

PRIMENA POLIVALENTNE KULTURE ZA ZRENJE SIREVA U PLASTIČNIM FOLIJAMA*

Dr Marija ŠUTIĆ, Stjepan VILUŠIĆ, dipl. inž., mr Dragojlo OBRADOVIĆ, Poljoprivredni fakultet, Zemun, Aleksandar DAVITKOV, dipl. inž., Duško MARKOVIĆ, dipl. inž., Mlekara »Standard« PKB

SAŽETAK

Rad obuhvaća ispitivanje uticaja polivalentne kulture sa Streptococcus lactis Ak-60, Micrococcus M-104, te standardne kulture na zrenje sira trapista u plastičnim folijama.

Ispitivanje je pokazalo da je broj bakterija mlečne kiseline štapičastog oblika i broj mikrokoka veći u sirevima sa polivalentnom nego sa standardnom kulturom. Međutim, broj streptokoka je veći u sirevima sa standardnom kulturom. Pokazalo se da je ubrzano zrenje sireva sa polivalentnom kulturom.

Provedeno je organoleptičko ocenjivanje, te su sirevi sa polivalentnom kulturom dobili više ocene nego oni sa standardnom.

Uvod

Pored čistih kultura bakterija mlečne kiseline u zrenju sireva značajnu ulogu imaju i druge vrste mikroorganizama među koje se ubrajaju i mikrokoki.

Još je Gorini 1925. godine skrenuo pažnju na mikrokoke pripisujući im glavnu ulogu u zrenju sireva s obzirom na njihovu sposobnost stvaranja kiseline. Kasnije su Alford i Frazier (1950) primenili *Micrococcus freudenreichii* u zrenju čedar sira i dobili sireve sa izraženom aromom već na početku zrenja. Ritter je (1962) utvrdio da mikrokoki stimulatивно deluju na *Lactobacillus helveticus* i *Lactobacillus lactis* u zrenju ementalera. Šutić (1964, 1966) utvrdila je također da mikrokoki stimulatивно deluju na razvitak i biohemijsku aktivnost bakterija mlečne kiseline izdvojenih iz kačkavalja. Veliki broj drugih autora utvrdio je pozitivnu ulogu mikrokoka u zrenju sireva, pa su tako Bottazi i Battistotti (1966) u svojim ogledima koristili mikrokoke u zrenju sira provalone.

Na osnovu ispitivanja međusobnih odnosa mikrokoka i bakterija mlečne kiseline Stević i saradnici (1973) utvrdili su da postoji mutualističko stimulatивно delovanje između *Streptococcus lactis* Ak-60 i *Micrococcus* M-104 i stvorili novi tip združene kulture koju su nazvali polivalentna kultura. Sa ovom kulturom izradili su beli sir i dobili sireve boljih organoleptičkih svojstava, a period zrenja je znatno skraćen. Koristeći ovu polivalentnu kulturu u proizvodnji trapista Obradović (1977) je takođe zapazio skraćenje perioda zrenja i poboljšanje organoleptičkih svojstava sireva.

* Referat je održan na XVIII seminaru za mljekarsku industriju na Prehrambeno-biotehnoškom fakultetu, od 6. do 8. II 1980. u Zagrebu.

Savremeni postupci proizvodnje i skladištenja sireva zahtevaju i promene u načinu čuvanja sireva u procesu zrenja. Do sada su najbolji rezultati postignuti primenom plastičnih folija i pakovanjem sireva u vakuumu. Ovaj način čuvanja sireva smanjuje plesnivost, gubitak težine je mnogo manji, a sirevi ne formiraju koru, što doprinosi ekonomičnosti proizvodnje.

Šutić i saradnici (1978) eksperimentalno su utvrdili da plastične folije utiču na osnovnu mikrofloru i da je broj bakterija mlečne kiseline veći u sirevima u foliji, u toku celog perioda zrenja, a u sirevima bez folije mnogo je veći broj mikrokoka. Ovi rezultati objašnjavaju i razlike u ukusu i mirisu ove dve grupe sireva. Sirevi bez folije imaju jače izražen ukus i miris, kao rezultat proteolitičke i lipolitičke aktivnosti mikrokoka, dok sirevi u foliji imaju blaži ukus i miris, jer bakterije mlečne kiseline nisu izraziti proteoliti ni lipoliti.

Na osnovu ovih rezultata i mišljenja mnogih autora o pozitivnoj ulozi mikrokoka u zrenju sireva, smatrali smo da će biti korisno da utvrdimo da li se polivalentna kultura, koja se sastoji iz streptokoka i mikrokoka, može uspešno upotrebiti u proizvodnji sireva u foliji.

Materijal i metodika

Za ova ispitivanja izrađeni su sirevi u mlekari PKB iz mleka sa 2,7% masti prema standardnoj tehnologiji za sir trapist u dve varijante:

1. sa standardnim kulturama za proizvodnju trapista u čijem sastavu su: *Streptococcus lactis*, *Str. cremoris* i *Str. citrovorus* i
2. sa polivalentnom kulturom u čiji sastav ulazi *Str. lactis* Ak-60 i *Micrococcus* M-104 (odnos 1:1).

Polovina sireva i jedne i druge varijante sazrevala je na klasičan način, a druga polovina u plastičnim folijama.

Od mikrobioloških analiza određivan je ukupni broj mikroorganizama na kvašćevcm dekstroznom agaru — YDA (Naylor and Sharpe, 1958), ukupni broj mikrokoka na hranjivoj podlozi sa 10⁰% NaCl, broj bakterija mlečne kiseline štapičastog oblika na podlozi Rogoza (Rogosa et al., 1951), broj streptokoka na podlozi Barnes (Barnes, 1956) i *Coli-aerogenes* bakterije na podlozi Mac Conkey.

U okviru hemijskih analiza određivan je procenat suve materije standardnom metodom, masti po Van Guliku, kuhinjske soli standardnom metodom, zatim ukupni azot po Kjeldahlu, ukupni, u vodi rastvorljivi, azot po metodi Van Slyke i aktivna kiselost pH-metrom (Pejić i Đorđević, 1963; Šipka i Miljković, 1975).

Organoleptička ocena vršena je po sistemu bodovanja, dodeljivanjem poena, pri čemu je maksimalni broj poena za ukus bio 8, za stanje testa 3, za izgled preseka 3, za boju 1, za miris 2 i spoljni izgled 3. Ukupni broj poena je 20.

Uzorci za mikrobiološke analize uzimani su iz mleka, gruša, sira posle soljenja, tj. pre pakovanja sira u plastične folije, a zatim posle 6, 9, 13, 16, 20, 27. i 34. dana od izrade sira. Za hemijske analize uzorci su uzimani istovremeno kao i za mikrobiološke, pre pakovanja sira u plastične folije, a zatim u svim danima u toku zrenja, izuzev 16. dana.

Organoleptička ocena je vršena u toku zrenja sira, a komisijska na kraju zrenja.

Rezultati i diskusija

Dinamika razvitka ukupnog broja mikroorganizama prikazana je na grafikonu 1. iz kojeg se zapaža da je ukupni broj mikroorganizama veći u grušu s polivalentnom kulturom nego sa standardnom, iako je u mleko dodata ista količina čistih kultura. Ta razlika se odražava skoro kroz ceo period zrenja. Do šestog dana ukupni se broj povećava, a zatim postepeno opada do 13. dana, da bi se do 16. dana ponovo povećao. U tom periodu ukupni je broj bakterija nešto veći kod sireva sa standardnom nego kod sireva sa polivalentnom kulturom. U daljem blagom povećanju ukupnog broja bakterija ponovo se javljaju izrazitije razlike u broju, pa je on veći kod sireva s polivalentnom kulturom nego sa standardnom. Iz grafikona se takođe zapaža da sirevi koji sazrevaju na klasičan način imaju nešto veći broj mikroorganizama.

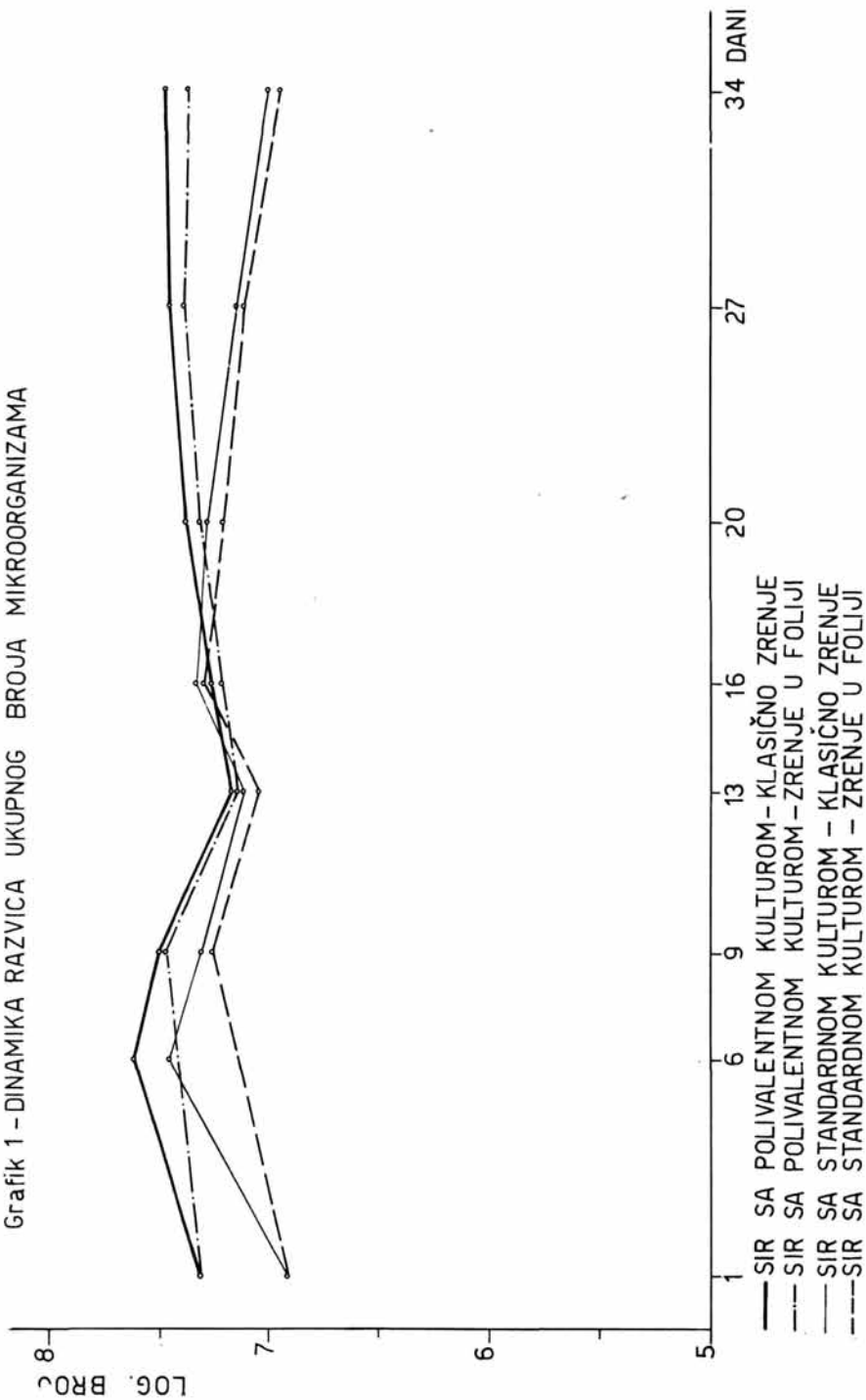
Dinamika razvitka streptokoka prikazana je na grafikonu 2. Broj streptokoka se povećava do 6. dana zrenja i u tom periodu je veći kod sireva sa polivalentnom od sireva sa standardnom kulturom. Kod obe varijante sireva broj streptokoka je veći kod sireva sa klasičnim zrenjem. Međutim, posle ovog perioda broj streptokoka izrazito opada do 13. dana, kod sireva sa klasičnim zrenjem, a u sirevima u foliji broj se povećava do 9. dana, a zatim opada do 13. odnosno 16. dana zrenja. Jače je opadanje broja u sirevima sa polivalentnom nego sa standardnom kulturom. Do kraja ispitivanog perioda zrenja broj streptokoka je veći u sirevima sa standardnom kulturom i naročito u sirevima u foliji.

Dinamika razvitka štapičastih bakterija mlečne kiseline prikazana je u grafikonu 3. Bakterije štapičastog oblika nisu dodavane kao čiste kulture, ali su redovne u sirevima. Zbog toga je njihov broj manji u grušu ostalih grupa ispitivanih bakterija, ali se postepeno povećava i dostiže maksimalni broj 16. dana zrenja u obe varijante. U sirevima sa polivalentnom kulturom broj je bakterija mlečne kiseline veći, u obe varijante, nego u sirevima sa standardnom kulturom. Posle ovog perioda broj se tih bakterija u sirevima sa polivalentnom kulturom i dalje blago povećava do kraja ispitivanog perioda, a opada kod sireva sa standardnom, naročito u sirevima koji se dobivaju klasičnim zrenjem.

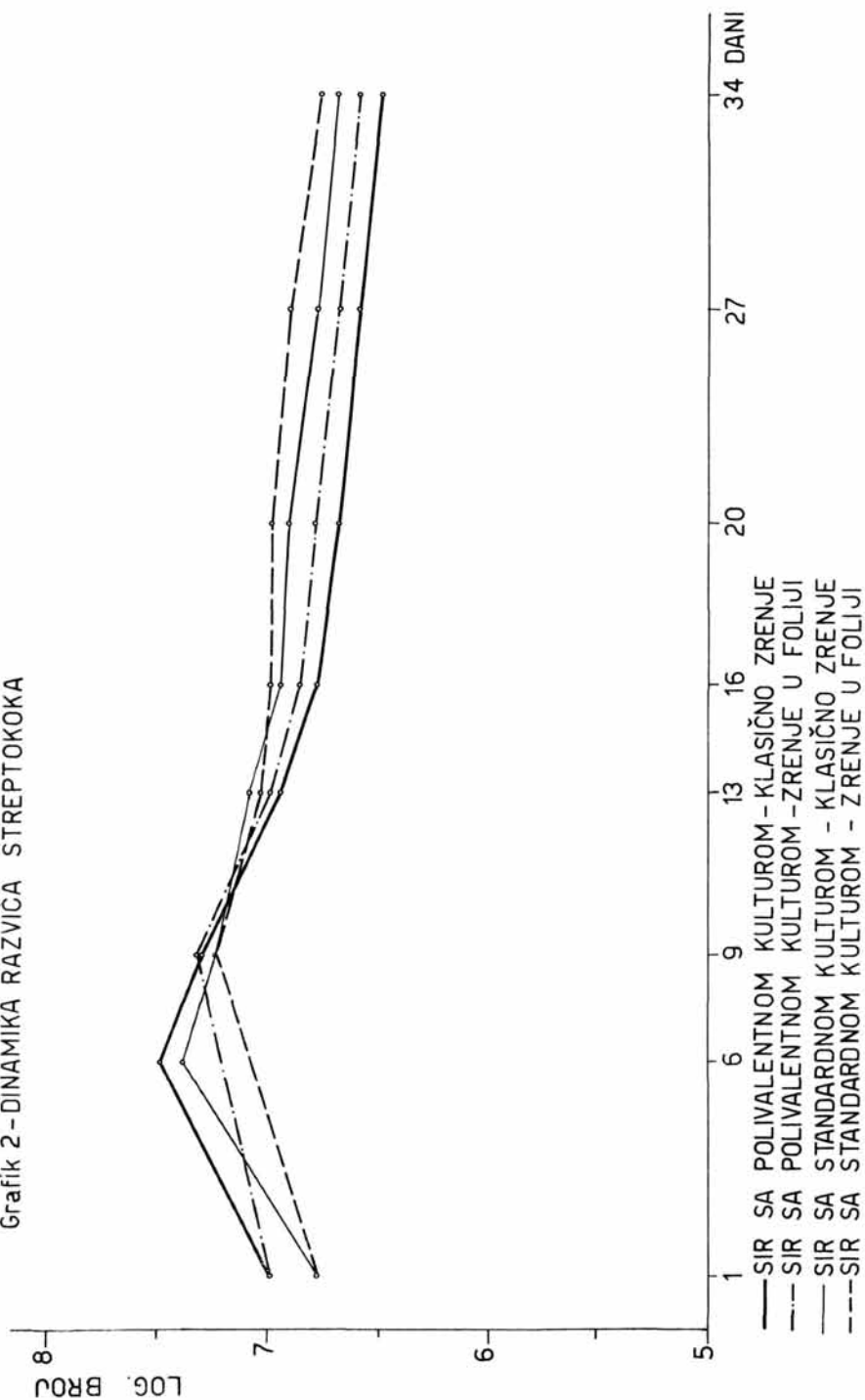
Dinamika mikrokoka prikazana je u grafikonu 4. U broju ovih mikroorganizama postoje izrazite razlike između ispitivanih varijanti. Kod varijanti sa polivalentnom kulturom broj mikrokoka je mnogo veći, jer su ovi sirevi rađeni sa dodatkom mikrokoka. Broj mikrokoka u ovim sirevima od 9. do 13. odnosno 16. dana u sirevima u foliji, a zatim se njihov broj povećava do kraja ispitivanog perioda za razliku od sireva sa standardnom kulturom. Broj mikrokoka veći je u sirevima koji sazrevaju na klasičan način nego u sirevima u foliji.

Rezultati hemijskih analiza prikazani su u tabelama 1 i 2. Iz prikazanih rezultata ne mogu se zapaziti značajne razlike u svim parametrima ispitivanja između sireva sa polivalentnom i standardnom kulturom. Najznačajnije promene za stepen zrenja sireva jesu promene rastvorljivih azotnih materija. Količina rastvorljivog azota povećava se od početka do kraja ispitivanog perioda zrenja u obe varijante, što pokazuje da procesi zrenja normalno teku. Zapažaju se razlike u procentu rastvorljivog azota u ranijem periodu zrenja. Tako je kod sireva sa polivalentnom kulturom i klasičnim zrenjem procenat rastvorljivog azota iznosio 0,207 posle 13. dana zrenja, a u sirevima sa stan-

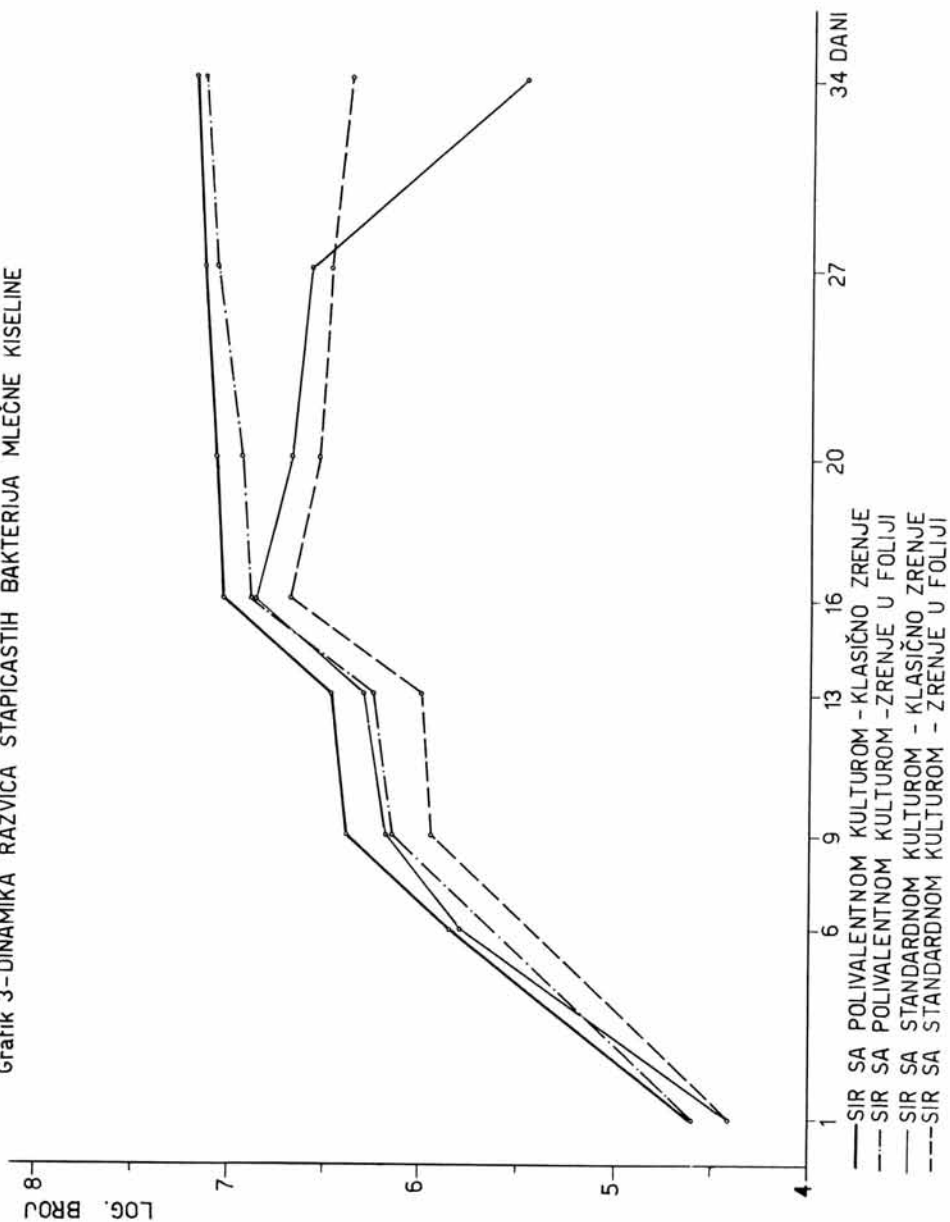
Grafik 1 - DINAMIKA RAZVICA UKUPNOG BROJA MIKROORGANIZAMA



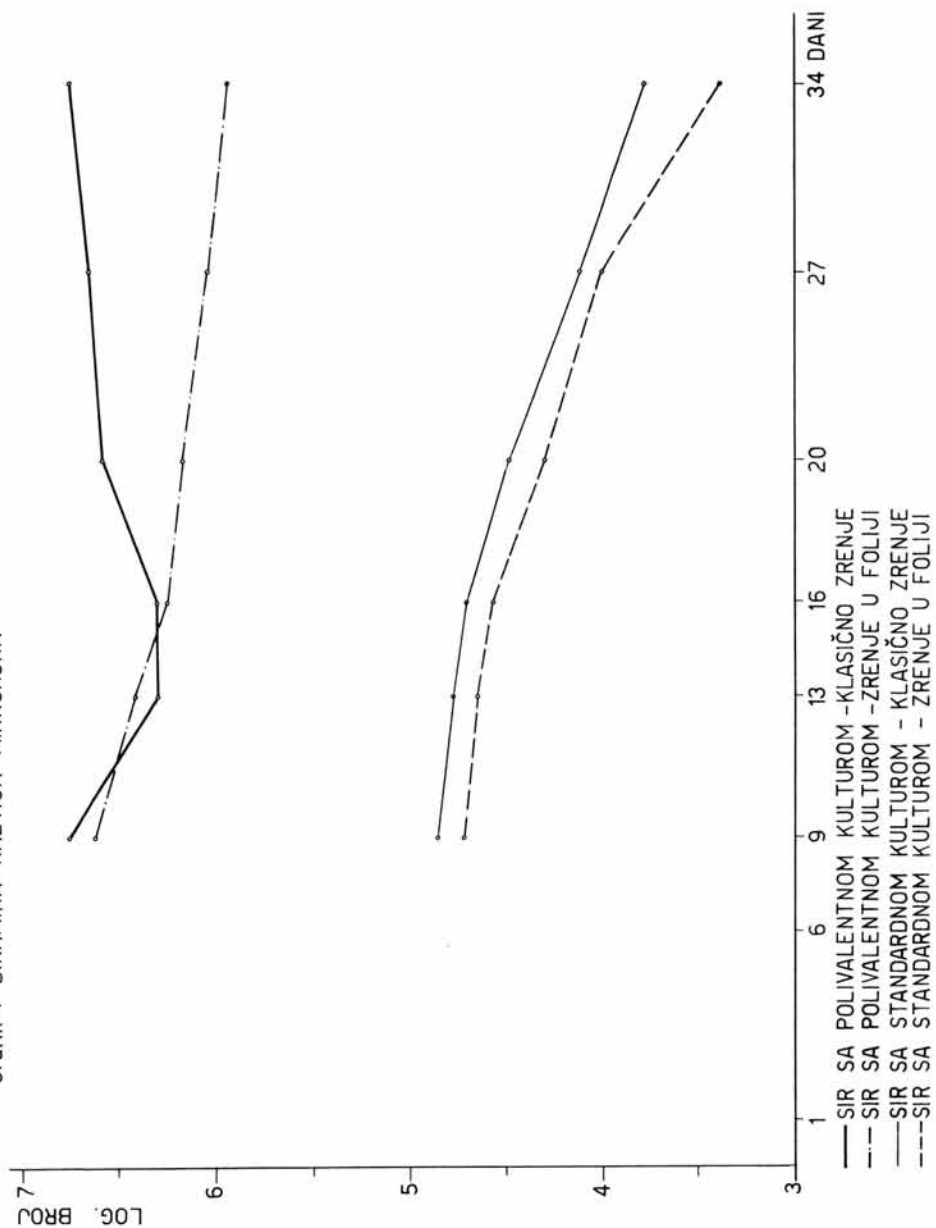
Grafik 2 – DINAMIKA RAZVIĆA STREPTOKOKA



Grafik 3—DINAMIKA RAZVIĆA ŠTAPIĆASTIH BAKTERIJA MLEČNE KISELINE



Grafik 4 - DINAMIKA RAZVIĆA MIKROKOKA



čardnom kulturom 0,173%. Razlike su očigledne do kraja ispitivanog perioda i posle 34 dana količina rastvorljivog azota u sirevima sa polivalentnom kulturom iznosila je 0,388%, a sa standardnom kulturom 0,313%. Međutim, kod sireva u foliji razlike u rastvorljivom azotu su značajne posle 20. dana zrenja i kod sireva sa standardnom kulturom rastvorljivi azot iznosio je 0,252%, a sa polivalentnom kulturom 0,295%. U kasnijem periodu zrenja količine rastvorljivog azota su približno iste.

Tabela 1

Rezultati hemijskih ispitivanja trapista sa standardnom kulturom

a) klasično zrenje

Uzorak	Suva materija %	Vlaga %	Mast %	Mast u S.M. %	Ukupni azot %	Rastvor. azot %	NaCl %	pH
Sir pre vakuumiranja	54,60	45,40	25,0	45,79	3,984	0,149	1,46	5,70
Sir posle 13. dana zrenja	56,88	43,12	26,0	45,75	4,000	0,173	1,45	5,60
Sir posle 20. dana zrenja	58,15	41,85	26,0	44,71	4,162	0,255	1,51	5,55
Sir posle 27. dana zrenja	57,32	42,68	26,0	45,36	4,225	0,290	1,56	5,50
Sir posle 34. dana zrenja	59,77	40,23	27,0	45,18	4,216	0,313	1,71	5,35
b) Zrenje u foliji								
Posle 13. dana	57,34	42,66	25,0	43,60	4,094	0,221	1,02	5,70
Posle 20. dana	55,43	44,57	25,0	45,10	3,966	0,252	1,74	5,55
Posle 27. dana	56,46	43,54	26,5	46,94	4,322	0,344	1,25	5,40
Posle 34. dana	58,48	41,52	27,0	46,17	4,130	0,382	1,30	5,15

Tabela 2

Rezultati hemijskih ispitivanja trapista sa polivalentnom kulturom

a) klasično zrenje

Uzorak	Suva materija %	Vlaga %	Mast %	Mast u S.M. %	Ukupni azot %	Rastvor. azot %	NaCl %	pH
Sir pre vakuumiranja	56,96	43,04	25,0	43,89	4,278	0,156	0,97	5,50
Sir posle 13. dana zrenja	57,01	42,99	25,0	43,85	4,106	0,207	1,04	5,42
Sir posle 20. dana zrenja	58,29	41,71	25,5	43,75	4,454	0,302	1,36	5,40
Sir posle 27. dana zrenja	58,62	41,38	26,0	44,35	4,363	0,344	1,32	5,40
Sir posle 34. dana zrenja	61,74	38,26	28,5	46,16	4,459	0,388	1,37	5,25
b) Zrenje u foliji								
Posle 13. dana	57,10	42,90	25,0	43,78	4,095	0,221	1,03	5,40
Posle 20. dana	58,03	41,97	26,0	44,80	4,461	0,295	1,41	5,35
Posle 27. dana	57,08	42,92	25,5	44,67	4,226	0,343	1,28	5,30
Posle 34. dana	57,70	42,30	26,0	45,06	4,240	0,384	1,24	5,20

Iz tabele 1 i 2 zapažaju se i razlike u količini suve materije i vlage, pa je u sirevima sa klasičnim zrenjem veći procenat suve materije, naročito u sirevima sa polivalentnom kulturom, nego u sirevima u foliji u obe varijante. Ovo je sasvim normalno jer je kod sireva u foliji manje isparavanje vlage.

Organoleptička ocena ispitivanih sireva vršena je u toku celog procesa zrenja, u vreme uzimanja uzoraka za mikrobiološke i hemijske analize. Sirevi sa polivalentnom kulturom imali su izražena organoleptička svojstva zrelog sira već posle 16 dana nakon izrade, dok su sirevi sa standardnim kulturama u to vreme bili nezreli. Prosečne ocene organoleptičkih osobina ispitivanih sireva, posle 34. dana zrenja, prikazane su u tabeli 3. Zbirne vrednosti pokazuju da su sirevi sa polivalentnom kulturom bili izrazito bolji od sireva sa standardnom kulturom i da nema velike razlike u organoleptičkim karakteristikama između sireva u foliji (18,3 poena) i onih sa klasičnim zrenjem (18,0 poena). Interesantno je naglasiti da su sirevi sa standardnom kulturom i klasičnim zrenjem imali bolje ocene za ukus od sireva u foliji. Kod sireva sa polivalentnom kulturom je obrnuto, bolji je ukus kod sireva u foliji, a kod sireva sa klasičnim zrenjem bolje je ocenjen miris u upoređenju sa sirevima u foliji.

Tabela 3

Prosečne ocene organoleptičkih osobina trapista posle 34. dana zrenja

Varijante sira	Ukus	Stanje testa	Izgled preseka	Boja	Miris	Spoljni izgled	Zbir
Standardni sir, klasično zrenje	6,7	1,5	0,7	1	1,5	1,1	12,5
Standardni sir, zrenje u foliji	6,0	2,2	1,2	1	1,5	2,8	14,7
Sir sa polivalentnom kulturom, klasično zrenje	7,4	2,8	2,0	1	2,0	2,8	18,0
Sir sa polivalentnom kulturom, zrenje u foliji	7,8	2,7	2,0	1	1,8	3,0	18,3

Izneti rezultati, a naročito rezultati mikrobioloških analiza i organoleptičke ocene pokazuju da postoje značajne razlike između sireva rađenih sa polivalentnom i standardnom kulturom. Očigledno je da ove razlike u velikoj meri zavise od dodatih mikrokokka. Korišćena kultura *Micrococcus* M-104 odlikuje se acidoproteolitičkim i lipolitičkim svojstvima, a pored toga znatno sintetiše ferment sličan fermentu sirila (Štević i saradnici, 1976), koji takođe utiče na tok zrenja sireva.

Broj mikrokokka, bilo da se dodaju kao kulture ili ne, veći je u sirevima sa klasičnim zrenjem, što je i ranije konstatovano (Šutić i saradnici, 1978). Ovo se može dovesti u vezu sa ukusom i mirisom ispitivanih sireva, pa je kod sireva sa klasičnim zrenjem i standardnom kulturom bolji ukus, a kod sireva sa polivalentnom kulturom i klasičnim zrenjem bolji miris u odnosu na sireve u foliji u okviru varijanti.

Povećanje broja laktobakterija u sirevima sa polivalentnom kulturom u kasnijim fazama zrenja je skoro istovetno sa povećanjem broja mikrokokka.

Ovo se, svakako, može pripisati stimulativnom uticaju mikrokoka na laktobakterije (Šutić, 1966), a sa većim brojem povezana je i veća biohemijska aktivnost ovih bakterija (Nath and Ledford, 1971), što utiče na organoleptička svojstva sireva.

Prosečne vrednosti organoleptičkih ispitivanja pokazuju da su sirevi sa polivalentnom kulturom bolji od sireva sa standardnom kulturom, bilo da sazrevaju u foliji (18,3 poena) bilo na klasičan način (18,0 poena). Prema tome, ova su ispitivanja pokazala da se polivalentna kultura može uspešno koristiti za izradu i zrenje sireva u plastičnim folijama, kao što je to utvrdio Stević i saradnici (1973) za beli sir i Obradović (1977) za sir trapist. Slično belom siru i trapistu, sirevi u foliji sa polivalentnom kulturom imaju bolja organoleptička svojstva i sazrevaju brže od ovih sireva sa standardnim kulturama.

Zaključak

U ovim eksperimentima ispitivan je uticaj polivalentne kulture, koja se sastoji od *Streptococcus lactis* Ak-60 i *Micrococcus* M-104, te standardne kulture za zrenje sireva tipa trapista u plastičnim folijama pakovanim vakuumom.

Rezultati ispitivanja pokazuju da je broj bakterija mlečne kiseline štapičastog oblika i broj mikrokoka izrazito veći u sirevima sa polivalentnom kulturom u toku celog ispitivanog perioda zrenja nego sa standardnom kulturom. Broj streptokoka je veći u sirevima sa standardnom kulturom od 13. dana zrenja do kraja ispitivanog perioda.

Procenat rastvorljivog azota posle 13. dana zrenja je veći u sirevima sa polivalentnom kulturom i klasičnim zrenjem (0,207), nego sa standardnom kulturom (0,173), a u sirevima u foliji posle dvadesetog dana zrenja (sa polivalentnom kulturom 0,388%, sa standardnom 0,313%), što ukazuje na brže zrenje sireva sa polivalentnom kulturom.

Sirevi sa polivalentnom kulturom u foliji ocenjeni su sa 18,3 poena, a sa klasičnim zrenjem 18,0 poena, dok su sirevi sa standardnom kulturom i zrenjem u foliji imali 14,7, a ka klasičnim zrenjem 12,5 poena.

Polivalentna kultura, *Streptococcus lactis* i *Micrococcus* M-104 može se uspešno koristiti za zrenje sireva u plastičnim folijama, jer skraćuje vreme zrenja i daje bolja organoleptička svojstva sirevima od upotrebene standardne kulture.

POLYVALENT CULTURES IN CHEESE RIPENING PROCESS IN PLASTIC FOILS

SUMMARY

The effect of polyvalent cultures composed from *Streptococcus lactis* Ak-60 and *Micrococcus* M-104 on trapist cheese ripening process is investigated and results are compared with the effect of standard cultures. The cheese is vacuum packed in plastic foils.

The results of this study show that, during the investigated ripening period, the number of lactobacilli and micrococci in cheese with polyvalent cultures is considerably higher than with standard cultures; on the other hand the number of streptococci in cheeses with standard cultures is higher.

The content of soluble nitrogen with polyvalent cultures without foil, after 13 days of ripening, is higher than in the samples with standard cultures (0,207:0,173). The same conclusion can be drawn analysing the 2 samples of cheeses packed in foil, after 20 days of ripening (0,388:0,313).

What about organoleptic grades, the cheeses with polyvalent cultures in plastic foils got 18.3 points; without foil 18.0 points; with standard cultures in foils 14.7 points and without foil 12.5 points.

Polyvalent cultures *Str. lactis* Ak-60 and *Micrococcus* M-104 can be successfully used for the cheese ripening in plastic foil. The ripening period is shorter and the organoleptic properties better compared to the samples obtained with standard cultures.

Literatura

1. ALFORD, A. J. and FRAZIER, C. W. 1950. Effect of micrococci on the development of flavor when added to Cheddar cheese made from pasteurized milk. *J. Dairy Sci.* 2, 115.
2. BARNES, E. M. 1956. *J. appl. Bact.* 19, 193.
3. BOTTAZI, V. and BATTISTOTTI, B. 1966. Manufacture of Provalone Cheese with Micrococci. XVII International Dairy Congress, D: 2, 571.
4. GORINI, M. E. C. 1925. Sulla microflora mammaria in rapporto al caseificio. *Rassegna Internazionale di Agronomia*, N. S. Vol. III, 62—85.
5. NATH, K. R. and LEDEFORD, R. A. 1971. Stimulation of the rate of Acid Production by Lactobacilli in Media Containing a Capsular Substance from Micrococci. *J. of Dairy Sci.* 54 (12), 1784—1789.
6. NAYLOR, J. and M. ELISABETH SHARPE, 1958. *J. od Dairy Res.* 25, 92.
7. OBRADOVIĆ, D. 1977. Izrada trapista združenim kulturama bakterija mlečnog vrenja i mikrokoka sa osvrtom na promene masti. Magistarski rad.
8. PEJIĆ, O. i ĐORĐEVIĆ, J. 1963. Mlekarski praktikum, Beograd. Zavoda za udžbenike i nastavna sredstva Srbije.
9. RITTER, P. 1962. Beeinflussung der Säuerung der im Emmentalerkäse notwendigen thermophilen Milchsäurebakterien durch Fördernde Mikrokokken aus Milch. XVI Inter. Dairy Congress, Sec. IV, 2, 712.
10. ROGOSA, M., MITCHELL, J. A. and R. F. WISEMAN. 1951. *J. Bact.* 62, 132—133.
11. ŠTEVIĆ, B., ŠUTIĆ MARIJA i STOJANOVIĆ, M. 1973. Polivalentne kulture u izradi belog sira. *Arhiv za polj. nauke. God. XXVI*, 95, 3.
12. ŠTEVIĆ, B., ŠUTIĆ MARIJA i BAČIĆ BRANKA, 1976. Sinteza sirišnog fermenta s *Micrococcus* M-104. III kongres mikrobiologa Jugoslavije, Bled, 240—241.
13. ŠIPKA, M. i MILJKOVIĆ VIŠESLAVA. 1975. Metode pregleda mleka i mlečnih proizvoda. Beograd. Naučna knjiga.
14. ŠUTIĆ MARIJA, 1964. Odnosi i uloga pojedinih grupa mikroorganizama u toku zrenja kačkavalja. Doktorska disertacija. *Zbornik radova Polj. fakulteta, Godina XIV*, br. 410, 1966.
15. ŠUTIĆ MARIJA, 1966. Biocenotski odnosi nekih laktobakterija i mikrokoka izdvojenih iz kačkavalja. *Mikrobiologija*, 3, 1, 21.
16. ŠUTIĆ MARIJA, MARKOVIĆ, D., DAVITKOV, A. i JAKIMOV NADA. 1978. Neke mikrobiološke i hemijske promene sira trapista zavisno od načina čuvanja u toku zrenja. V jugoslavenski kongres o ishrani, Sarajevo.