

strict consequencey between different per cent of Ca and coagulation time of the milk, probably other factors next Ca beeng involved (as milk composition, bacteria present, etc.).

The curd of yoghurt with lower per cent of Ca was softer and more friable. Production of a yoghurt with low Ca content seems applicable, but at adapted technology.

Literatura

1. Ling, E. (1963): Dairy Chemistry, Vol. 1, London.
2. Schwartz et al. (1940): J. Dairy Sci, 23 (19), cit. prema Ling (1).
3. Kovač, Z. et al. (1969): Smanjenje količine kalcija u mlijeku neutralnom ionskom izmjenom, Mljekarstvo, 19 (2) 26 — 33.
4. Bogoljubova, A. V. (1961): Effect of the treatment of cows milk with KY-1 resin on some properties of the milks, Vop. Pitan. 20 (6) 67 — 70, cit. prema D. Sci Abs. (1962), vol. 24, ref. 526.
5. Kondo et al. (1968): Studies of the removal of radionucleides in milk; I. Quality of milk treated with cation-exchange resin of composite salt form. J. agric. chem. soc., Japan, 42 (2) 72 — 78, cit. prema D. Sci Abs. (1968), vol. 30 (8), ref. 2828.

NAŠA ISKUSTVA U ODRŽAVANJU KULTURA BAKTERIJA MLJEČNO-KISELOG VRENJA ZA PROIZVODNJU KISELOG VRHNJA

Ljerka KRŠEV
Zagrebačka mljekara

U v o d

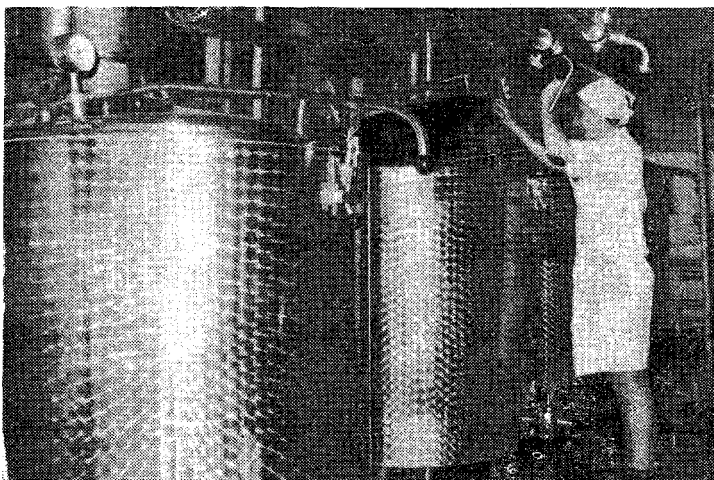
Velika potražnja uz visoku akumulativnost fermentiranih mlječnih proizvoda čini ih vrlo cijenjenim i zanimljivim proizvodima za svaku našu mljekaru. Postoji niz činilaca koje treba imati podjednako pred očima ako se želi proizvesti fermentirani proizvod postojeane i odgovarajuće kvalitete.

Nastajanje gruša određenih fizikalno-kemijskih i organoleptičkih svojstava vrlo je osjetljivo kod svih mlječno-kiselih proizvoda, a napose kod onih kod kojih se kao proizvodni organizmi upotrebljavaju mezofilne bakterije mlječno-kiselog vrenja. Prisutnost bakteriostatika ili bakteriofaga u mlijeku, loš sastav mlijeka ili nedovoljno aktivna, odnosno nepovoljno sastavljena proizvodna kultura može upropastiti svu dnevnu proizvodnju, jer izostane grušanje vrhnja ili se dobije netipičan proizvod koji se ne može pustiti u promet. A, sve to dovodi mljekaru u ekonomske gubitke.

Da bi se takvi gubici izbjegli i da bi se proizvodnja mogla pravilno usmjeriti potrebno je poznavati prosječnu kvalitetu sirovine, tj. mlijeka (prema godišnjim dobima) i uvjete u vođenju tehnološkog postupka proizvodnje fermentiranog proizvoda. Kada se raspolože s tim podacima, onda treba odabrati najpovoljnije mjere za vođenje tehnološkog postupka kako bi se proizveo što kvalitetniji konačni proizvod.

Baveći se proizvodnjom kiselog vrhnja (s 12 i 20 % mlječne masti) u Zagrebačkoj mljekari zamijetili smo, da nam u toj proizvodnji najčešće poteškoće zadaje kasni nastup fermentacije ili potpuno izostajanje grušanja, čak i unutar

48 sati zrenja vrhnja. Te nam pojave ukazuju na smanjenje ili gubitak sposobnosti tvorbe mlječne kiseline upotrijebljenih proizvodnih sojeva. Obračajući posebnu pažnju tim sojevima i uvjetima njihovog razvoja došli smo do praktičnih spoznaja i iskustava s kojima se služimo u svakodnevnoj proizvodnji kiselog vrhnja.



Uređaji u kojima se proizvodi proizvodne kulture za fermentirane proizvode u »Zagrebačkoj mljekari«

Mikroflora mlječno - kiselih proizvoda

Mikrofloru mlječno - kiselih proizvoda možemo podijeliti u dvije grupe, i to:

- 1. proizvodni organizmi koji potječu iz matične kulture sastavljene od jedne ili više vrsta mikroorganizama; i**
- 2. popratni organizmi koji dopijevaju u mlječno - kiselu proizvod putem pasteriziranog mlijeka ili u toku proizvodnog postupka.**

Proizvodni organizmi odlučuju o kemijskim i organoleptičkim svojstvima konačnog proizvoda, a oni drugi, popratni ili kontaminantni organizmi mogu iznenadno izmijeniti poželjni pravac fermentacije i prouzročiti štete u proizvodnji kiselog vrhnja, jogurta i sl.

Prema obliku stanice, bakterije mlječno-kiselog vrenja mogu biti koki i bacili. Streptokoki mlječno-kiselog vrenja razvrstavaju se prema temperaturi rasta u termofilne i mezofilne. Za nas su od mezofilnih najinteresantniji sojevi vrsta *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* i sojevi *streptokoka tvoraca arome*, jer su ti koki glavni članovi čistih kultura za kiselo vrhnje.

Streptococcus lactis osnovni i glavni stvaralac gruša u našim kulturama je homofermentativan mikroorganizam. Nacijepljen u čistoj kulturi mikrobiološkom ušicom u 10 ml obranog mlijeka, aktivni soj gruša mlijeko pri optimalnoj temperaturi za 10 — 12 sati uz pojavu kompaktnog gruša koji nakon 18 sati dosegne kiselost od 37 — 40° SH, a nakon 5 — 7 dana 50 — 52° SH. *Streptococcus lactis* gruša lakmus mlijeko, ne razvija se u podlozi sa 6,5 % NaCl ni u lužnatoj sredini s pH 9,5. Stanice su mu jajolikog oblika promjera 0,5 — 1 mikron, povezane u parovima ili u kratkim lancima.

Streptococcus cremoris je po fiziološkim svojstvima neznatno različit od vrste *Str. lactis*. Optimalna temperatura rasta mu je između 25 i 30° C, maksimalna kiselost koju izaziva u obranom mlijeku (cca 0,1 % masti) kreće se oko 46° SH. Pri nižim temperaturama (15—20° C) neki sojevi tvore znatne količine hlapljivih kiselina. Velik broj sojeva vrste *Str. cremoris* stvara duge lance, a neki sojevi odlikuju se sposobnošću tvorbe viskozne konzistencije grušā, poput one vrhnja.

Aromotvorni streptokoki mlječno-kiselog vrenja: *Str. diacetilactis*, *Leuconostoc citrovorum* (prije *Str. citrovorus*) i *Leucon. dextranicum* (prije *Str. paracitrovorus*) imaju velik udio u tvorbi okusa i arome mlječno-kiselih proizvoda, poput kiselog vrhnja, kefir ili svježeg sira. To su vrste koje tvore male količine kiseline i zato se nikada ne primjenjuju same, već u sastavu mješovitih kultura. *Str. diacetilactis* ima za nas najveći značaj kao glavni član takvih kultura. Optimalna temperatura vrenja mu je između 25 i 30° C, a maksimalna kiselost nakon 18—28 sati iznosi 35—38° SH. Nacijepljeni mikrobiološkom ušicom u 10 ml obranog mlijeka, aktivni ga sojevi grušaju za 16—18 sati, a manje aktivni za 18—28 sati. Lakmus mlijeko grušaju i reduciraju; gruš je čvrst, ali često sa mjehurićima plina. U mikroskopskoj slici vide se sitni koki u parovima ili u kratkim lančićima. Da bi na čvrstoj podlozi bolje uočili razliku između kolonija vrste *Str. diacetilactis* i drugih streptokoka mlječne kiseline, uzgaja ga se na podlozi s 3% agara na kojoj *Str. diacetilactis* razvija dubinske kolonije čupavog izgleda koje podsjećaju na kolonije laktobacila.

Termorezistentni štapići mlječne kiseline. Osim onih termofilnih štapića mlječne kiseline koji se nalaze u sastavu mljekarskih kultura, u mlječno-kiselim proizvodima susrećemo i štapiće stranog porijekla koji se lako primjećuju u kulturama sastavljenim isključivo od mlječno-kiselih streptokoka. Stanice su im štapićastog oblika i ponekad se pod mikroskopom vide jasno izražena zrnca unutar citoplazme. Katkada se nalaze u lancima, gram-pozitivni su i sporotvorni. Kolonije koje rastu u dubini čvrste podloge su sivo-žute boje, a površinske kolonije su čupavog izgleda. Koaguliraju mlijeko za 7—10 sati, a nacijepljene mikrobiološkom ušicom u 10 ml obranog mlijeka razvijaju kiselost do 85° SH. Sposobni su da izdrže kratkotrajnu pasterizaciju mlijeka 2—3 min pri 85—90° C. Značajno je, da je primjena koncentriranih dezinfekcijskih sredstava u mljekarama, kao npr. aktivnog klora slabo djelotvorna ili gotovo nedjelotvorna u odnosu na termorezistentne štapiće. Kao posljedica prisutnosti termorezistentnih štapića u mlječno-kiselim proizvodima javlja se intenzivno razvijanje kiselina, a to šteti proizvodnim vrstama mikroorganizama iz čiste kulture. Neke vrste termorezistentnih štapića izazivaju sluzavost i nečist, neugodan okus mlječno-kiselih proizvoda.

Bakterije octeno-kiselog vrenja. One su po svojoj morfologiji slične vrsti *Str. lactis*, ali se od nje razlikuju po jako izraženom aerobnom rastu i sposobnosti intenzivne proteolize mlijeka. Stanice su štapićastog oblika, obično pojedinačne ili povezane u kraće ili duže lance, gram-negativne. Veličina stanica kreće se od 0,4—0,8 mikrona prema 1,0—2,0 mikrona. Optimalna im je temperatura rasta 30° C. U literaturi se može naći da su odnosi između bakterija mlječne i octene kiseline simbiotički, pa to znači da tu grupu bakterija treba u tom smislu i promatrati.

Bakterije iz roda *Escherichia*. To su gram-negativni, nesporogeni štapići, pretežno kratki i zdepasti. Optimalna im je temperatura rasta 38—40° C, a podnose kiselu sredinu s pH 4,5—9. Granica razvijanja kiselosti je uska, pa se maksimalna kiselost kreće oko 30° SH; gruš je slab, sluzav, a okus mu je neugodan. Prisutnost ic grupe bakterija u mlječno-kiselim proizvodima otkriva sliku loših higijenskih prilika u proizvodnji. Pri ocjenjivanju utjecaja bakterija iz roda *Escherichia* na promjenu kvalitete mlječno-kiselih proizvoda najveću pažnju privlači njihovo svojstvo: da su aktivne u relativno kiseloj sredini od pH 4,5—5, da tvore plinove i da gotovom proizvodu daju neugodan miris i okus, a ponekad mu mijenjaju i konzistenciju. Temperature pasterizacije uništavaju tu grupu bakterija.

Truležne bakterije. Uzrokuju raspadanje bjelančevina, a izazivaju niz grešaka u gotovom proizvodu. U tu grupu pripadaju aerobi i anaerobi, kako sporogeni tako i nesporogeni. Neki pripadnici sporotvornih aerobnih vrsta koji se sreću u mlječno-kiselim proizvodima su: *Bacillus vulgaris* i *B. subtilis*. Aktivno razgrađuju bjelančevine mlijeka tako, da se mlijeko grušā pod utjecajem sirišnog fermenta a da se kiselost znatnije ne poveća. Kod nekih, kao kod vrste *B. subtilis* peptonizacija počinje bez prethodnog grušanja kazeina. Spore mnogih truležnih bakterija nalaze se u pasteriziranom mlijeku. Karakteristična je njihova osjetljivost na sniženje reakcije sredine, a to pruža dosta dobru obranu od njihovog djelovanja ako je kul-

tura naciepljena u mlijeko dobre tehnološke kvalitete ili ako nije u mlijeku prisutan neki bakteriostatik.

Kvasci. Oni ulaze u sastav nekih proizvoda (kefir), a u prirodnim kulturama («seljačko» vrhnje) su redovno prisutni. U nizu mlječno-kiselih proizvoda su štetni, jer izazivaju loš okus i konzistenciju i sl. Vrlo se lako uočavaju pod mikroskopom: oblika su jajolikog ili izduženog, najčešće s brojnim pupovima. Optimalna im temperatura rasta varira tako, da se kod viših temperatura bolje razvijaju kvasci koji ne fermentiraju laktozu, a kod nižih (18—20° C) oni koji je previru. Za svoj razvoj trebaju kiselu sredinu, pa su im mlječno-kiseli proizvodi veoma dobra hranjiva podloga. Vrlo su rasprostranjeni i sreću se u svim prirodno dobivenim mlječno-kiselim proizvodima, no, ne u odveć velikim količinama, jer se razvijaju sporije od bakterija mlječne kiseline. Kvasci aktiviraju razvoj spomenutih bakterija i vitaminiziraju proizvode, što je pozitivno, ali često djeluju i nepoželjno, jer uvjetuju nadimanje gotovog proizvoda.

Plijesni. Na površini mlječno-kiselih proizvoda najčešće susrećemo vrstu *Geotrichum candidum* (prije *Oidium lactis* ili *Oospora lactis*) u obliku bijelih pahuljičastih prevlaka. Za svoj rast traži kiselu reakciju sredine s pH oko 3,5. Ne razgrađuje mlječni šećer, ali oksidira mlječnu kiselinu do CO₂ i H₂O, a brzo hidrolizira mlječnu mast. Oidiospore vrste *G. candidum* ušibaju pri temperaturi pasterizacije, no, budući da su vrlo otporne prema dezinfekcijskim sredstvima potrebno je temeljito održavanje čistoće zidova kao i uređaja za proizvodnju kultura. *G. candidum* ili mlječna plijesan izaziva gorak okus mlječno-kiselih proizvoda, odnosno stran miris.

Bakteriofagi. Pripadaju u grupu ultramikroba, pa se njihova veličina mjeri milimikronima. Oni uništavaju proizvodne sojeve tako, da u industrijskim granama koje primjenjuju mikroorganizme u svojoj proizvodnji predstavljaju stalnu opasnost. Njihova nepoželjna pojava napose se snažno očituje u mljekarskoj industriji, i to u proizvodnji kiselog vrhnja, jogurta i različitih vrsta sireva. Prisutnost bakteriofaga u mljekarskim kulturama otkrili su još 1939. godine Whitehead i Cox na Novom Zelandu. Suština djelovanja bakteriofaga na bakterijsku stanicu sastoji se u adsorbiranju faga s pomoću svoga repa na površinu stanice, enzimnoj razgradnji stanične ovojnice i ubrizgavanju svoje dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) u citoplazmu bakterije. U tom se času normalni razvoj bakterijske stanice prekida i počinje sinteza DNK faga i njegovih bjelančevina. U toj fazi se još ne može primijetiti bakteriofag u stanici. Tek 40—60 min nakon ulaska faga počinje se stanica nadimati, poprima kuglast oblik, a to se lijepo vidi pod mikroskopom. Nakon toga stanica se raspada i mnogobrojni novi fagi izlaze iz nje; to je u stvari kraj prvog ciklusa razmnožavanja bakteriofaga. Drugi počinje s tim novim i svježim fagima, i nastavlja se u treći ciklus sve dotle dok sve osjetljive stanice u dotičnoj sredini ne budu razorene, tj. lizirane. Najkarakterističniji odlika lizogenog razvoja faga u naciepljenom mlijeku je normalan razvoj upotrijebljene kulture u prva 2—4 sata uzgoja, a nakon toga posvemašnje ili djelomično nestajanje prisutne mikroflora uz kiselost koja dosegne gornju granicu od najviše 20—23° SH. Kod umjerenog razvoja bakteriofaga može posljedica biti samo sporije grušanje i mnogo niža kiselost od one normalne. Pod mikroskopom se tada zamjećuje aglutinacija stanica i prisutnost nepravilno debelih ili izduženih oblika bakterijskih stanica.

U proizvodnji bakterija mlječne kiseline nairasprostranjeniji su bakteriofagi koji napadaju mezofilne bakterije mlječne kiseline. Neki autori, kao Jakovljević (1937), smatraju da je najpogodniji trenutak ulaska faga u stanicu u toku njene diobe. U velikim proizvodnim šaržama u proizvodnji fermentiranih mlječnih proizvoda pojava je bakteriofaga mnogo češća, no u onim manjim. To se može objasniti time što kod velikih proizvodnih šarža fermentiraju znatne količine mlijeka u otvorenom, kontinuiranom tehnološkom postupku u kojem su istodobno ostvareni i najpogodniji uvjeti za razvoj bakteriofaga, jer se stanice mlječne kiseline neprekidno nalaze u stadiju razmnožavanja. Bakteriofagi su u pravilu termorezistentniji od bakterija koje napadaju, pa je prema literaturnim podacima vidljivo da mnogi bakteriofagi izdrže temperature do 75° C u trajanju od 15 minuta. To znači, da uobičajena pasterizacija mlijeka nije uvijek djelotvorna u odnosu na bakteriofage. Međutim, bakteriofagi su vrlo osjetljivi na UV dio spektra, pa se zbog toga i preporučuje upotreba UV-svjetiljaka za sterilizaciju zraka prostorija u kojima se pripremaju mljekarske kulture. Od antiseptičkih sredstava na bakteriofage najuspiješnije djeluje klor, tj. Ca-hipoklorit, odnosno klorno vapno (200 mg aktivnog Cl/lit.).

Međusobni odnosi mikroorganizama u mljekarskim kulturama

Prilikom sastavljanja proizvodnih kultura potrebno je uvijek voditi računa o međusobnim odnosima, kako onih mikroorganizama uvrštenih u kulturu, tako i onih koji tamo mogu prispjeti iz drugih izvora. Kontaminantni mikroorganizmi mogu na pojedine organizme u kulturi djelovati stimulatивно ili inhibitorno, a isto tako može mikroflora kulture djelovati na strani mikroorganizam. Važno je pratiti rezultate tih uzajamnih djelovanja, jer vrlo često dolazi do skretanja s pravca redovne fermentacije koju podržava isključivo razvoj čiste proizvodne kulture. Karakteristika međusobnih odnosa u velikoj mjeri ovisi o sastavu sredine u kojoj se organizmi razvijaju, temperaturi i ostalim činiocima. Izuzetno je teško donositi mišljenje o međusobnim odnosima mikroorganizama u tako složenoj sredini kao što je mlijeko.

Međusobni utjecaji i svojstva pojedinih mikroorganizama proučavaju se na čvrstim podlogama ne uzimajući u obzir karakteristike mlijeka i razlike koje nastaju u tekućoj sredini, pa su zato mnogi autori dobili vrlo često različite rezultate u pokusima s istim mikroorganizmima. Čini se, da je za istraživanje međusobnih odnosa mikroorganizama iz mlječno - kiselih proizvoda najbolja metoda postepenog razrjeđivanja filtrata kulture određenog mikroorganizma u tekućoj hranjivoj podlozi (npr. hidrolizirano mlijeko). Dotična kultura nacijepi se u hidrolizirano mlijeko i inkubira pri optimalnoj temperaturi, najčešće 48 sati. Nakon toga se kultura filtrira preko membranskog filtra čije pore moraju biti manje od veličine bakterijskih stanica. U 1 ml provjereno sterilnog hidroliziranog mlijeka doda se 1 ml određenog filtrata, tj. razrjeđenje je 1 : 1. Napravi se još nekoliko daljnjih razrjeđenja uz kontrolni uzorak. Mikrobiološkom ušicom precijepi se u svaku epruvetu s hidroliziranim mlijekom ispitivani mikroorganizam i inkubira 16 sati pri optimalnoj temperaturi rasta. Rezultati se mogu očitati prema različitoj jačini zamućenja ili nacjepljivanjem na čvrste hranjive podloge i brojenjem. Tako se može otkriti djelovanje pojedinih koncentracija metabolita jednog mikroorganizma na drugi. Raznovrsnost mikroorganizama koji se nalaze u mlječno - kiselim proizvodima uvelike otežava utvrđivanje njihovog međusobnog djelovanja.

Međusobni odnos bakterija mlječne kiseline. Neki sojevi vrste *Str. lactis* proizvode antibiotik *nisin* koji sprečava rast ostalih sojeva iste vrste, a poznati su i sojevi vrste *Str. cremoris* koji također proizvode antibakterijsku tvar — *diplokokcin*. Po tome se vidi da je potrebno voditi računa o soju kojeg se uvrštava u sastav mješovite kulture. Postoji mnogo podataka o međusobnom stimulativnom djelovanju pojedinih vrsta bakterija mlječne kiseline, pa je primijećeno da se simbiotički odnosi među njima zasnivaju na proizvodnji potrebnih tvari za rast jednih i drugih. Izuzetno veliko zanimanje predstavljaju uzajamni odnosi između streptokoka mlječne kiseline i termorezistentnih štapića mlječne kiseline. Ti štapići imaju svoj optimum rasta između 40 — 45° C i obilato se razvijaju u prisutnosti streptokoka mlječne kiseline pri temperaturi od 28 — 30° C. Takve mogućnosti i kombiniranje mikroorganizama s različitim temperaturnim rasponima rasta pružaju nam mogućnost proizvodnje novih mlječno - kiselih proizvoda, odnosno poboljšanja kvalitete već poznatih proizvoda. Tako smo dodatkom malih količina termofilnih štapića ili streptokoka u kulturu mezofilnih streptokoka uspjeli da ubrzamo proces proizvodnje mlječne kiseline u spomenutim proizvodima. Kod izbora kulture za kiselo vrhnje perspektiva je u kombiniranju termofilnih štapića mlječne kiseline s kultu-

rama vrste *Str. diacetilactis*, uz inkubaciju pri temperaturi od 30° C. Izrazita sposobnost proizvodnje kiseline štapića mlječno - kiselog vrenja doprinosi poboljšanju arome koja je izražajnije kod slabije kiselosti.

Međusobni odnos bakterija mlječne kiseline i kvasaca. Postoji dosta podataka o stimulativnom djelovanju kvasaca na bakterije mlječno - kiselog vrenja. U kulturi s kvascima bakterije mlječne kiseline zadržavaju aktivnost i po par mjeseci pri sobnoj temperaturi. Poznato je, da su mješovite proizvodne kulture daleko otpornije prema nepovoljnim utjecajima iz vana od kultura koje su pripremljene na bazi čistih, pojedinačnih kultura, i one gotovo redovno sadrže kvasce. Međutim, zna se da streptokoki mlječne kiseline kada ih uzgajamo u zajednici s kvascima često gube svoja morfološka i biokemijska svojstva. Budući da kultiviranje s kvascima produžava vijek aktivnosti kulture, ono je vrlo primamljivo s gledišta proizvodnje i ima dovoljno opravdanja za ispitivanja u tom pravcu.

Međusobni odnos bakterija mlječne kiseline i bakterija octene kiseline. Mnogi istraživači smatraju da bakterije octeno - kiselog vrenja imaju pozitivan simbiotski odnos prema bakterijama mlječno - kiselog vrenja. No, primjena tih odnosa u proizvodnji je vrlo ograničena radi promjene organoleptičkih svojstava kao i konzistencije gotovog proizvoda.

Međusobni odnos bakterija mlječne kiseline i plijesni. Ti su odnosi veoma slični onima bakterija mlječno - kiselog vrenja i kvasaca, jer plijesni također produžuju aktivnost kulture proizvodnih mikroorganizama u mješovitoj kulturi.

(Slijedi nastavak)

POLOŽAJ OVČARSTVA I OVČJEG MLJEKARSTVA SR BOSNE I HERCEGOVINE U DANAŠNJIM USLOVIMA PROIZVODNJE

Natalija DOZET

Poljoprivredni fakultet, Sarajevo

Problemi razvoja ovčjeg mljekarstva brdsko - planinskih reona usko su povezani sa razvojem stočarstva i poljoprivrede u cjelini i opterećeni su istim zajedničkim problemima. Kriza ovčarske proizvodnje, u okviru krize poljoprivrede brdsko - planinskog područja, ne smije značiti i likvidaciju ovčarstva i ovčjeg mljekarstva. U današnjim uslovima porasta stanovništva i situacije u prehrani, a naročito u prehrani namirnicama animalnog porijekla, proizvodi mlijeko i meso zauzimaće i zauzimaju veoma važno mjesto.

Ovčje mlijeko po obimu proizvodnje ne predstavlja istu vrijednost kao kravlje mlijeko, ali u pojedinim dijelovima naše zemlje naročito brdsko - planinskim rejonima je važan prehrambeni proizvod. Ovčje mlijeko po bogatstvu svoga hemijskoga sastava, naročito masti, bjelančevina i mineralnih materija predstavlja izvor vrijednih materija potrebnih u ljudskoj ishrani. Mada bogato