

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 opisan 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

- formiranje grušā
- proizvodnja specifične arome
- intenziviranje proteolize

U dijetetske kriterije spadaju:

- implantacija L. a. u probavnom traktu i mogućnost daljnjeg razmnažanja.
- intenziviranje stvaranja proizvoda metabolizma (mlječna kiselina, laktati, vitamini, antibiotske supstance, amino kiseline itd.)

Izučavanjem procesa metabolizma raznih sojeva L. a. može se izvršiti njihovo odabiranje za sastav kultura, čija upotreba može osigurati proizvodnju dijetetsku i profilaktičku vrijednost. Selekcija može biti prema konfiguraciji mlječne kiseline, intenziviranju sinteze nukleotida, laktocidina itd.). Međutim selekcija sojeva prema njihovoj dijetalnoj vrijednosti za tehnologe je interesantno, samo u vezi ishrane (namirnica sa lako probavljivim bjelanjčevinama, bogata vitaminima i visokim % mlječne kiseline koja stabilizira pH u probavnom traktu), dok je selekcija sojeva prema njihovoj terapijskoj vrijednosti interesantnija za medicinske radnike.

Selekcija sojeva L. a. prema intenzitetu stvaranja mlječne kiseline

Mlječna kiselina u početku favorizira razvoj laktobacila stvaranjem optimalnog pH, osigurava stabilnost normalne fermentacije, pospješuje izlučivanje enzima i koenzima koji sudjeluju u razmnožavanju mikroorganizama.

Prvo se vršilo odabiranje sojeva po njihovoj sposobnosti stvaranja mlječne kiseline po testu acidifikacije.

U pokusu u kojem su testirana 4 soja L. a. na dinamiku stvaranja kiseline u inkubacionom periodu od 2—20 sati na 37°C sa različitim % inokuluma, dobiveni su rezultati prikazani u tabeli 1.

Tabela 1

Dinamika stvaranja kiseline (°SH) kod 4 soja L. a.

Oznaka soja	Inkubacija u satima						Inokuluma %
	2	4	8	12	16	20	
1/E	15	25	40	55	85	98	0,5
	23	35	60	80	99	100	3
	30	55	70	88	100	112	6
A/S	10	25	38	50	62	87	0,5
	15	32	58	78	90	103	3
	20	48	72	90,3	99	120	6
5. W	8	15	30	35	50	60,4	0,5
	9	25	38	44,8	52	60	3
	15	30	41	55	60	78	6
1/B	10	25	40	51	60	90	0,5
	18	32	48	60	77	100	3
	20	40	59	68	90	130	6

Po izvršenom testu acidifikacije utvrđeno je, koje vremensko razdoblje i % cjeviva je potrebno da ispitivani soj postigne optimalnu acidifikaciju mlijeka.

Najoptimalnija kiselost kultura L. a. izražena u °SH je 60—90, a postignuta je sa 0,1—1% inokuluma za 4—12 sati inkubacije na 37°C. Upotreba takove kulture u proizvodnji »Acidofila« osigurava proizvod koji postiže 35—45°SH sa 2—4% cjeviva u inkubaciji od 3—4 sata na 37°C. U proizvodnji

Acidofila postignuti su bolji rezultati upotrebom miješanih sojeva L. a. sa višim i nižim stupnjem kiselosti. Jedni favoriziraju rast drugih, a i eliminira se rizik kod pojave nepovezane, nježne konzistencije (viši °SH) i pomanjkanje aromatskih substanci i pojava metalnog okusa (niži °SH).

Vršeni su pokusi utvrđivanja, koliko stupanj kiselosti utječe na krivulju rasta bakterija (na njihov aktivitet). Prikazan je pokus sa dva soja L. a. koji su inkubirani na 37°C sa 0,5% cjepiva. U tabeli 2 prikazana je dinamika rasta kiselosti (°SH) i broj vitalnih stanica u 1 ml ispitivanog soja.

Tabela 2 Porast kiselosti i broja stanica tokom inkubacije

Sati inkubacije	°SH	u mil./l ml bakt.	oznaka kulture
2 h	22	110	1/K
	20	90	1/RR ₂
4 h	38	200	1/K
	40	250	1/RR ₂
6 h	54	350	1/K
	60	380	1/RR ₂
10 h	72	520	1/K
	80	580	1/RR ₂
20 h	110	710	1/K
	120	720	1/RR ₂

Iz testa je vidljivo da aktivitet ne opada sa porastom kiselosti do 20 sati inkubacije. Ipak za proizvodnju se ne preporučuje upotreba sojeva L. a. sa visokim stupnjem kiselosti, jer postoji opasnost za stabilnost gruša proizvoda, proizvod je prekiseo i lošeg okusa. Najbolji su rezultati postignuti upotrebom kulture L. a. sa aktivitetom od 200—5000 mil/ml živih stanica. Upotrebom takove kulture dobiva se gotov proizvod sa 10—100 mil. u 1 ml.

Razlikujemo tri faze acidifikacije:

- latentna faza
- ekspanzionalni rast
- faza usporavanja i
- latentna faza rasta.

Kod selekcije kultura za proizvodnju Acidofila, najbolja je upotreba sojeva L. a. koji imaju kratku latentnu fazu. Sojevi sa dužom latentnom fazom nisu dovoljno aktivni i lakše podliježu mutaciji tokom proizvodnje, neotporni su i lako ih prerastavaju drugi mikroorganizmi. Dužina latentne faze ovisi o vrsti sojeva, temp. inkubacije i % inokuluma. U selekciji odabiru se sojevi čija faza latencije ne prelazi 1/2 do 1 sat, sa 0,1% cjepiva, inkubirani na 37°C.

Logaritamska faza rasta

Odabiru se sojevi L. a. čija krivulja razvoja naglo raste sa odgovarajućim porastom °SH. Taj interval burnog razvoja mikroorganizama treba biti što kraći. Dugo trajanje te faze sa slabim porastom kiselosti, indicira na slabu aktivnost kulture. Sojevi L. a. ekspanzionalnom fazom rasta u rasponu od 2,5—4 sata su najpogodniji u proizvodnji.

Faza usporavanja

Mora biti što kraća, jer se tako smanjuje povišenje kiselosti proizvoda za vrijeme hlađenja i skladištenja. U tom pravcu vrši se selekcija sojeva. Sojevi L. a. koji povisuju kiselost za 20—30°SH iz faze usporavanja do faze opadanja, najbolji su za proizvodnju.

U proizvodnji *Acidofila* vrlo je česta pojava naglo razvijanje kiselosti, tokom zrenja kao i skladištenja. To skraćuje trajnost proizvoda i onemogućava transport na duže relacije. Također se dobiva proizvod sa lošom konzistencijom i okusom. Pokušalo se uzgojiti sojeve *L. a.* koji općenito stvaraju manje mliječne kiseline, nakon zrenja postepeno smanjuju dinamiku rasta, a naročito tokom hlađenja i skladištenja. Vršeni su pokusi s adaptiranjem sojeva na višim temperaturama inkubacije 45–50°C kako bi se dobili takovi sojevi. Rezultati su prikazani u tabeli 3.

Tabela 3 Dinamika kiselosti kultura aklimatiziranih na 50 i 37°C

Vrijeme uzimanja uzoraka	Kultura aklimatizirana na 50°C		Ista kultura inkubirana na 37°C			
	vrste uzoraka		vrsta uzoraka			
	1/1	2/1	3/1	1/1	2/1	3/1
	°SH		°SH			
Poslije 3 h inkubacije	30,5	29,0	37,0	32,0	30,5	36,2
Poslije hlađenja	37,6	36,5	39,0	57,5	54,0	48,5

Adaptiranjem sojeva na višim temperaturama uspjelo je uzgojiti sojeve sa oslabljenom energijom stvaranja kiseline, naročito poslije zrenja i skladištenja. Upotreba viših temperatura u uzgoju slabi aktivitet kulture, jer to nije optimalna temperatura za razvoj. Slični rezultati su postignuti i u osiromašenju hranjive podloge, povišenju pH podloge itd.

Proteolitička aktivnost

Normalna proteolitička aktivnost sojeva *L. a.* osigurava sintezu nukleinskih kiselina za razvoj novih stanica tokom zrenja, djelovanjem enzima i koenzima, te oslobađa neke aminokiseline koje favoriziraju razvoj *Laktobacila*.

Sojevi s urednom proteolitičkom aktivnosti osiguravaju proizvodu stvaranje aromatskih substanci, čistoću proizvoda (stabiliziraju pH) i proizvod čine lako probavljivim. U uzgoju sojeva *L. a.*, zapravo tokom njihovog održavanja i upotrebe vrlo često opada njihova proteolitička aktivnost, a s tim u vezi njihov aktivitet. Vjerojatno, da je do tih promjena u sojevima došlo djelovanjem mutacija. Dodavanjem faktora rasta, kao i adaptiranje sojeva u medijima sa visokim pH (NaHCO_3 , CaO , Ca_2CO_3 itd.) uspješno se intenzivira njihova proteolitička aktivnost.

Za poboljšanje konzistencije, viskoznosti i okusa, često se u kombinacijama kultura ubacuju filant sojevi. Također i niže temperature inkubacije, transformiraju neke normalne sojeve *L. a.* u sluzave forme.

L. a. je bakterija koja je vrlo osjetljiva na sve inhibitorne supstance, sezonske varijacije u sastavu mlijeka, antagonističko djelovanje sporogenih bakterija i vrlo lako podliježe raznim mutacijama. Zato je preporučljivo, da odabrane sojeve za pripremu matičnih kultura, a koji su uzgojeni u obranom sterilnom mlijeku, adaptiramo putem višekratnih precjepljivanja na prokuhano pasterizirano mlijeko. To je potrebno da se postigne početna vitalnost sojeva koju oni imaju u obranom mlijeku.

Priprema i održavanje matične kulture

Matična kultura za proizvodnju *Acidofila* priprema se od odabranih sojeva *L. a.* finalno uzgojenih na sterilnom obranom mlijeku koji se svaki posebno inokulira u termički obrađeno mlijeko u proizvodnji. Vršiti se rotacija

sojeva sa najviše 2—5 sojeva, radi održavanja konstantnih biokemijskih svojstava proizvoda. Sojevi koji služe kao matična kultura ne smiju se upotrebljavati stariji od 12—24 sata i moraju biti čuvani na +6 do +10°C.

Stariju kulturu treba reaktivirati dodatkom raznih faktora rasta. Čuvanje sojeva najbolje je na +2 do +4°C, ne duže od sedam dana, što je ovisno o kiselosti medija i vrsti soja.

Matične kulture se pored standardne laboratorijske kontrole jedanput sedmično ispituju na aktivnost i čistoću soja, a jedanputa mjesečno na kratki biokemijski niz za identifikaciju i metaboličku aktivnost.

Zaključak

U uslovima industrijske proizvodnje »Acidofila« konstantan kvalitet proizvoda može osigurati uz ostale faktore koji su bitni u proizvodnji i posebno odažrana matična kultura, koja se bazira na selekciji sojeva L. a. po tehnološkim i dijetetskim kriterijima.

Literatura

1. PAULE, R.: Contribution a l'etude biochimique du genre *Lactobacillus* par une methode normalisée. Université Claude Bernard, Lyon 1971
2. BUTTIAUX, R.: Manuel de technique bacteriologiques Flammarion. Medicine sciences, Paris 1974.
3. KOLOTILOVA, A. J., GLUŠANKOV, E. P.: Vitamini. Izdatelstvo Leningradskogo Universiteta, Leningrad 1976
4. BIANCHI-SALVADORI G., GOTI, B (1978): Etude sur les variations de la flore lactique et bifide intestinale. *Le Lait*, 58 571—572
5. KNEZ, V. MAŠEK, J., MAXA, V., TEPLY, M.: Čiste mlekarske kulturu. Statni nakladatelstvi i tehnicke literatury Slovenske vydavatelstvo technickei literatury, Praha-Bratislava 1960
6. KOROLEVA, N. S.: Tehničeskaja mikrobiologija kiselomlečnih produktov. Pišćevaja promišlenost, Moskva 1966
7. ADRIAN, I.: Valeur alimentaire du lait. La maison rustique, Libr. de l'Acad. de agric. Paris 1973
8. DEMETER, K.: Bakteriologische Untersuchungsmethoden der Milchwirtschaft Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 1952
9. KEJLERMANN, R.: Milchwirtschaft Mikrobiologie. Heinrichs Verlag KG, Hildesheim 1962
10. ULJANOV, Ž., UMAROV, U. (1974): Soderžanie tiamina i riboflavina v moloko i moločnih produktah. *Moločnaja promišlenost* 12, 28—30

FAKTORI KOJI UTJEČU NA PROIZVODNJU SIRA »COTTAGE«

Nikola TABORŠAK, dipl. inž. »Sirela« Bjelovar

Uvod

Siromašan asortiman naših svježih sireva općenito uvjetuje nisku potrošnju, a time i nepovoljnu strukturu naše prehrane.

Želimo li asortiman proširiti nameću nam se praktično dva načina i to:

1. da proučavamo asortiman i tehnološke postupke proizvodnje u drugim zemljama i da prenosimo pozitivna iskustva u naše uvjete,
2. da se poslužimo našom narodnom riznicom mlječnih proizvoda i učinimo što je moguće više na prenošenju i razradi postupaka proizvodnje za industrijske uvjete.

Prvi način koristi se kod nas u značajnoj mjeri, dok se drugi način koristi daleko manje radi potrebe temeljitijih istraživanja, a i većih ulaganja.

Kao dobar primjer uspješnog ulaganja u takve napore jest proizvodnja sira »Cottage« u SAD. Porijeklo tog sira nije definitivno utvrđeno ni u SAD. U tzv. doba kolonizacije doseljenici su prenijeli i svoje običaje. Tako se u do-