

## PROIZVODNJA ACIDOFILNOG MLJEKA U ZAGREBAČKOJ MLJEKARI

Slavica ŠVIGIR - VARGA  
Zagrebačka mljekara, Zagreb

Srednja vrijednost normalnog sastava bakterijalne flore probavnog trakta u gramu fecesa čovjeka izražene u logaritmima po Smithu i Grabbu jest:

E coli	Clostridium perfringens	Streptococcus	Bacteroides	Lactobacillus
6,7	3,2	5,2	9,7	8,8
apsolutni brojevi				
8,451.000	3010	301.000	8,451.000.000	903,090.000

Kad se normalni sastav bakterijalne flore poremeti uzrokom neke bolesti u korist truležnih i patogenih mikroba, nastaje izmjena reakcije sredine te dolazi do raznih oboljenja u probavnom traktu, ili druga sekundarna oboljenja čovjeka i životinja. Radi toga, već se vrlo rano počelo proučavanjem obli-gatorne - normalne mikroflore probavnog trakta čovjeka s namjerom, da se kod pojave disbakterioze ta mikroflora regulira. Daljnjim ispitivanjima se dokazalo, da se s dijetom mlječno - kiselim proizvodima može otkloniti iz crijeva gram negativna flora i zamijeniti gram pozitivnom, koja se uglavnom sastoji iz mlječno - kiselih bakterija. Moro i Tissier su godine 1900. izolirali iz fecesa dojenčadi *Lbc. acidophilus* i *Lbc. bifidus*.

Kondi i Belonovskij pokušali su aklimatizirati *Lbc. bulgaricus* u probavnom traktu i ustanovili su, da taj bacil, za razliku od *Lbc. acidophilusa* nema sposobnosti preživljavanja, tj. stvaranja mlječne kiseline u intestinalnom traktu.

Obrascov (1904), Mereškovski (1905-6) i Gart (1910) prvi su upotrebili *Lbc. acidophilus* kao terapijski preparat za liječenje poremećaja probavnog trakta i istakli njegovu biološku vrijednost i reguliranje mikroflora crijeva. Postigli su odlične rezultate pri liječenju akutnih i kroničnih kolitisa, enterokolitisa, disenterije, dispepsije itd. djece, kao i mladih životinja.

Iako je *Lbc. acidophilus* otkriven 5 godina prije *Lbc. bulgaricus*, on nije proučavan gotovo 20 godina. Razlog je u tome, što su prvi izolirani sojevi, imali vrlo slabu gotovo nikakovu sposobnost acid-precipitacije bjelančevina mlijeka. Godine 1922. Amerikanci su uspjeli dobiti sojeve *Lbc. acidophilusa*, koji su brzo koagulirali mlijeko i od tada taj se bacil počeo primjenjivati u proizvodnji mlječno - kiselih proizvoda, tj. kao dijetetski proizvod.

Redžeri i Čepelin su god. 1922. razradili tehnologiju proizvodnje dijetetskog mlječno - kiselog proizvoda, nazvanog acidofilnim mlijekom (*Acidophilus milk*). Vrijeme grušanja je bilo 24 sata i dulje. Kvaliteta tog mlijeka nije bila zadovoljavajuća, jer je tako dugo zrenje omogućavalo razvoj eventualno svih ostalih nepoželjnih bakterija.

Hlebnikova (1944), Gibšman i Bruk prvi puta su u klinikama aplicirali acidofilnu pastu kod liječenja inficiranih rana.

God. 1951. pa sve do danas prof. dr. Kruna Tomić-Karović, Zagreb bavi se proučavanjem djelovanja *Lbc. acidophilusa* kao preventivno-dijetetskog i terapijskog preparata za razne bolesti. Ispitivala je in vitro na bakterijskim hranilištima, zatim prešla na ispitivanje s lab. životinjama. Radila je pokuse s pacijentima na urologiji, otorinolaringologiji, kirurgiji, pedijatriji, kod zaraznih bolesti, internoj klinici i dr. i u suradnji s drugim liječnicima postigla zapažene rezultate. U početnoj fazi proučavanja, *Lbc. acidophilus* je aplicirala samo za probavne smetnje. Od godine 1952. bavi se antibiotskim djelovanjem na bakterije i dokazuje da laktocidin antibiotik, kojeg producira *Lbc. acidophilus*, dolazi iz probavnog trakta u krvnu struju na mjesto upale i tamo djeluje inhibitorno, zapravo baktericidno. Utvrdila je, da to mlijeko djeluje inhibitorno na uzročnike difterije, *Streptococcus haemolyticus*, *Pneumococcus*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *E. coli*, *Shigelle*, *Salmonelle*, te neke sojeve *Proteusa*. Također je ispitivala vitaminsku vrijednost *Lbc. acidophilusa* i dokazala, da on producira vitamine B-kompleksa, folnu i folničnu kiselinu, koji su faktori rasta i sudjeluju kod svake diobe stanica i stvaranja krvi (vitamin hematopoeze).

Skorođumova je god. 1954. predložila novi preparat acidofilno-kvaščevo mlijeko za liječenje tbc-a. God. 1956. Schmidt i Burbah preporučuju bijogurt, koji se sastoji od kulture *Lbc. acidophilusa* i *Str. lactis tette*. Danas postoji čitav niz mlječno-kiselih proizvoda sa *Lbc. acidophilusom* u kombinaciji s drugim bakterijama, kao: acidofilin, acidofilna prostokvaša, acidofilna pasta, acidofilni tvarog itd.

Također se prave pokusi s direktno oralnom aplikacijom *Lbc. acidophilus* liofiliziranog, ili metodom centrifugiranja i sušenja u obliku tableta, kao zamjena za acidofilno mlijeko. Te pokuse radi naš laboratorij u suradnji s dr. Tomić-Karović. Taj bi proizvod imao mogućnost transportiranja na veće udaljenosti, produžio bi se »keeping quality« i imao bi sigurniju bakteriološku vrijednost kod aplikacija za teže bolesnike i djecu (dojenčadi).

Acidofilno je mlijeko, kako je naprijed izneseno, zbog svog dijetetskog i terapijskog djelovanja našlo svoje opravdanje u industrijskoj proizvodnji Zagrebačke mljekare, u svrhu proširenja asortimenta dijetetsko-mlječno-kiselih proizvoda.

Taj je novi proizvod dobio ime acidofil. S proizvodnjom se počelo 7. V 1969. Proizvod se dva tipa acidofilnog mlijeka, i to krute konzistencije — termostatni postupak i tekući tip sa zrenjem u duplikatorima — rezervoarni postupak, za potrebe dječjih bolnica, klinika i dječjih domova.

Acidofilno mlijeko proizvodi se koaguliranjem termički obrađenog mlijeka čistim kulturama *Lbc. acidophilusa*.

Čisti sojevi aktivnog *Lbc. acidophilusa* dobiju se izoliranjem iz fecesa čovjeka, životinje i mlijeka. Kod tog izoliranja, važno je, da ti sojevi imaju svojstvo preživljavanja u probavnom traktu, visoku antibiotsku aktivnost, sposobnost koaguliranja mlijeka tj. obrazovanje mlječne kiseline, koja indicira precipitaciju bjelanjčevina mlijeka, te stvaranje vitamina B-kompleksa, folne i folnične kiseline.

Postupci izoliranja mogu se izvesti metodom obogaćivanja (putem nekoliko pasaža) u sterilnom mlijeku, ili neposrednim zasijavanjem fecesa na hranivu podlogu. Kad *Lbc. acidophilus* kroz 9—10 pasaža dominira nad ostalom mikroflorom probavnog trakta, znak je, da taj izolirani soj ima antibiotsku i biološku vrijednost i da se može upotrebljavati u preventivne i terapijske svrhe. Da se izoliranim sojevima povisi antibiotska aktivnost i intenzivnije

stvaranje mlječne kiseline sojevi se obogaćuju vitaminima, hormonima, mineralnim tvarima i dr. Sojevi se održavaju u sterilnom mlijeku sa čestim pre-  
cjepljivanjem i čestom pasažom. Čuvanje tih sojeva mora biti na 4—8° C. Test  
sposobnosti koagulacije i obrazovanja kiseline vrši se s 5 % kultura *Lbc. aci-  
dophilus* na 37—40° C kroz 10 sati, s dobivenom kiselosti od 45—55° SH, ili  
kroz 24 sata s 85—100° SH kiselosti.

*Lbc. acidophilus* je gram pozitivni štapić, vrlo blizak po morfološkim,  
kulturelnim i biokemijskim svojstvima *Lbc. bulgaricusu*. Štapić je dužine  
1,5—6  $\mu$ , a širine od 0,6—0,9  $\mu$ . To je fakultativni anaerob, asporogen je i  
nepokretan. Njegov je optimalni razvoj kod pH 6,1—6,8, a krajnji pH 4,5—4,8.  
Dobro se razvija u neutralnoj i lužnatoj reakciji. Optimalna je temperatura  
razvoja 37—40° C, max. 48° C, a min. 20—22° C. Biokemijska mu je aktivnost  
u sposobnosti fermentacije laktoze u mlječnu kiselinu uz stvaranje u malim  
količinama mravlje, maslačne i octene kiseline. Osim laktoze fermentira glu-  
kozu, saharozu i maltozu, a rjeđe salicin, manit i rafinozu. Na hranivim pod-  
logama obrazuje sitne, nepravilno okrugle na ivicama izreckane, nitaste s dija-  
metrom 0,5 mm kolonije. Indol i H<sub>2</sub>S ne producira.

Kulturelna i biokemijska svojstva *Lbc. acidophilusa* i *Lbc. bulgaricusa*  
komparativno su prikazana u ovoj tablici:

	<i>Lbc. acidophilus</i>	<i>Lbc. bulgaricus</i>
optimalna temperatura razvoja	37 — 38° C	40 — 45° C
previranje maltoze	da	ne
rast na pH 8,0	da	ne
rast pri konc. fenola 1 : 250	da	ne
rast pri konc. žučnih soli 20 %	da	ne
2 % konc. NaCl	da	ne
antibiotička aktivnost	da	ne

### Bitne karakteristike industrijske proizvodnje acidofilnog mlijeka

Proizvodnja se sastoji iz ovih faza:

odabiranje sirovine, mehanička i termička obrada sirovine, priprema i  
upotreba čistih kultura *Lbc. acidophilus*, inokulacija, punjenje, inkubacija,  
predhlađivanje, hlađenje, skladištenje, distribucija i prodaja.

**Odabiranje sirovine** — upotrebljava se svježje, nepatvoreno kravlje mli-  
jeko odgovarajućih organoleptičkih, fizikalno-kemijskih svojstava s najma-  
nje 8,5 % bezmasne suhe tvari.

Mlijeko mora biti čisto (I grupa, proba na reduktazu), zdravo (leukocitna  
i bromtimolova proba), te negativno na prisustvo antibiotika, bakteriofaga,  
sporogenih bakterija, pesticida i desinfekcionih sredstava.

Nužno je vršiti test ispitivanja aktivnosti mlijeka za čiste kulture i mlje-  
čno-kiseli proizvod.

**Tehnološki proces proizvodnje** — Mlijeko se pročišćuje u klarifikatoru,  
homogenizira se kod najmanje 180 atm., termički obrađuje na 90—95° C / 5—10',  
hladi na 42—45° C, inokulira s tehničkom kulturom smjese čistih sojeva  
*Lbc. acidophilus* 2—5 %, puni u plastične čašice od 200 ccm i inkubira  
na 37—40° C za 5—6 sati. Nakon koagulacije prekida se zrenje, vrši pred-  
hlađivanje gruš a vozi u hladnjaču na drugo zrenje na 4—8° C. Fizičko zrenje  
traje najmanje 10 do 15 sati. Proizvod se skladišti kod 4—6° C i ne smije ga  
se držati duže od dva dana, jer aktivnost acidofila rapidno opada, a i kiselost  
jako raste.

Kod skladištenja aktivna mikroflora smanjuje se:

- pri temperaturi od 8° C za 24 sata 50 %
- pri temperaturi od 8° C za 48 sati 75 %
- pri temperaturi od 8° C za 72 sata 90 %

Trajnost proizvoda je samo dva dana.

Laboratorijska matična i tehnička kultura sastoji se od čistih sojeva *Lbc. acidophilus* smjese sluzastih i nesluzastih oblika.

Za laboratorijske i matične kulture potrebno je sterilizirati mlijeko na 120° C / 15 min., a za tehničku kulturu termička obrada na 90 — 95° C / 30 min. Gotova kultura treba imati kiselost od 50 — 60° SH, odgovarajuću mikrobiološku sliku, aktivitet i antibiotsku aktivnost. Za proizvodnju čistih kultura, kao i acidofilnog mlijeka mora biti potpuno odvojena, zatvorena linija s uređajima koji osiguravaju savršeno održavanje čistoće i potrebnih higijenskih uvjeta. Kod svih operacija gdje mlijeko dolazi u dodir sa zrakom moraju biti baktericidne lampe.

Čiste kulture kao i gotovi proizvod, te čitava tehnološka linija stalno su pod strogom bakteriološkom kontrolom po Pravilniku za promet živežnih namirnica. Vrš se ove bakteriološke analize:

1. određivanje mikrobiološke čistoće kulture i proizvoda;
2. ustanovljavanje odnosa komponenata u smješanju čistoj kulturi i u proizvodu;
3. kontrola razvoja tehnički važne mikroflora - aktivitet, količina živih stanica u 1 ccm svježeg acidofila;
4. kontrola efikasnosti termičke obrade mlijeka za čiste kulture i proizvod;
5. stalna kontrola pranja i dezinfekcije uređaja.

Gotovi proizvod acidofil mora imati ova svojstva:

Za termostatni postupak:

boja — bijela do bijelo-žućkasta, miris — specifičan za mlječno-kisele štapiće, te svojstven za mlječno-kiselo vrenje, okus — prijatno osvježavajući, kiseli okus, konzistencija — jednolično homogena, nakon miješanja slična konzistenciji tekućeg vrhnja, kiselost — 44 — 46° SH max. do 55° SH.

Svojstva:

mora imati antibiotsku aktivnost, ne nižu od razrjeđenja od 1 : 2 i 1 : 4 (test sa *E. coli*), odgovarajući sastav vitamina i sposobnost preživljavanja u probavnom traktu. Količina živih stanica mora biti u 1 ccm svježeg acidofilnog mlijeka, ne manja od 2—3 milijarde.

### Pogreške acidofila

Ne smije sadržavati mlječno-kisele streptokoke i diplokoke, jer mlijeko dobiva specifični okus na kiselo vrhnje i jako snižuje antibiotsku vrijednost. Također ne smije biti prisutan *Bac. subtilis*, jer stvara maskirani gruš i antagonistički djeluje na razvoj *Lbc. acidophilus*.

Štetna mikroflora su također termorezistentni kiselo-mlječni štapići. Oni razvijaju previsoku kiselost i tako mlijeko dobiva metalni okus.

### Primjena acidofila jest:

- djeca do 2 godine 1 čašu dnevno u tri obroka
- ostali tri čaše u tri obroka

Acidofilno mlijeko prodaje se samo u specijaliziranim prodavaonicama sa strogim temperaturnim režimom, po cijeni od 1,50 nd za 1 čašicu (200 ccm).