

Primjena starter kultura *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus* i *Staphylococcus xylosus* u proizvodnji kulena

Nežak¹, J., N. Zdolec², S. Vidaček³, N. Marušić³, H. Medić³

znanstveni rad

Sažetak

Tijekom procesa proizvodnje kulena praćene su mikroklimatske, fizikalno-kemijske i mikrobiološke promjene na uzorcima kulena. Dobiveni rezultati ukazuju na opravdanost korištenja starter kultura, koje pH vrijednost spuštaju do željenih vrijednosti, na što ukazuju konačne senzorske ocjene. Primjenom starter kultura postigla se dominacija tehnološki i higijenski opravdane mikroflore koja doprinosi unapređenju kvalitete, sigurnosti proizvoda i higijenskom vođenju procesa zrenja kulena. Ovim radom je ukazano na prednosti i eventualne nedostatke proizvodnje kulena sa starter kulturama, u odnosu na tradicionalnu proizvodnju.

Ključne riječi: kulen, fizikalno-kemijske, mikrobiološke i mikroklimatske promjene, starter kulture

Uvod

Kulen je izvorni domaći proizvod od mesa kojem je nastanak i razvoj vezan uz poljoprivredna gospodarstva Slavonije. U pogledu hranidbene vrijednosti to je visoko vrijedan proizvod od mesa s velikim udjelom bjelančevina, a razmjerno malom količinom vode, što predstavlja bogat izvor vrijednih bjelančevina i kalorija (Petričević i sur., 2010).

Prisutnost mikroorganizama u mesu kao neizbježnog čimbenika u proizvodnji fermentiranih kobasica, potakla je mnoge istraživače da prouče djelovanje i sastav native mikroflore na proces zrenja, što je osnova razvoja starter kultura (Kožačinski i sur., 2008; Zdolec i sur., 2009; Frece i sur., 2010; Babić i sur., 2011; Alagić i sur., 2011). Starter kulture svojom biokemijskom aktivnošću uzrokuju

promjene pH mesa, pospješuju razvoj boje, konzistencije, okusa, mirisa, općenito utječu na nastanak karakterističnih svojstava proizvoda. Pored poželjnog djelovanja neke mikrobne kulture mogu uzrokovati kvarenje proizvoda, a mogu se naći i mikroorganizmi štetni za zdravlje potrošača. Tradicionalna proizvodnja kulena temelji se na zrenju nadjeva autohtono prisutnom mikroflorom ili modulacijom s proizvodima dobre kvalitete (Petričević i sur., 2010).

U starter kulturama namijenjenim proizvodnji brzo fermentiranih kobasica u SAD-u prevladavaju bakterije mliječne kiseline rodova *Lactobacillus* i *Pediococcus*. Njihovom primjenom proces proizvodnje je skraćen. Zbog visokih temperatura zrenja (30-45 °C) nastaje izrazito kiseli okus proizvoda (Buckenhüskes, 1994; Weber,

1996; Čavlek, 1997; Medić i sur., 2009; Feiner, 2006). U Europi se u te svrhe koriste bakterije rodova *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Micrococcus* i *Staphylococcus*. Tijekom procesa zrenja koji se odvija na znatno nižim temperaturama dolazi do postupnog pada pH vrijednosti, što doprinosi stabilnosti proizvodnje i nastanka proizvoda boljih svojstava. Primjena starter kultura osigurava dominantan rast u odnosu na kontaminantnu mikrofloru koja može biti prisutna u svježem mesu, što jamči sigurnost proizvoda (Zdolec i sur., 2008; Bonomo i sur., 2011). Kao starter kultura koristi i bakterija *P. pentosaceus*, posebno za proizvodnju trajnih kobasica jer ima nižu optimalnu temperaturu od *P. acidilactici* (Raccach, 1981; Feiner, 2006), pa proizvodi mliječnu kiselinu mnogo sporije i pri nižim temperaturama fermentacije, od 15 do 27 °C. Bakterijski

¹ dr. sc. Jadranko Nežak, PIK Vrbovec d.d., Zagrebačka 148, 0340 Vrbovec, Hrvatska

² dr. sc. Nevijo Zdolec, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog podrijetla, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska

³ dr.sc. Sanja Vidaček, docent; Nives Marušić, dipl. ing.; dr. sc. Helga Medić, izvanredni profesor Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska; e-mail hmedic@pbf.hr

Tablica 1. Promjena mase uzoraka kulena bez ili sa starter kulturama tijekom procesa proizvodnje

Table 1. Masses of kulen samples with or without starter cultures during the processing

PROIZVODNJA U DANIMA	BEZ STARTER KULTURA			SA STARTER KULTURAMA		
	MASA	PROMJENA MASE		MASA	PROMJENA MASE	
	(g)	(g)	%	(g)	(g)	%
1	2190	-	-	2200	-	-
2	2104	86	3,9	2132	68	3,09
3	2026	164	7,48	2064	136	6,18
4	1978	212	9,68	2022	178	8,09
5	1934	256	11,68	1984	216	9,81
6	1907	283	12,88	1962	238	10,78
7	1885	305	13,9	1941	259	11,77
8	1868	322	14,70	1920	280	12,72
9	1844	346	15,79	1898	302	12,72
10	1829	361	16,47	1887	313	14,22
11	1814	376	17,16	1876	324	14,70
12	1779	411	18,73	1866	334	15,18
24	1638	551	25,20	1748	452	20,54
40	1528	662	30,20	1555	645	29,30
60	1366	824	37,60	1425	775	35,20
90	1305	885	40,40	1324	876	39,81
120	1265	925	42,23	-	-	-

Tablica 2. Promjene promjera uzoraka kulena bez ili sa starter kulturama tijekom procesa proizvodnje

Table 2. Changes to diameter of kulen samples with or without starter cultures during the processing

PROIZVODNJA U DANIMA	BEZ STARTER KULTURA			SA STARTER KULTURAMA		
	PROMJER	PROMJENA PROMJERA		PROMJER	PROMJENA PROMJERA	
	(mm)	(mm)	%	(mm)	(mm)	%
1	126,00	-	-	118,00	-	-
2	121,00	5,00	3,96	116,00	2,00	1,69
3	120,70	5,30	4,20	115,00	3,00	2,54
4	120,50	5,50	4,36	113,50	4,50	3,81
5	120,00	6,00	4,76	113,00	5,00	4,23
6	119,70	6,30	5,00	112,50	5,50	4,66
7	119,30	6,70	5,31	112,00	6,00	5,08
8	119,00	7,00	5,55	111,50	6,50	5,50
9	118,50	7,50	5,95	111,00	7,00	5,93
10	118,20	7,80	6,19	110,70	7,30	6,18
11	118,00	8,00	6,34	110,50	7,50	6,35
12	117,50	8,50	6,74	110,30	7,70	6,52
24	115,20	10,80	8,57	108,40	9,60	8,13
40	112,80	13,20	10,47	106,80	11,20	9,49
60	109,80	16,20	12,85	103,60	14,40	12,20
90	107,90	18,10	14,36	101,80	16,20	13,72
120	107,20	18,80	14,92	-	-	-

sojevi iz roda *Pediococcus* se uspješno primjenjuju u proizvodnji fermentiranih mesnih proizvoda i zbog toga što nisu pokazali nikakve nepoželjne karakteristike koje bi mogle negativno utjecati na kvalitetu proizvoda (Medić i sur., 2009; Vatanyoopaisarn i sur., 2011).

Iako su starter kulture iz roda *Pediococcus* uvedene prvenstveno zbog njihovih fermentativnih karakteristika, s vremenom se kao njihova poželjna karakteristika pokazala i sposobnost inhibicije nepoželjnih mikroorganizama (Daly i sur., 1973; Yuksegdag i Aslim, 2010). Bakterijski sojevi iz roda *Pediococcus* su se pokazali vrlo učinkovitim u inhibiranju nepoželjnih mikroorganizama, uključujući *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, te vrste iz rodova *Salmonella*, *Escherichia* i *Bacillus*, te plijesni. Inhibicijsko djelovanje ovisi o bakterijskoj vrsti i soju, temperaturi inkubacije te koncentraciji i brzini nastajanja mliječne kiseline (Raccach, 1981; Smith i Palumbo, 1981; Vatanyoopaisarn i sur., 2011).

Među problemima koji karakteriziraju suvremenu proizvodnju kulena, a od posebnog su interesa za ovu vrstu proizvoda, treba ukazati na izučavanje procesa konverzije sirovog nadjeva u zreli proizvod. Zato je poznavanje čimbenika koji utječu na odvijanje osmotsko-difuzionih procesa koji se zbivaju u nadjevu kulena od presudnog značaja. U literaturi, dakako, postoje podaci o karakteru i toku ovih procesa u fermentiranim kobasicama (Feiner, 2006; Toldrá, 2008), međutim njihov je nedostatak što u cijelosti nisu primjenjivi na uvjete proizvodnje kod nas. Zbog toga smo se odlučili ispitati kako na odvijanje osmotsko-difuzionih procesa u nadjevu i na svojstva proizvoda utječe dodatak starter kultura, u odnosu na tradicionalnu proizvodnju bez dodanih starter kultura, dakle nativnom florom.

Materijal i metode

Za proizvodnju kulena koristi se svinjsko meso i svinjsko masno tkivo dobiveno iskoštavanjem ohlađenih svinjskih polovica. Pogodno je meso većine pasmina fiziološki zrelih svinja, osobito križanaca duroca, landrasa i jorkšira, bogato intramuskularnom masti neophodnom za odvijanje lipolitičkih procesa, bez kojih kod kulena ne bi došlo do razvoja prepoznatljivog okusa i mirisa.

Iskošteno svinjsko meso buta i leđa, dobijemo tako da iz njega što potpunije odstranimo naslage masnog i vezivnog tkiva te limfne žlijezde i krvne žile. Čvrsto masno tkivo pogodno za proizvodnju kulena je s anatomskih pozicija vrata, podbratka i leđa. Tako pripremljeno meso se nakon cijede- nja zamrzava do $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ u vremenu 24 – 36 h. Pri tome gubi 7 – 9% mesnog soka tako da prije usitnjavanja sadrži 52 – 54% vode. Masno tkivo zamrzava se do $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$. U pripremi kulena korišteni su još nitritna sol ("Derma" Varaždin), glukoza ("Wiberg" Austrija), laktoza ("Wiberg" Austrija), starter kulture mikroorganizama (Biobak K. "Wiberg" Austrija), začini (slatka i ljuta crvena mljevena paprika, bijeli luk) te svinjska slijepa crijeva.

Za pripremu nadjeva korištena je namrznuta osnovna sirovina, temperatura $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ koja se usitnjava u vuku "treif" Njemačka, rezne ploče 12 mm, a 20% na 8 mm. Tako usitnjena sirovina stavlja se u mješalicu "VELATI" Italija u kojoj se može miješati 100 kg namrznutog nadjeva. Tvrdo masno tkivo temperature $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ usitnjava se na kuteru KRAMER-GRÄBE (Njemačka 200 l) do veličine 5-6 mm. Tako obrađeno masno tkivo stavlja se u mješalicu uz dodatak začina, aditiva, šećera sa ili bez starter kultura i ostalog miješa se pod sniženim tlakom dok masa postane homogena i ljepljiva. Temperatura nadjeva na kraju miješanja je 0 do $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tako pripremljeni nadjev prevozi se kuterskim kolicima u punilicu Njemačkog proizvođača "VE-

MAG" H.P.15, koja radi pod sniženim tlakom. Tehnološki postupak pripreme nadjeva tekao je isto, ali odvojeno sa starter kulturama i bez.

Korištene su mješovite starter kulture sastava: *Pediococcus pentosaceus* $> 6 \times 10^9/\text{g}$, *Staphylococcus carnosus* $> 5 \times 10^{10}/\text{g}$ i *Staphylococcus xylosus* $> 7 \times 10^{10}/\text{g}$. Starter kulture upotrebljavane su kao liofilizirane kulture pakirane u nepropusnoj alu-foliji koje su čuvane na temperaturi nižoj od $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Količina startera je 50 g što odgovara količini za 100 kg proizvoda.

Svinjsko slijepo crijevo je prethodno soljeno, namakano u toploj vodi a zatim dobro ocijeđeno, bez imalo zaostale vode. Nakon ručnog punjenja i vezanja uz oblikovanje vezica kulen se vješa na štapove i stavlja na kolica. U ovoj fazi procesa uzimani su i obilježavani uzorci potrebni za fizikalna, kemijska i mikrobiološka ispitivanja koji su uz redovnu proizvodnju prolazili daljnje faze proizvodnje. Kolica s kulenom prebačena su u komoru za kondicioniranje u svrhu uklanjanja kondenzirane vode s površine crijeva i ujednačavanja temperature nadjeva sa temperaturom okoline ($17-19\text{ }^{\circ}\text{C}$).

U ovom ciklusu važno je što prije postići temperaturu poželjnu za rast i razvoj poželjnih mikroorganizama ($20-22\text{ }^{\circ}\text{C}$). Nakon izjednačavanja temperature, dakle kad se postigne željena temperatura u svim zonama proizvoda, pristupa se intervalnom dimljenju u trajanju od 12 dana. U ovom razdoblju važno je sačuvati propusnost crijeva, zbog što boljeg gubljenja vlage iz unutrašnjosti. To se postiže sprečavanjem naglog sušenja površine crijeva, te postupnim i hladnim dimljenjem do ($22\text{ }^{\circ}\text{C}$), kako bi se u procesu predzrenja izbjeglo zatvaranje propusnosti radi zapečenja ili stvaranja naslaga smole iz dima na površini. U komori se kulen zadržava 12 dana i izgubi od početne težine 14 – 18% pri temperaturi $12 - 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ i relativnoj vlazi 76 – 92%. Nakon toga

kulen se seli u komoru za zrenje u kojoj ostaje do kraja procesa. Relativna vlaga u komori za zrenje kreće se 76-80%, a temperatura $12 - 14\text{ }^{\circ}\text{C}$. U njoj kulen ostaje do kraja procesa koji traje 100 do 150 dana. U obje komore praćeni su mikroklimatski uvjeti tijekom procesa.

Po završetku procesa uzorci su uskladišteni u komori na temperaturi $10-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uzimanje uzoraka potrebnih za ispitivanja obavljeno je po pojedinim fazama procesa i to po završetku procesa i nakon skladištenja 60 dana.

Od fizikalnih ispitivanja provedena su:

- mjerenja temperature u nadjevu kulena do izjednačavanja s temperaturom okoline digitalnim uređajima "testo" 926 i "testo" H1 (digitalni termometar s ubodnom sondom "testo" 926)
- mjerenja pH vrijednosti nadjeva kulena (digitalni pH-metar D 810 "Fuchs messtechnik")
- mjerenja a_w vrijednosti nadjeva kulena (kriometar AWK – 10 Nagy)
- promjena mase (kalo) (digitalna vaga "Vage" Zagreb)
- mjerenja promjene promjera (pomična mjerka)
- praćenje mikroklimatskih uvjeta u prostorijama (temperatura, relativna vlažnost, cirkulacija zraka, ventilacija).

Mikroklimatski uvjeti u prostorijama za proizvodnju praćeni su mjernim osjetilima komore, te mikroprocesorom u ormariću komore gdje se svi podaci grafički bilježe i postavljaju parametri cirkulacije zraka, ventilacije, relativne vlažnosti i temperature te pomičnim, već ranije spomenutim instrumentima.

Udjeli bjelančevina, masti i pepela određeni su prema AOAC metoda- ma (AOAC, 1999). Udio vode i NaCl određeni su prema AOAC metodama (AOAC, 1984).

Tablica 3. Promjene pH i a_w vrijednosti uzorka kulena tijekom proizvodnog procesa (n=5)Table 3. pH and a_w values in kulen samples during the processing

PROIZVODNJA		pH VRIJEDNOST		
DANI	FAZA PROIZVODNJE	SREDINA	RUB	a_w Bez startera/ sa starterom
		Bez startera/ sa starterom	Bez startera/ sa starterom	
0	NADJEV	5,62/5,62	5,62/5,62	0,961/0,961
1	KONDIIONIRANJE	5,74/5,74	5,74/5,74	0,959/0,960
2		5,50/5,27	5,53/5,30	0,959/0,960
3		5,00/4,94	5,09/5,02	0,958/0,959
4		4,90/4,88	4,93/4,90	0,956/0,957
5		4,92/4,89	4,95/4,92	0,953/0,955
6		PREDZRENJE I DIMLJENJE	4,93/4,90	4,98/4,93
7	4,95/4,92		5,00/4,96	0,948/0,951
8	4,98/4,93		5,08/4,98	0,940/0,949
9	5,02/4,95		5,10/4,99	0,938/0,947
10	5,05/4,96		5,15/5,00	0,937/0,944
11	5,09/4,98		5,20/5,03	0,933/0,940
12	ZRENJE	5,12/5,00	5,28/5,05	0,930/0,936
24		5,28/5,10	5,40/5,19	0,916/0,922
40		5,62/5,18	5,72/5,31	0,900/0,908
60		5,82/5,52	5,90/5,65	0,881/0,880
90		5,98/5,79	6,14/6,02	0,862/0,869
120		6,16/-	6,26/-	0,848/-
180/150	SKLADIŠTENJE	6,28/5,90	6,41/6,26	-

Tablica 4. Promjena udjela osnovnih kemijskih sastojaka nadjeva uzoraka kulena proizvedenih bez dodanih starter kultura tijekom proizvodnog procesa

Table 4. Chemical composition of kulen filling produced without the addition of starter cultures during the processing

PROIZVODNJA		UZORCI SKUPINE PROIZVEDENI BEZ BIOBAK K.			
DANI	FAZA U PROIZVODNJI	VODA %	BJELANČEVINE %	MAST %	SOLI %
0	PUNJENJE NADJEVA	55,54	16,30	23,50	2,10
12	NAKON DIMLJENJA	38,20	18,02	38,55	2,68
60	SREDINA ZRENJA	32,40	21,44	40,60	2,86
120	KRAJ ZRENJA	28,40	24,20	42,10	3,07

U uzorcima kulena praćen je ukupni broj bakterija prema HRN EN ISO 4833.

Senzorska ocjenjivanja uzorka fermentiranih kobasica provedena su prema modificiranoj D.L.G. (Deutsche Landwirtschafts Gesellschaft) metodi (Anon., 1993). Metoda obuhvaća određivanje četiri karakteristična svojstva proizvoda, a to su: vanjski izgled; boja, sastav i izgled presjeka; konzistencija te miris i okus. Sva četiri

navedena svojstva ocjenjuju se od 1 – 5 s time da prema važnosti svakom svojstvu pripada određeni čimbenik značaja:

- vanjski izgled – 1
- boja, sastav i izgled presjeka – 3
- konzistencija – 2
- miris i okus – 4

Ocjenjivanje je proveo senzorski panel.

Rezultati i rasprava

Temperatura i relativna vlažnost zraka u klima komorama utječu na dinamiku gubitka vode proizvoda ali i na ostale promjene u nadjevu tijekom proizvodnog procesa. Dobiveni podaci ukazuju da je kretanje temperature i relativne vlažnosti vezano uz odvijanje proizvodnog procesa. Rad komora, odnosno mikroklimatski uvjeti u njima, moraju biti postavljeni tako da osiguravaju polagano i ravnomjerno sušenje, te da prate postupno smanjivanje a_w vrijednosti u nadjevu.

Tijekom faze kondicioniranja cilj je izjednačiti temperaturu hladnog nadjeva sa zadanom temperaturom u komori, a s površine kulena odstraniti kondenznu vodu i osušiti je. U toj fazi procesa, temperatura zraka kretala se oko 18 °C, a relativna vlažnost bila oko 77% uz ubranu i kontinuiranu cirkulaciju zraka. Faza predzrenja i dimljenja odvija se u pravilu na najvišoj relativnoj vlažnosti zraka i temperaturi od onih koje smo koristili pri izradi našeg rada. Tijekom sušenja i zrenja temperatura je konstantna i kreće se između 12 i 14 °C, a relativna vlaga zraka postupno se smanjuje od početnih 92% na 76 – 80% na kraju procesa. Relativno mala zastupljenost proizvodnje kulena u industrijskim uvjetima, kao i različiti procesi proizvodnje onemogućavaju uspoređivanje literaturnih podataka i korištenje stečenih iskustava. Međutim, dinamika promjena mikroklimatskih uvjeta u slučaju naših ispitivanja u skladu je s podacima koji se nalaze u literaturi, iako se pri proizvodnji nekih tipova fermentiranih proizvoda često koriste i nešto više temperature (Bartolović, 1974; Savić i Tadić, 1992; Jessen, 1995; Gonzales i Diaz, 2002; Comi i sur., 2005).

Prateći promjenu promjera i gubitka mase kulena iz tablica 1 i 2 vidi se da je dinamika promjena najveća u početku procesa. Dakle, za vrijeme kondicioniranja i predzrenja, proizvod ovisno o primijenjenim sredstvima za zrenje, gubi dnevno oko 2%, što

je vidljivo i na promjeru kulena. U fazi procesa zrenja i sušenja promjene su sve manje i u prosjeku dnevno iznose oko 0,6%, a pri kraju zrenja i znatno manje. Promjena mase i promjera ovisna je o dinamici sušenja koja mora biti prilagođena i usklađena s postepenim smanjenjem aktiviteta vode nadjeva. Radeći prema navedenom moguće je izbjeći zasušivanje ruba kulena koji onda onemogućava daljnje normalno odvijanje procesa, te utječe na kvalitetu i dinamiku zrenja i sušenja (Jessen, 1995; Čavlek, 2001; Ulmer i sur., 2006). Zavisno o početnom promjeru, vidljive su razlike u promjenama mase i promjera uzoraka, koje su u početnim fazama procesa bile znatno vidljivije, dok su u gotovim proizvodima bile manje. Spomenute razlike mogu se povezati s dinamikom gubitka mase kulena. Razlike u promjenama mase i promjera kulena vezane su uz primjenu različitih dodataka. Promjene u uzorcima proizvedenih sa starter kulturom Biobak K izraženije su, dok su promjene na uzorcima napravljenim bez dodanih starter kultura, dakle uz prisustvo native mikroflore manje izražene, na što ukazuju i podaci u literaturi (Incze, 1991; Feiner, 2006).

U početnim fazama proizvodnog procesa dolazi do znatnog pada pH vrijednosti (tablica 3) koji je najizraženiji između petog i sedmog dana proizvodnje, ovisno je li proizvod sa ili bez dodanih starter kultura, dakle u fazi predzrenja i dimljenja, da bi zatim počeo postupno rasti. Kod uzoraka proizvedenih sa starter kulturom Biobak K, pH vrijednosti bile su nešto niže u početnoj fazi procesa i u gotovu proizvodu, dok su pH vrijednosti kulena bez dodanih starter kultura, bile nešto više tijekom proizvodnje. Ispitivanja su pokazala da na intenzitet promjena pH vrijednosti znatno utječe prisutnost dodanih šećera, te starter kultura.

Kretanje a_w vrijednosti ovisi o dinamici sušenja. Vrijednosti su se kretale

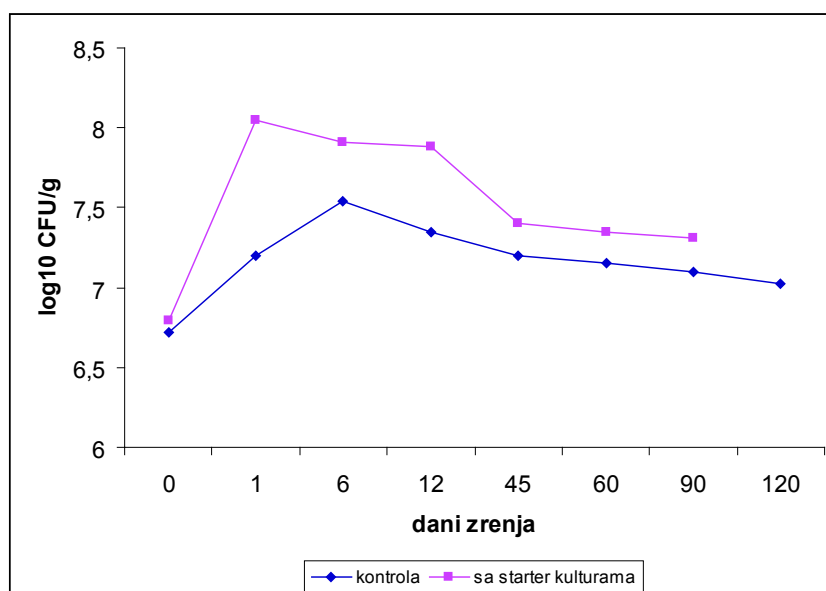
Tablica 5. Promjena udjela osnovnih kemijskih sastojaka u nadjevu kulena napravljenih sa starter kulturom Biobak K. tijekom proizvodnog procesa

Table 5. Chemical composition of kulen filling made with starter culture Biobak K. during the processing

PROIZVODNJA		UZORCI SKUPINE PROIZVEDENI SA BIOBAK K.			
DANI	FAZA U PROIZVODNJI	VODA %	BJELANČEVINE%	MAST %	SOLI %
0	PUNJENJE NADJEVA	55,54	16,30	23,50	2,10
12	NAKON DIMLJENJA	39,80	17,90	38,80	2,64
60	SREDINA ZRENJA	33,50	20,80	40,34	2,82
90	KRAJ ZRENJA	30,20	23,20	41,70	2,96

Slika 1. Promjene ukupnog broja bakterija u uzorcima kulena sa i bez dodanih starter kultura

Figure 1. Total number of bacteria in kulen samples with and without the addition of starter cultures



Tablica 6. Srednja vrijednost konačnih ocjena uzoraka kulena sa i bez starter kulturom Biobak K. po završenom procesu proizvodnje i nakon 60 dana skladištenja

SENZORSKA OCJENA	SREDNJA I KONAČNA OCJENA UZORKA	
	UZORAK	
	bez dodanih starter kultura	starter kultura Biobak K.
PRIJE SKLADIŠTENJA	3,82	4,80
NAKON SKLADIŠTENJA	3,70	4,46

od početnih 0,961 da bi na kraju procesa 120. dana bila 0,848 kod uzoraka bez dodanih starter kultura. Dok se a_w vrijednost kod uzoraka sa starter kulturom Biobak K kretala s početnih 0,961 da bi devedesetog dana bila 0,869. Možemo zaključiti da na a_w vrijednosti znatno utječe dinamika sušenja, kao i prisutnost dodane ili

native flore.

Gubitak mase kao posljedica dehidracije odražava se na promjene početnih kemijskih pokazatelja. Rezultati pokazuju da do najintenzivnijih promjena udjela vode dolazi u početnim fazama procesa tijekom kondicioniranja i predzrenja, da bi se

u daljnjem tijeku procesa promjena udjela vode smanjila. Vezano uz ove promjene odvijala su se i kretanja ostalih ispitivanih parametara, čiji je relativni udio rastao tijekom proizvodnog procesa. Uspoređujući dobivene rezultate uzoraka bez dodanih starter kultura i onih sa starter kulturom Biobak K, uočava se da uzorci bez dodanih starter kultura imaju nešto manji udio vode, a veći udio bjelanjčevina, soli i masti. Međutim, ova izmjena količinskih odnosa spomenutih kemijskih sastojaka koja u osnovi ovisi o postupnom izdvajanju vode iz nadjeva, ne može se promatrati samo kao povećanje nehlapljivih sastojaka (bjelanjčevina, masti i soli) na račun vode koja je hlapljiva. Radi se o daleko složenijem procesu koji je uzrokovao ne samo kemijskom raznolikošću nadjeva i utjecajem mikroklimatskih faktora, već i o utjecajima koji na proces sušenja imaju tlak i čvrstoća punjenja nadjeva u crijeva, kvaliteta i način obrade čestica nadjeva, stanje miofibrilarnih i sarkoplazmatskih bjelanjčevina, kvaliteta i kvaliteta obrade crijeva itd.

Promjene ukupnog broja mikroorganizama u nadjevu kulena (slika 1) pokazuju rezultate koji se djelomično poklapaju s podacima u literaturi (Savić i Tadić, 1992). Odstupanja između skupina uzoraka treba povezati s dodatkom starter kultura, te vrsti i količini dodanih šećera, i uzorcima s nativnom florom. Ukupan broj mikroaerofilnih bakterija mliječne kiseline veći je u uzorcima sa starter kulturom Biobak K, nego u uzorcima bez dodanih starter kultura. Rezultati ukazuju na vidljiv nagli razvoj mikroflore u početnim fazama procesa fermentacije u kojima je prisutna viša temperatura i viši aktivitet vode.

Uzorci proizvedeni sa i bez dodanih starter kultura, ocjenjuju se na kraju sušenja i zrenja tj. 90. i 120. dan, te nakon 60 dana skladištenja.

Dobiveni rezultati po modificiranoj

D.L.G. metodi (Anon., 1993) daju po jedinom ocjenjivanom uzorku različitu prolaznost kod ocjenjivača. Na temelju dobivenih rezultata uočljiva je znatna razlika u dobivenim ocjenama između uzoraka bez dodanih starter kultura, te uzoraka sa starter kulturom Biobak K. Uzorci sa starter kulturom Biobak K dobili su od svih ocjenjivača više ocjene, a time i više srednje konačne ocjene u odnosu na uzorke bez dodanih starter kultura. Uzorci pripremljeni bez dodanih starter kultura imali su istaknut nepoželjan gorak okus, s vidljivim diskoloracijama i nekompaktnošću nadjeva. Senzorska ispitivanja uzoraka sa starter kulturom Biobak K nakon skladištenja, pokazala su da je došlo do pada dobivenih senzorskih ocjena uzoraka što nam ukazuje na potrebu skraćivanja perioda distribucije i prodaje.

Zaključak

Rezultati provedenih ispitivanja, s obzirom na kvalitetu, ekonomičnost, kontinuitet i stabilnost proizvodnje ukazuju na opravdanost korištenja starter kultura mikroorganizama u proizvodnji kulena, u kontroliranim uvjetima, dakle tijekom čitave godine, na što upućuju senzorska svojstva uzoraka. Dok je proizvodnja kulena u kontroliranim uvjetima s dinamičkim izmjenama parametara, a bez dodanih starter kultura, dakle nativnom florom tehnološki znatno zahtjevnija i nesigurnija, jer u ranoj fazi fermentacije zbog nedovoljne homogenosti nadjeva dolazi do zasušivanja ruba kulena i produženja zrenja, a kod nekih uzoraka dolazi do razdvajanja i diskoloracije nadjeva, što negativno utječe na senzorska svojstva proizvoda.

Literatura

Alagić, D., Zdolec, N., Njari, B., Filipović, I., Ekert Kabalin, A., Čorić-Alagić, G., Kozačinski, L. (2011): Microbial characterisation of horse meat dry sausage. Veterinarski arhiv. Poslan.

Anonymous (1993): Prüfbestimmungen für die DLG-Qualitätsprüfungen Fleischerzeugnisse, Frankfurt, 36.

AOAC (1984): *Official methods of analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC (1999): Official method 950.46 moisture in meat; Official method 991.36 fat (crude) in meat and meat products; Official method 981.10 crude protein in meat; Official method 920.153 ash in meat. In P. Cunniff (Ed.), *Meat and Meat Products, vol. II. 16th ed., Official methods of analysis of the AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. 1-15 (Chapter 39)*.

Babić, I., Markov, K., Kovačević, D., Trontel, A., Slavica, A., Đugum, J., Čvek, D., Svetec, I.K., Posavec, S., Frece, J. (2011): Identification and characterization of potential autochthonous starter cultures from a Croatian "brand" product "Slavonski kulen". *Meat Sci.* 88, 517-524.

Bartolović, P. (1974): Procedures of production, hygienic and qualitative properties of slavianian kulen. Veterinary Faculty, University of Zagreb, *Master thesis*.

Bonomo, M.G., Ricciardi, A., Salzano, G. (2011): Influence of autochthonous starter cultures on microbial dynamics and chemical-physical features of traditional fermented sausages of Basilicata region. *World J. Microbiol. Biotechnol.* DOI 10.1007/s11274-010-0439-y.

Buckenhüskes, H.J. (1994): Grundlagen der Rohwurstherstellung: Stuttgarter Rohwurstforum, 21-43.

Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., Coccolin, L. (2005): Characterization of natural fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Sci.* 69, 381-392.

Čavlek, B. (1997): Starter cultures in production of fermented meat products. *Procedeeing Moderne tehnologije predelave in kakovost živil 18, Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana, Slovenia* 137-151.

Čavlek, B. (2001): Science and practice of dry sausages production. *Meso* 3, 51-52.

Daly, C., Chance, N., Sandine, W.E., Elliker, P.R. (1973): Control of *Staphylococcus aureus* in sausage by starter culture and chemical acidulation. *J. Food Sci.* 38, 426.

Feiner, G. (2006): Raw fermented salami. U: *Feiner G (ur.), Meat products handbook*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

Frece, J., Markov, K., Čvek, D., Kovačević, D., Krcivoj, T. (2010): Karakterizacija bakterijskog soja *Lactobacillus plantarum* 1K izoliranog iz "slavonskog kulena" kao pro-

biotičke funkcionalne starter kulture. Meso 12, 210-216.

Gonzales, B., Diez, V. (2002): The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of "chorizo" – a Spanish dry cured sausage. *Meat Sci.* 60, 295-298.

Jessen, B. (1995): Starter cultures for meat fermentation. In: Campbell- Platt G and Cook PE (eds.), *Fermented meats*. Blackie Academic and Professional, England, 131-159.

Kozačinski, L., Drosinos, E. H., Čaklovića, F., Cocolin, L., Gasparik-Reichardt, J., Vesko- vić, S. (2008): Investigation of microbial association of traditionally fermented sausages. *Food Technol. Biotechnol.* 46, 93-106.

Medić, H., Vidaček, S., Marušić, N., Šatović, V., Nežak, J. (2009): Utjecaj ovitka i starter kultura na kvalitetu fermentiranih kobasica. *Meso* 11, 113-122.

Petričević, A., Benčević, K., Kušec, G. (2010): Slavonski domaći kuleni i kobasice. II. Dopunjeno i izmijenjeno izdanje. EU AGRO Hr-

vatska.

Raccach, M. (1981): Method and Composition for Fermenting Meats. U.S. Patent 4, 303, 679.

Savić, I., Tadić, R. (1992): Korisno djelovanje mikroorganizama-Procesi fermentacije u prera- di mesa. *Tehnologija mesa* 32, 188-204

Smith, J.L., Palumbo, S.A. (1981): Microor- ganisms as food additives. *J. Food Protect.* 44, 936.

Toldrá, F. (2008): *Meat Biotechnology*, Springer, New York, SAD.

Ulmer, K., Stankeviciute, J., Gibis, M., Fis- cher, A. (2006): Reifezeitverkürzung bei schnit- tfester Rohwurst. *Fleischwirt.* 86, 96-99.

Vatanyoopaisarn, S., Prapatsornwatta- na, K., Kuhakongkeat, T., Phalakornkule, C. (2011): Potential use of lactic acid bacteria with bacteriocin-like activity against *Staphylococcus aureus* as dual starter cultures in Thai fer- mented sausage "Sai Krok Prew". *Int. Food Res. Jour- nal* 18, 680-687.

Zdolec, N., Hadžiosmanović, M., Kozačin-


ski, L., Cvrtila, Ž., Filipović, I., Škrivanko, M., Leskovar, K. (2008): Microbial and physicoche- mical succession in fermented sausages pro- duced with bacteriocinogenic culture of *Lac- tobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y. *Meat Sci.* 80, 480-487.

Zdolec, N., Kozačinski, L., Njari, B., Fili- pović, I., Hadžiosmanović, M., Mioković, B., Kuzmanović, Ž., Mitak, M., Samac, D. (2009): The antimicrobial effect of lactobacilli on some foodborne bacteria. *Arch. Lebensmittelhyg.* 60, 115-119.

Yuksekdag, Z., Aslim, B. (2010): Assessment of potential probiotic- and starter properties of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish-type fermented sausages (sucuk). *J. Microbiol Bio- technol.* 20, 161-168.

Weber, H. (1996): *Mikrobiologie der Rohwurst*. In: *Mikrobiologie der Lebensmittel. Fleisch und Fleischerzeugnisse*, Behrs Verl., Hamburg, 313-338.

Dostavljeno: 15. veljače 2011.

Prihvaćeno 24. ožujka 2011. 

The use of *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus xylosus* starter cultures in the production of kuleni

Summary

During the process of kuleni production, the micro-climatic, physical and chemical and microbiological changes in the samples were monitored. The results obtained indicate the justification of using starter cultures, which bring the pH value down to the required levels, as shown by the final sensory assessment. The use of starter cultures led to the domination of technologically and hygienically justified microflora, which contribute to improving quality, safety in production and the hygienic course of the process of fermentation of kuleni. This study points out the advantages and possible disadvantages of producing kuleni with starter cultures, in comparison to the traditional production.

Key words: kuleni, physical, chemical, microbiological and microclimatic changes, starter cultures.

Anwendung von Starterkulturen *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus* und *Staphylococcus xylosus* bei der Kuleniherstellung

Zusammenfassung

Während des Herstellungsprozesses wurden mikroklimatische, physikal-chemische und mikrobiologische Änderungen auf den Kuleni- mustern beobachtet. Die bekommenen Resultate gerechtfertigen die Benutzung von Starterkulturen, die den pH-Wert auf die gewünschte Ebene senken. Durch die Anwendung von Starterkulturen wurde die Domination der technologisch und hygienisch gerechtfertigten Mikroflora erreicht, die der Qualität, der Sicherheit bei der Herstellung und dem hygienisch durchgeführten Reifeprozess von Kuleni bei- tragen. Mit dieser Arbeit wurde auf die Vor- und ev. Nachteile der Kuleniherstellung mit Starterkulturen in Bezug auf die traditionelle Herstellung hingewiesen.

Schlüsselwörter: Kuleni, physikal-chemische, mikrobiologische und mikroklimatische Änderungen, Starterkulturen

Applicazione delle culture starter – *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus* i *Staphylococcus xylosus* – nella produzione di kuleni

Sommario

Durante il processo di produzione di kuleni (salsiccia di casa, con l'origine nella regione di Slavonia) sono stati osservati i cambiamenti microclimatici, fisico-chimici e quei microbiologici sui campioni di kuleni. I risultati ottenuti affermano la necessità di uso delle culture starter, che riducono il valore pH fino ai valori voluti. Questo ci dimostrano le valutazioni finali sensoriche. Applicando le culture starter, si è ottenuta la dominazione di una microflora giustificata tecnologicamente e igienicamente, che contribuisce al miglioramento di qualità, la sicurezza del prodotto e la sorveglianza igienica del processo di maturazione del kuleni. Quest'articolo rivela i vantaggi e potenziali svantaggi della produzione di kuleni con le culture starter, rispetto alla produzione tradizionale.

Parole chiave: kuleni, cambiamenti fisico-chimici, microbiologici e microclimatici, culture starter