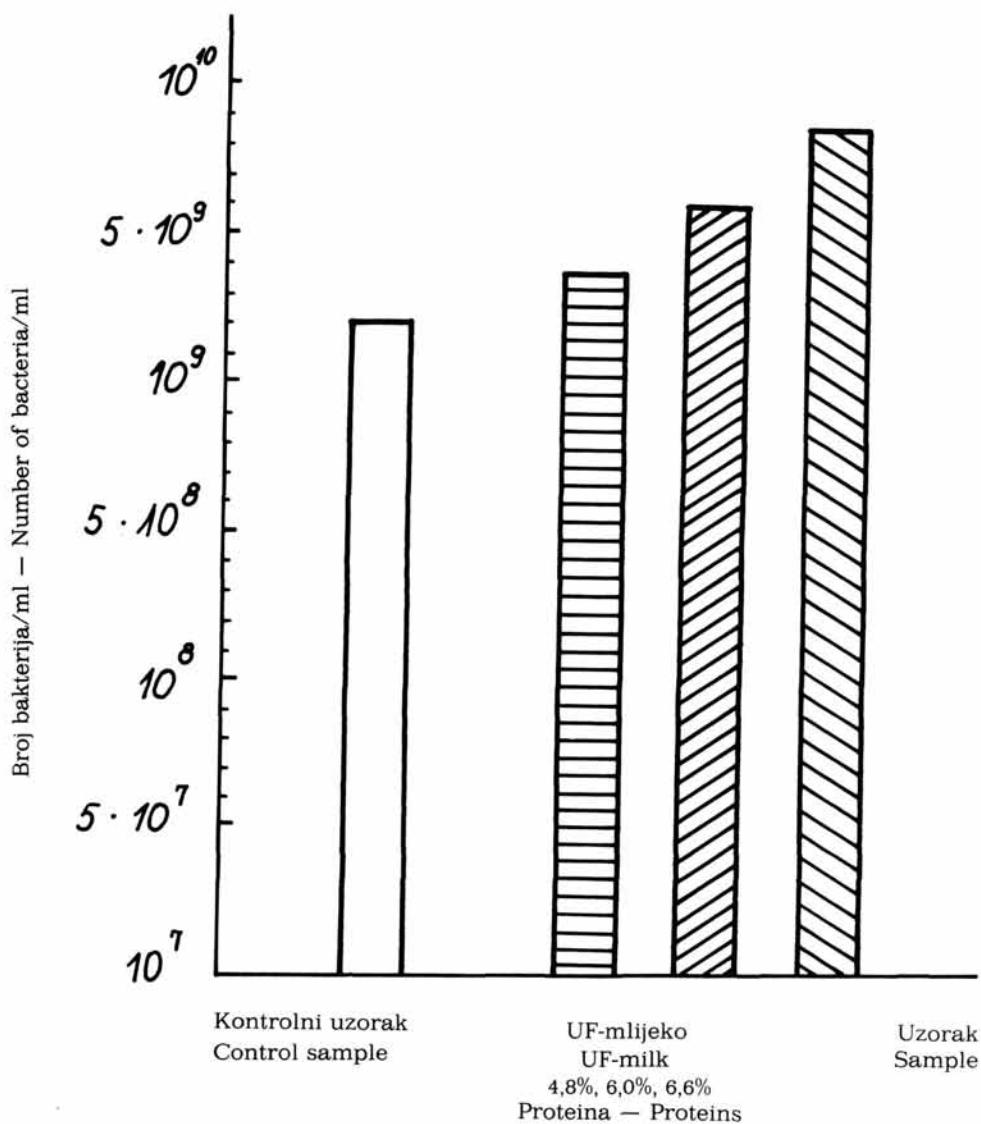
Uzorci mlijeka Milk samples		Trajanje inkubacije Duration of incubation (h, min)		
		pH = 4,6	pH = 4,45	pH = 4,35
Kontrolni uzorak Control sample		3,40	4,15	4,40
UF-mlijeko	4,8% proteina	4,05	4,40	5,10
UF-milk	6,0% proteins	4,25	5	5,25
	6,6%	4,45	5,20	5,40

Prema rezultatima istraživanja (Tabl. 2) vidljivo je da se porastom količine proteina u uzorcima UF-mlijeka (u odnosu na kontrolni uzorak mlijeka) produžava vrijeme inkubacije, osobito ako se želi postići niža pH vrijednost proizvoda tj. radne kulture za proizvodnju jogurta.

Rezultati praćenja rasta kulture za proizvodnju jogurta u retentatima mlijeka do postizanja željenog pH (4,6; 4,45 i 4,35) prikazani su histogramima 1 do 3).

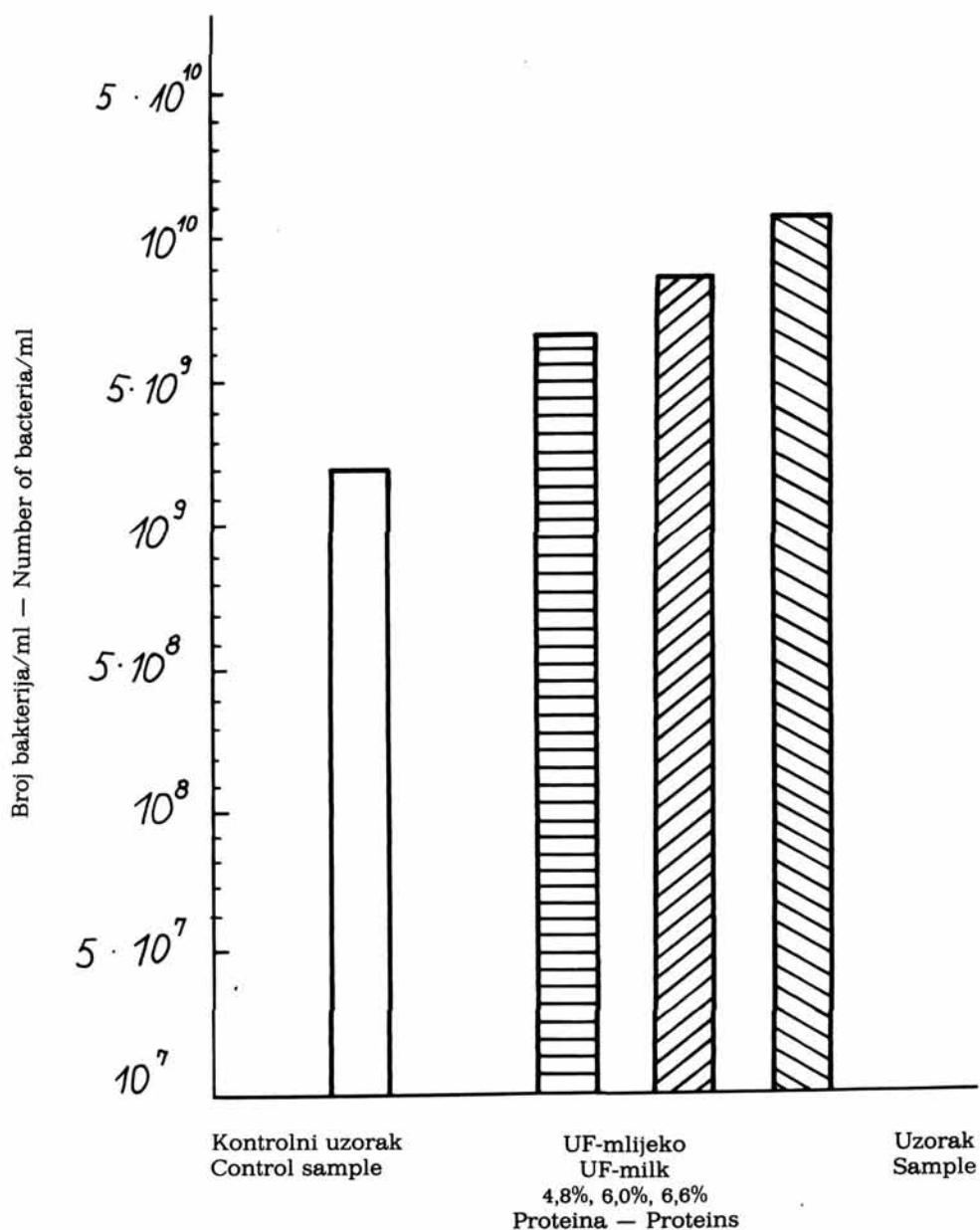


Histogram 1. Broj bakterija kontrolnog i UF-mlijeka fermentiranog do pH 4,6  
Histogram 1. Number of bacteria of control and UF-milk fermented to pH 4,6



Histogram 2. Broj bakterija kontrolnog i UF-mlijeka fermentiranog do pH 4,45  
Histogram 2. Number of bacteria of control and UF-milk fermented to pH 4.45

Iako je matična jogurtna kultura korištena za inokulaciju uzoraka sadržavala  $1 \times 10^7$  bakterijskih stanica/ml, broj bakterija u eksperimentalnim uzorcima mlijeka ovisio je o količini proteina u UF-mlijeku (Histogram 1, 2, 3). Tako je u uzorcima fermentiranim do bilo koje zadane pH vrijednosti koagulum (4,6; 4,45 ili 4,35), najmanji broj bakterija porastao u kontrolnim uzorcima mlijeka ( $1,2 \times 10^9$  bakt./ml;  $1,8 \times 10^9$  bakt/ml i  $1,9 \times 10^9$  bakt/ml), a najveći



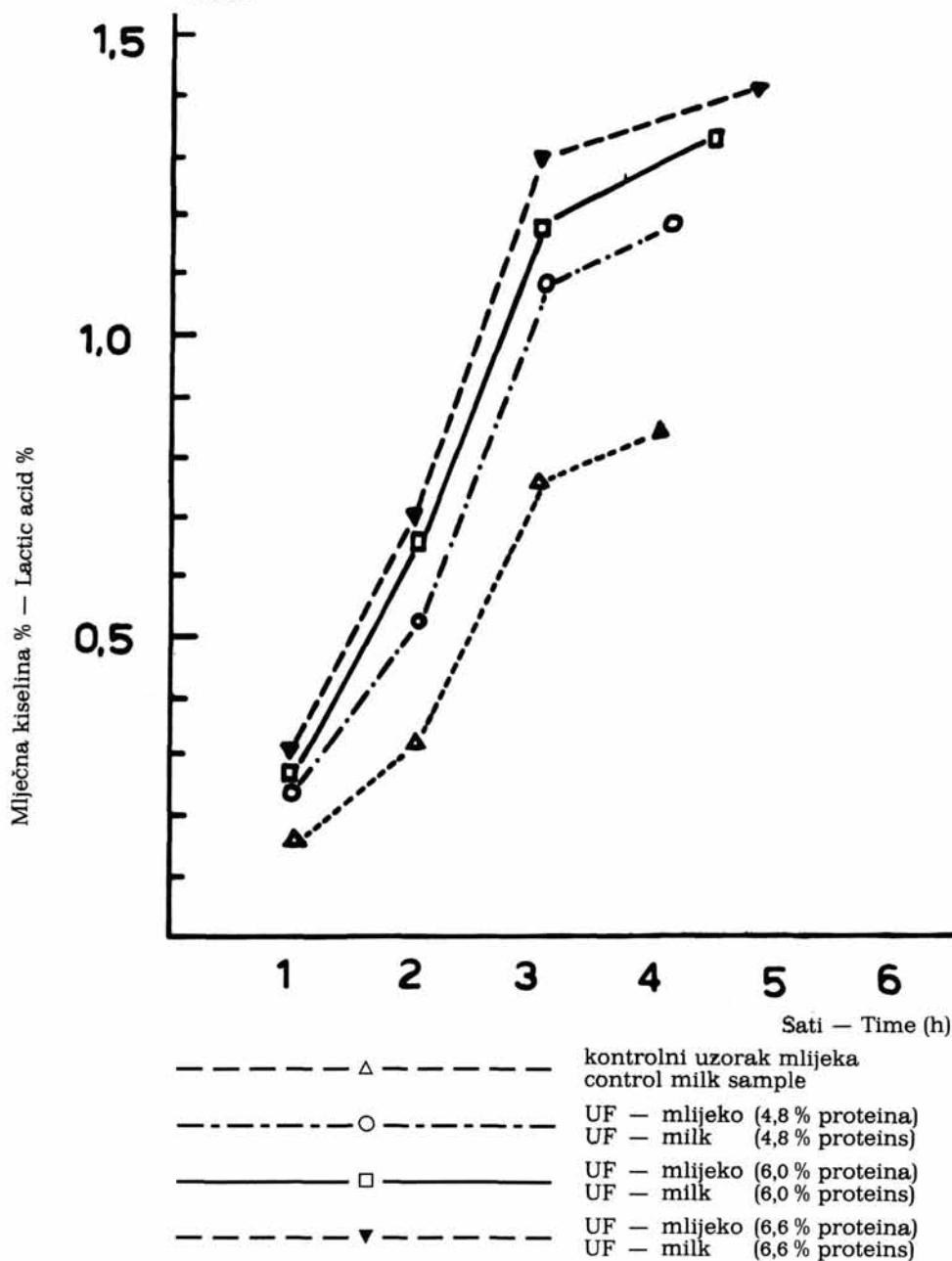
Histogram 3. Broj bakterija kontrolnog i UF-mlijeka fermentiranog do pH 4,35

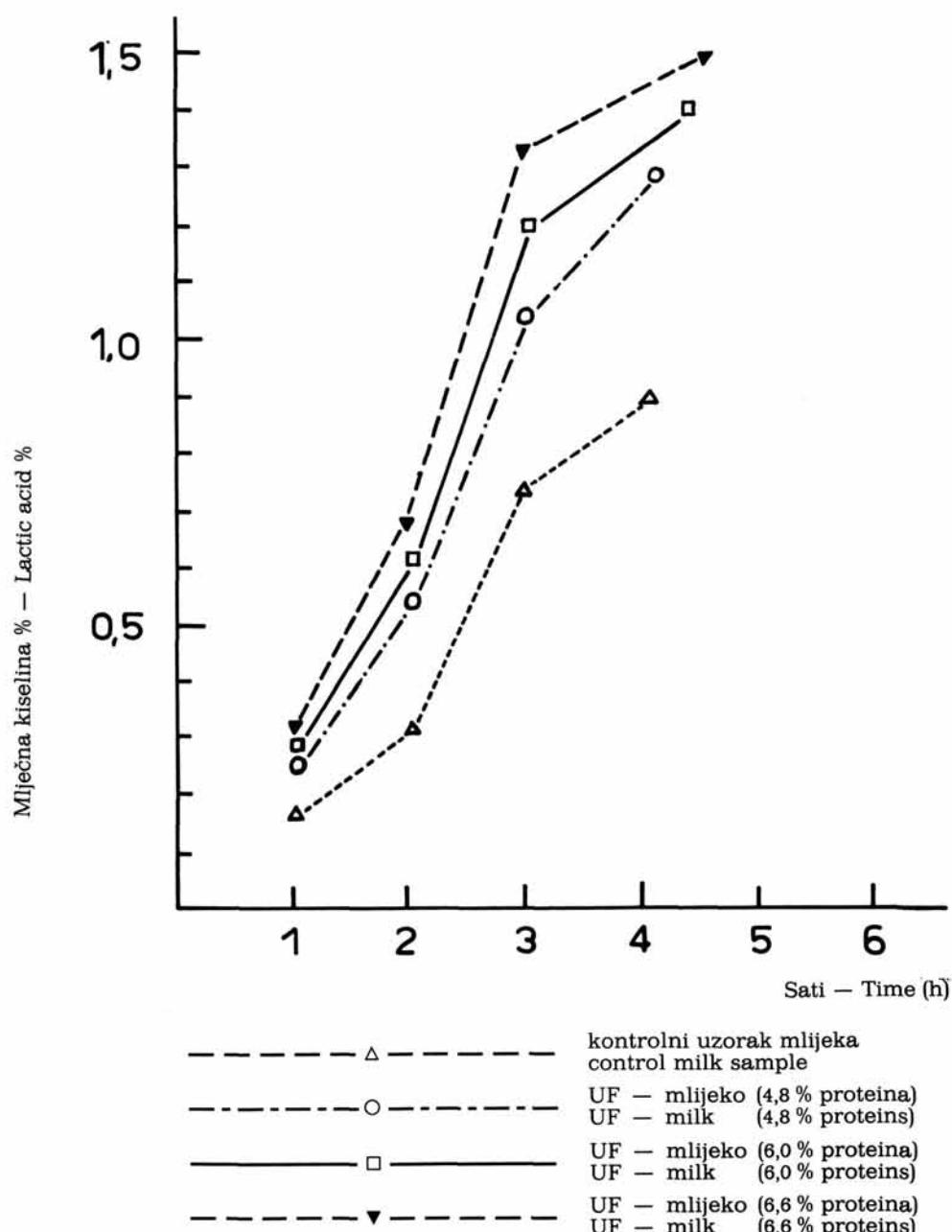
Histogram 3. Number of bacteria of control and UF-milk fermented to pH 4.35

broj bakterija u uzorcima UF-mlijeka s najvećom količinom proteina, odnosno u UF-mlijeku sa 6,6% proteina ( $7,7 \times 10^9$  bakt/ml;  $8,1 \times 10^9$  bakt/ml i  $1,1 \times 10^{10}$  bakt/ml) (histogrami 1 do 3)

Dijagram 1—3. Razvoj mlječne kiseline tijekom fermentacije kontrolnog i uzoraka UF-mlijeka.

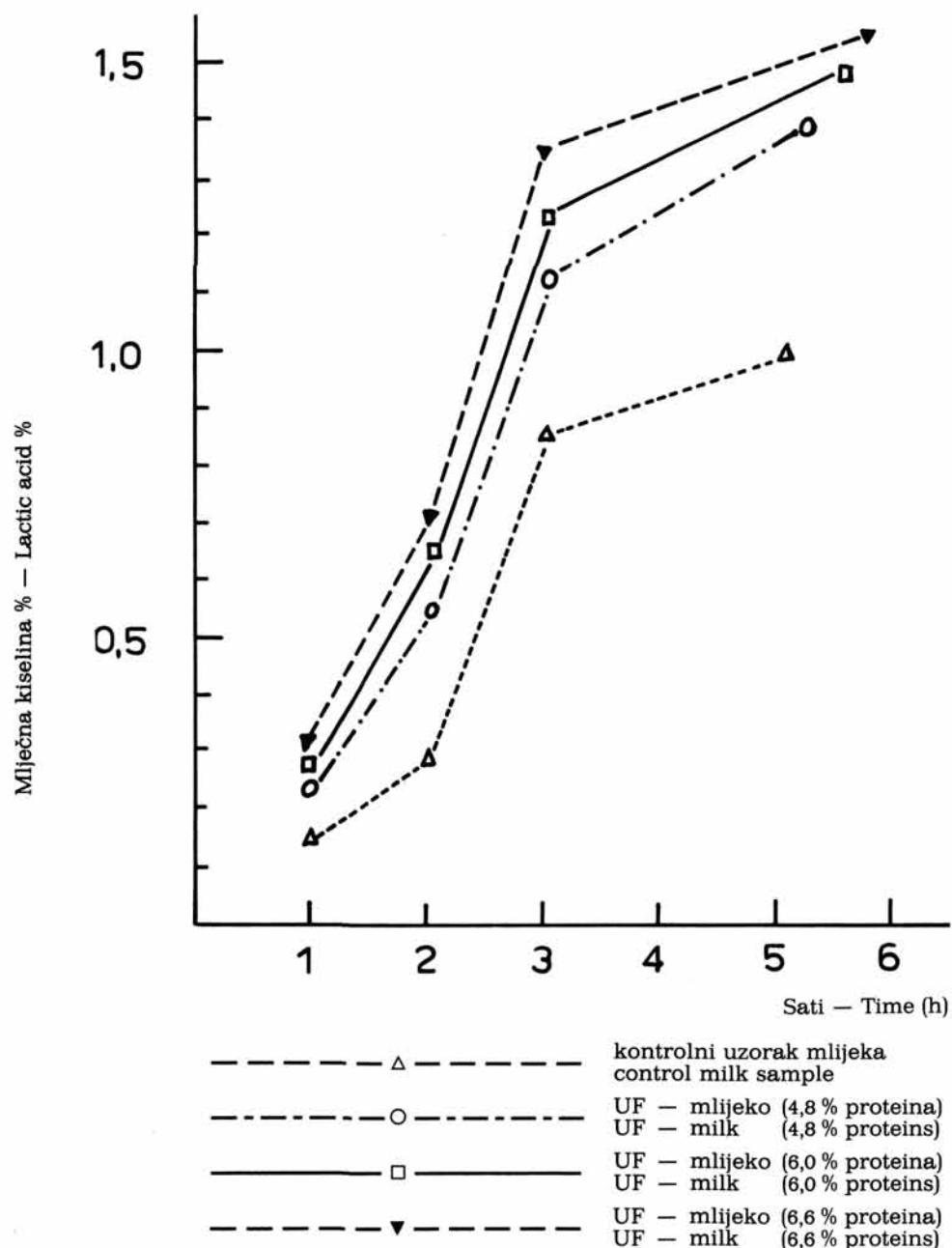
Diagram 1—3. Lactic acid development of control and UF-milk samples during fermentation





Dijagram 2. Fermentacija uzorka mlijeka do pH = 4,45

Diagram 2. Fermentation of milk samples to pH = 4.45



Dijagram 3. Fermentacija uzorka mlijeka do pH = 4,35

Diagram 3. Fermentation of milk samples to pH = 4.43

Slične rezultate, ali pri pokusima uzgoja mezofilne kulture u UF-mlijeku, dobili su i Mystry i Kosikowski (1985).

Kako je za ocjenu kakvoće kulture vrlo značajno da kultura sadrži što je moguće veći broj bakterija u ml, povoljno je kulturu za proizvodnju jogurta pripremati u ultrafiltracijom ugušenom mlijeku, jer se u UF-mlijeku razvio veći broj bakterija nego u kontrolnom mlijeku. Jogurtnu kulturu povoljno je proizvoditi u UF-mlijeku sa 6,6% proteina, a fermentaciju prekidati pri pH 4,35 jer je tada postignut najveći broj bakterijskih stanica.

Kako je prikazano dijagramima 1, 2 i 3, kontrolni uzorci najbrže postižu željenu pH vrijednost koagulama (4,6; 4,45 i 4,35), ali je količina proizvedene mlječne kiseline značajno manja od količine mlječne kiseline proizvedene u uzorcima UF-mlijeka s većom količinom proteina, jer proteini i netopljive soli kalcija i fosfora djeluju kao pufer (Yennes i Patton, 1959). Naime, ovi se sastojci mlijeka procesom ultrafiltracije koncentriraju, a njihova veća količina i većeg je puferskog kapaciteta (Brule i sur., 1974; Cowacevich i Kosikowski, 1979). Zbog toga je u uzorcima UF-mlijeka s većim puferskim kapacitetom potrebno duže trajanje inkubacije da se proizvede više mlječne kiseline za postizanje željene pH vrijednosti koagulama. Stoga, da bi se prevladao povećani puferski kapacitet UF-mlijeka i smanjilo trajanje inkubacije, vjerojatno bi trebalo koristiti veći postotak kulture za inokulaciju uzorka ili koristiti kulturu koja vrlo brzo i učinkovito proizvodi mlječnu kiselinu.

### Zaključak

Na temelju rezultata rada moguće je zaključiti:

- Povećanjem koncentracije proteina u uzorcima UF-mlijeka povećava se i ukupna suha tvar kao i suha tvar bez masti.
- Rast bakterijskih vrsta iz sastava kulture za proizvodnju jogurta bolji je u UF-mlijeku, nego u kontrolnom.
- Za postizanje zadane pH vrijednosti u uzorcima UF-mlijeka s većom koncentracijom proteina potrebno je duže trajanje inkubacije u usporedbi s inkubacijom kontrolnog mlijeka.
- Za uzgoj radne kulture povoljno je odabrati UF-mlijeko s 6,6% proteina, a fermentaciju prekinuti pri pH 4,35.

### *INFLUENCE OF HIGHER PROTEINS CONCENTRATION IN MILK ON GROWTH AND ACTIVITY OF YOGHURT STARTER CULTURES*

#### *Summary*

*The purpose of present study was to investigate the influence of ultrafiltered milk on growth and activity of yoghurt starter culture.*

*The samples of ultrafiltered milk (having different amounts of proteins) and control sample (milk) have been inoculated with 2% (V/V) yoghurt culture, and incubated (42° C) until pH:*

*4.6; 4.45 and 4.35*

*During the incubation the growth of yoghurt starter cultures and acidity of milk samples were determined. Results of investigations indicate that higher proteins' concentration in ultrafiltered milk prolonged incubation period. The number of cells/ml in ultrafiltered milk was also higher than in control milk. The rate of lactic acid formation in ultrafiltered milk was more intensive.*

*The maximum content of lactic acid (1.5%) was determined in samples of ultrafiltered milk having the highest amount of proteins.*

*Additional index words: Increased quantity of proteins in milk, Influence of growth and activity of yoghurt starter culture, Amount of lactic acid*

#### Literatura

- ATAMER, M., CARIĆ, M. i KULIĆ, LJ. (1987): Kvalitet jogurta dobivenog primenom ultrafiltracije, *Mlječarstvo*, **37** (6) 163—170.
- BRULE, G., MAUBOIS, Y. L. and FAQUANT, Y. (1974): *Le lait* **539**, 600—605.
- COWACEVICH, H. R. and KOSIKOWSKI, F. V. (1979): *Y. Dairy Sci.* **62**, 204—208.
- YENNES, R. and PATTON, S. (1959): *Principle of dairy chemistry*, John Wiley and Sons, New York, N.Y.
- MARTH, E. H. (1978): *Standard Methods for Examination of Dairy Prod.*, 14<sup>th</sup> ed. Amer. Publ. Health Assoc., Washington.
- MAŠEK, Y. i MAXA, V. (1960): Kontrola jakosti kultura, SNTL Praha.
- MISTRY, V. V. and KOSIKOWSKI, F. V. (1985): Growth of Lactic Acid Bacteria in Highly Concentrated Ultrafiltered Skim Milk Retentates, *J. Dairy sci.*, **68** 2536—2543.
- RAŠIĆ, J. Lj. (1973): Pravci razvoja tehnologije jogurta, *Mlječarstvo*, **23** (9) 202—204.
- RAŠIĆ, J. L. and KURMANN, J. A. (1978): *Yogurt*, Technical Dairy Publishing House, Copenhagen.
- SPECK, L. M. (1979): Yogurt qualities affected by starters and processing, *Dairy industries international* **3**, 5—7.
- VAJIĆ, B. (1963): *Poznavanje živežnih namirnica I*, Mlijeko i proizvodi od mlijeka, Zagreb.