

PRILOG PROUČAVANJU NADIMANJA SIRA TRAPISTA U FOLIJI

Prof. dr Marija ŠUTIĆ, Poljoprivredni fakultet, Beograd
Duško MARKOVIĆ, dipl. inž. Aleksandar DAVITKOV, dipl. inž.
Poljoprivredni kombinat »Beograd«

Uvod

Nadimanje sireva spada u najčešće mane sireva, a uzročnici ovih mana su veoma dobro poznati. Rano nadimanje izazivaju *Coli-aerogenes* bakterije, a kasno nadimanje sporogene bakterije roda *Clostridium*. Za ove mane karakteristično je stvaranje velikog broja sitnih šupljika kod ranog nadimanja, a krupnih šupljika i pukotina sa izrazitim neprijatnim mirisom kod kasnog nadimanja sireva.

Međutim, javlja se nadimanje sireva sa karakteristikama kasnog nadimanja gde uzročnici nisu sporogene bakterije. Tako su Pette i sar. (1943) utvrdili da *Lactobacillus bifementans* može da stvara okca, rupe i pukotine u siru *gauda*. Poreklo ovih bakterija je iz kontaminiranih sirila. Dorner i Thöni (1973) kao i drugi autori, opisali su *Bacterium proteolyticum* kao uzročnika nadimanja, sa pojavom okaca, pukotina i mirisa karakterističnog za proteolizu. Sherwood (1939) navodi da su laktobakterije sposobne da vrše dekarboksilaciju aminokiselina i izdvojen CO_2 vrši nadimanje, a to su sojevi *L. plantarum* i *L. brevis*.

Stadhouders i Veringa (1968) su, također, izolovali bakterije mlečne kiseline kao uzročnike nadimanja sira *gaude*. Izolovani sojevi pripadaju vrsti koja je po karakteristikama slična vrstama *L. casei* i *L. plantarum*, ali je tolerantnija u odnosu na veće koncentracije soli. Ova vrsta razlaže aminokiseline pri čemu stvara neprijatan miris, amonijak i gas (CO_2) kao *Bacterium proteolyticum*.

U proizvodnji sireva u folijama javlja se, također, nadimanje sa nekim karakteristikama kasnog nadimanja. Prilikom ispitivanja ove pojave zapazili smo neke karakteristične promene koje ćemo u ovom radu prikazati.

Materijal i metodika

Za mikrobiološku analizu dobijena su 3 komada sira »trapist« različitog datuma proizvodnje i vakuum pakovanih u crvene folije. Svi sirevi su bili naduveni. Sir br. 1. proizveden je 9. 10. 1978. br. 2. 13. 10. 1978. i sir br. 3. 16. 10. 1978. godine.

Kod svih sireva određivan je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija na YDA, ukupan broj štapićastih bakterija mlečne kiseline na Rogoza podlozi, ukupan broj mikrokokka na MPA sa 10% NaCl, *Coli-aerogenes* bakterije na Mac Conkey podlozi, sporogene bakterije na podlozi sa tioglikolatom, Wilson-Blair podlozi i obranom mleku (zasejavanje je vršeno posle zagrevanja razređenja 1:10 na 80°C za 10 minuta). Pored toga, iz svih razređenja zasejavano je obrano mleko u duboki agar sa parafinom.

Rezultati ispitivanja

Ispitivani sirevi su bili stari 50—55 dana i izrazito naduveni, što se vidi na slici 1. Kod sira br. 1. bilo je gasa i između sira i folija, a šupljika i na površinskom delu sira. Svi ispitani uzorci na preseku su imali velike šupljike i pukotine, a na jednom delu blizu kore veliki broj sitnijih šupljika (slika br.

2.). Miris sireva je bio malo nakiseo, ali prijatan na svež gruš, a ukus prijatan slabo kiseo karakterističan za nedovoljno zreo sir.

Rezultati mikrobioloških analiza prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1

Broj mikroorganizama u ispitivanim sirevima

Tipovi mikroorganizama	sirevi		
	1	2	3
Ukupan broj bakterija	1,256.000.000	218.000.000	744.000.000
Štapičaste bakterije mlečne kiseline	663.000.000	153.000.000	468.000.000
Mikrokoki	70.000	—	10.000
Coli-aerogenes	+10 ⁶	+10 ⁶	+10 ⁶
Sporogene bakterije tipa <i>Clostridium</i>	—	—	—
Sporogene bakterije tipa <i>Bacillus</i>	+10 ¹	+10 ¹	+10 ¹
Obrano mleko od 10 ¹ do 10 ⁶	U svim epruvetama zgrušavanje mleka sa obilnim količinama gasa, tako da je u nekim epruvetama došlo do pojava pukotina kao u siru. Miris mleka prijatan, slabo kiseo.		

Rezultati u tabeli 1 pokazuju da je izuzetno veliki ukupan broj bakterija, broj bakterija mlečne kiseline i *Coli-aerogenes* bakterija, što nije normalno za sireve stare skoro dva meseca (50—55 dana). Ovo pokazuje da je zrenje sireva usporeno, jer je broj tipičan za sireve stare oko 10 dana, a ovom potvrđuje i organoleptička ocena sireva, jer smo napred naveli da imaju ukus nezrelog sira.

U sirevima nisu nađene bakterije tipa *Clostridium*, pa prema tome ove bakterije nisu uzročnici nadimanja.

Sa Rogoza podloge vršili smo izolacije bakterija mlečne kiseline i u podlogama sa šećerom ni jedan izolat nije stvarao gas (po 10 izolata iz svakog sira).

U Mac Conkey podlozi nije formirana izrazito žuta boja, ali su Durham cevčice bile pune gasa. Iz ove podloge zasejavali smo Endo agar i dobili kolonije crvene sa metalnim sjajem karakteristične za tipičnu vrstu *Escherichia coli*. Čiste izolate smo ponovo zasejavali u Mac Conkey podlogu i ovog puta je bila veoma slaba žuta boja, ali su cevčice bile pune gasa. Ovo pokazuje da se radi o soju *E. coli*, koji slabo stvara kiselinu, a mnogo više gasa. Karakteristike izolovanih sojeva proverene su IMVC testom i bojenjem po Gramu. Izolati su zasejani u YDA sa parafinom i u ovoj podlozi došlo je do stvaranja većih količina gasa, što se vidi na slici 3.

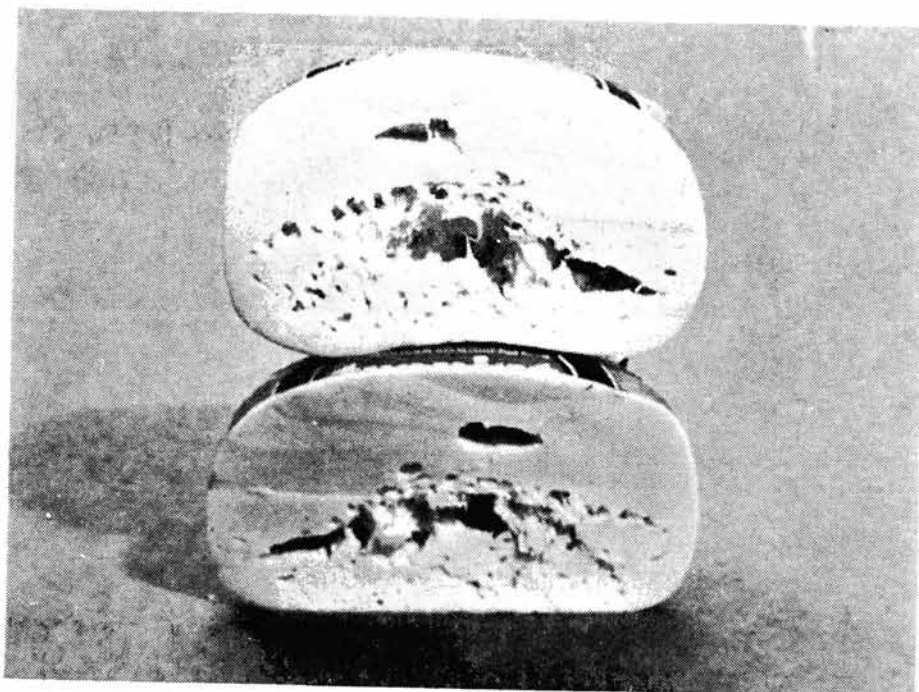
Izolati *E. coli* ponovo su zasejani u obrano mleko i za 24 časa mleko je bilo zgrušeno sa velikim brojem šupljika, pa čak i pukotina, što ukazuje na veliku produkciju gasa. Iz ovih podataka proizlazi da bi *E. coli* mogao biti uzročnik nadimanja ispitivanih sireva, ali se moramo ograditi jer nisu vršeni eksperimenti sa sirevima uz dodatak ovih izolata.

Postavlja se pitanje zašto je došlo do ovako intenzivnog razvoja *E. coli* i usporenog razvoja bakterija mlečne kiseline?

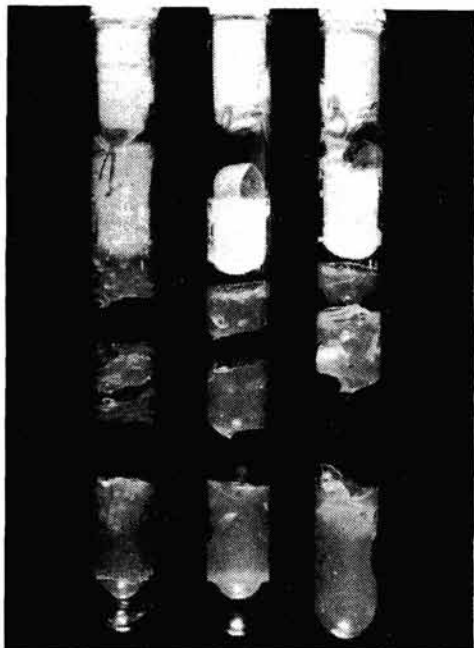
Uzroci mogu biti različiti, a najčešće je slaba maja, velika kontaminacija drugim bakterijama, prisustvo različitih supstanci koje sprečavaju razvoj bak-



Slika 1. Naduveni sir trapist, star 50 dana



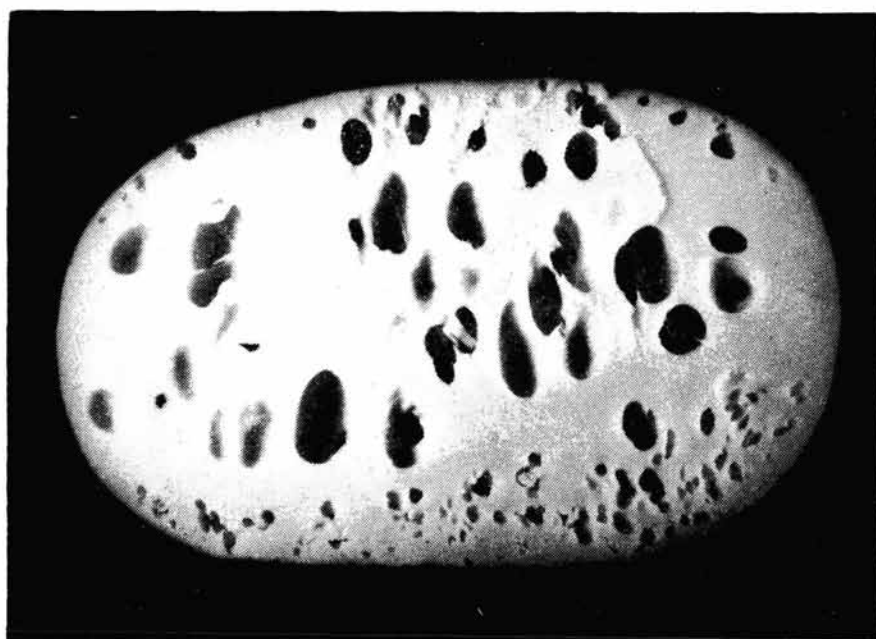
Slika 2. Presek naduvenog sira trapista



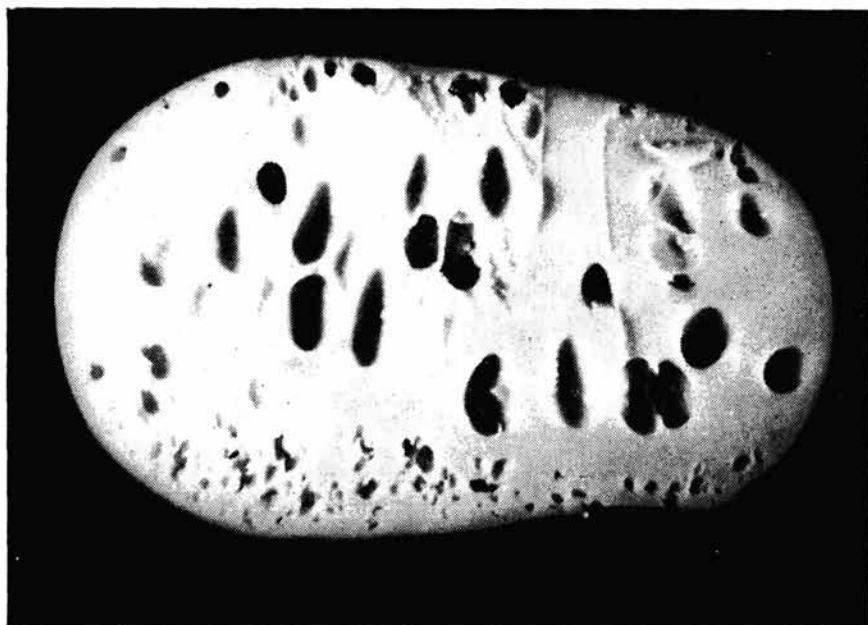
Slika 3. Izdvojeni izolati *E. coli* iz na-
duvenih sireva



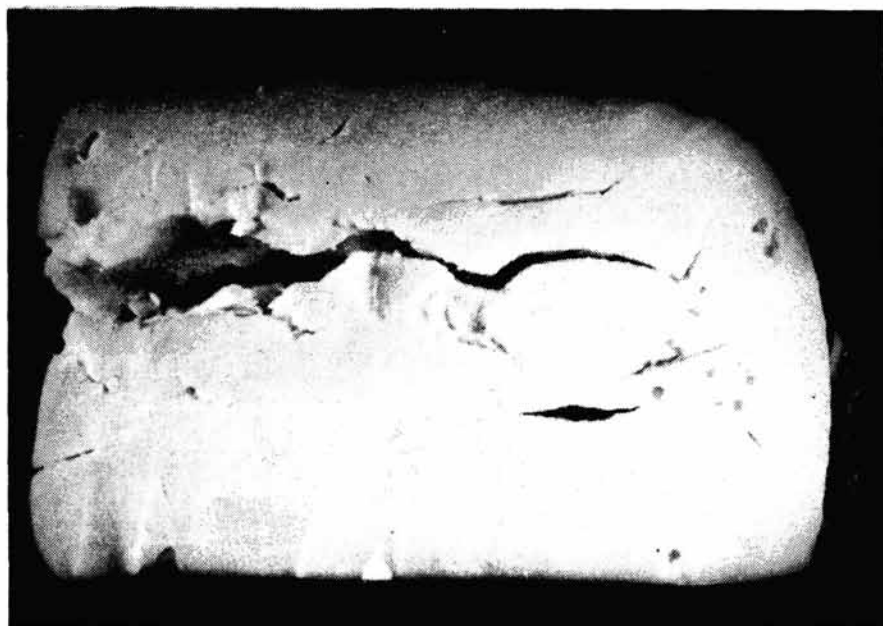
Slika 4. Trapist u foliji, star 2 meseca



Slika 5. Presek trapista sa tipičnim buternim vrenjem. Miris sira na buternu
kiselinu



Slika 6. Presek trapista sa buternim vrenjem, starog 3 meseca



Slika 7. Sir gauda u foliji, star 3 meseca. Nema neprijatan miris, ali ima gorak ukus

terija mlečne kiseline i dr. Pregledom čistih kultura bakterija mlečne kiseline, koje su upotrebljene za izradu sireva utvrdili smo da su sve kulture dobre, na vreme stvaraju kiselinu i nisu kontaminirane drugim bakterijama. Prema tome, maja nije uzrok lošem razvoju u siru, već neko jedinjenje u mleku, koje usporava razvoj ovih bakterija.

U ranijim ispitivanjima utvrdili smo da aflatoksin deluje na bakterije mlečne kiseline i to kako na morfološki izgled, tako i na fiziološke odlike, odnosno kod nekih vrsta usporava stvaranje kiselina, što zavisi od koncentracije aflatoksina. Stoga smo kod svih ispitivanih sireva i jednog normalnog sira (kao kontrolnog, proizvedenog u isto vreme) izvršili analize na prisustvo aflatoksina i utvrdili da sva tri naduvena sira sadrže aflatoksin, a kontrolni sir ne sadrži.

Diskusija i zaključak

Prema iznetim rezultatima može se smatrati da su izolati vrste *Escherichia coli* uzročnik kasnog nadimanja sireva trapist. Ovi izolati se po nekim karakteristikama razlikuju od bakterija grupe *Coli-aerogenes*, koje se obično nalaze u mleku i proizvodima od mleka, a naročito u pogledu stvaranja kiseline i gasa. Za ove bakterije je karakteristično da izazivaju rano nadimanje sireva, koje se može javiti još za vreme presovanja sireva. Međutim, ovde se radi o kasnom nadimanju, što je karakteristika bakterija iz roda *Clostridium* i čiji razvoj se obično sprečava dodavanjem nitrata (Giesloot 1864).

Interesantno je ponovo istaći da naduveni sirevi trapista u folijama nemaju neprijatan miris ni okus već deluju kao nezreli sirevi. Kod drugih uzročnika nadimanja, kao što su bakterije mlečne kiseline *L. bifermentans* (Pette i sarad. 1943) *L. plantarum* i *L. brevis* (Sherwood 1939), sojevi bakterija mlečne kiseline slični vrstama *L. casei* i *L. plantarum* (Stadhouders i Veringa, 1968), kao i *Bacterium proteolyticum* dolazi i do promene ukusa i mirisa, koji nastaju razlaganjem belančevina, odnosno transformacijom aminokiselina.

S obzirom da je konstatovano prisustvo aflatoksina u svim ispitivanim uzorcima naduvenih sireva, moglo bi se zaključiti da je prisustvo aflatoksina u mleku koje je upotrebljeno za sireve i u sirevima uzročnik usporenog razvoja bakterije mlečne kiseline, pa se zbog toga možda, bakterije grupe *Coli-aerogenes* mogu intenzivnije da razvijaju. Aflatoksin B₁ deluje i na morfološke promene. *E. coli* i ćelije se izdužuju i stvaraju dugačke filamente (Curry and Greenberg, 1962, Kilgore and Greenberg, 1961), ali nemamo podatke kako deluje na fiziološke osobine ove bakterije. Ovo je svakako veoma složen problem kome se mora posvetiti posebna pažnja.

Smatramo da se mora obratiti mnogo veća pažnja ishrani muznih krava, da ne dođe do kontaminacije mleka sa aflatoksinom, jer se na taj način smanjuje potencijalna opasnost po ljudsko zdravlje, a smanjuju se i ekonomski gubici u proizvodnji.

Svakako da je potrebno obratiti i veću pažnju kontroli proizvodnje, jer je očigledno da su ispitivani sirevi jače kontaminirani bakterijama *E. coli*.

Literatura

1. CURRY, J. and GREENBERG, J. 1962: Filament formation in radioresistant mutants of *Escherichia coli* S after treatment with ultraviolet light and radiomimetic agents. *J. Bacteriol.* **88**, 38—42.
2. DORNER, W. and THÖNI, M. 1937. Citirano po Stadhouders and Veringa, 1967. *Neth. Milk & Dairy J.* **21**, 192—207.

3. GALESLOOT, E. TH. 1964: Enkele factoren die invloed uitoefenen op de werking van nitraat als middel tegen boterzuurgisting in edammer en goudse kaas. *Neth. Milk & Dairy J.* **18**, 127—138.
4. KILGORE, W. W. and GREENBERG, J. 1961. Filament formation and resistance to 1-methyl-3-nitrosoguanidine and other radiomimetic compounds in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **81**, 258—165.
5. PETEE, J. W. and BEYNUM, J. VAN, 1943: Citirano po Stadhouders and Veringa 1967, *Neth. Milk and Dairy J.* **21**, 192—207.
6. SHERWOOD, I. R. 1939: Citirano po Stadhouders and Veringa, 1967: *Neth. Milk & Dairy, J.* **21**, 192—207.
7. STADHOUDERS, J. and VERINGA, H. A. 1967: Texture and flavour defects in cheese caused by bacteria from contaminated rennet. *Neth. Milk & Dairy J.* **21**, 192—207.

UTICAJ SASTAVA KULTURA NA PROIZVODNJU I KVALITET ACIDOFILNOG MLIJEKA

Mr. Slavica ŠVIGIR-VARGA, »Dukat« Zagreb

Acidofilno mlijeko je mlječno kiseli dijetetski proizvod dobiven fermentacijom termički obrađenog mlijeka čistom kulturom *Lactobacillus acidophilus*-a.

U mlijeku kao hranivom mediju taj mikroorganizam transformacijom laktoze proizvodi znatne količine mlječne kiseline 1,6—2,2%, Ca i P soli mlječne kiseline, vitamine B-kompleksa, folnu i foliničnu kiselinu i K vitamin, te antibiotsku, termostabilnu supstancu »laktocidin«. Na osnovu brojnih istraživanja i publiciranja svi fermentirani mlječni proizvodi koji sadrže *L. a.*, svrstavaju se u proizvode koji imaju dijetetsku, profilaktičku i terapeutsku vrijednost (od Mečnikova do danas).

U novije vrijeme, naročito u zap. Evropi i Americi pojavilo se na tržištu niz mlječno kiselih napitaka (vrhnje, sirevi, paste, patentirani napitci, itd.) u čijoj fermentaciji se osim standardnih mikroorganizama ubacuju u kombinaciji i *L. a.* (Salvadori, Lipatov, Sharp, Lawrence, Paris, Niven, Birman, Koroлева, Girginov i drugi.).

Od 1969 godine Zagrebačka mljekara proizvodi dijetalno kiselo mlijeko sa nazivom »Acidofil« gdje u fermentaciji učestvuje *L. a.*

U desetogodišnjem periodu te proizvodnje stečeno je izvjesno iskustvo te uočena nova saznanja. Izvršene su razne modifikacije u tehnološkom procesu, odabiranju i uzgoju sojeva *L. a.* i njihovoj upotrebi u sastavu kultura, mijenjani su sistemi kontrole i vršeni razni pokusi u medicinskim institucijama za potvrdu njegove dijetetske, profilaktične i terapeutske vrijednosti.

Industrijska proizvodnja i kvalitet »Acidofila« ovisi o nizu faktora:

- kvaliteti mlijeka kao sirovine
- termičkoj obradi mlijeka
- odabiranju sojeva bakterija za pripremu sastava čistih kultura
- uvjetima zrenja, hlađenja i skladištenja
- postizavanju tehnoloških, higijensko-zdravstvenih zahtjeva.

U ovom radu opisat će se načini odabiranja sojeva *L. a.* za proizvodnju matičnih kultura i njihov uticaj na kvalitet proizvoda.

Za postizavanje odgovarajuće kvalitete »Acidofila« u selekciji sojeva, oni moraju ispunjavati tehnološke i dijetetske kriterije.

U tehnološke kriterije se ubraja:

- proizvodnja mlječne kiseline