

## ORIGINAL SCIENTIFIC PAPER

# Mikrobiološka kvaliteta komercijalnog pekarskog kvasca na hrvatskom tržištu

Karla Hanousek Čiča<sup>1</sup>, Damir Stanzer<sup>1</sup>, Ksenija Markov<sup>2</sup>, Jadranka Frece<sup>2</sup>, Jasna Mrvčić<sup>1\*</sup><sup>1</sup> Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 10 000 Zagreb<sup>2</sup> Laboratorij za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 10 000 Zagreb**Sažetak**

Komercijalni pekarski kvasac je aktivna biomasa kvasca *Saccharomyces cerevisiae* kojoj se tijekom procesa proizvodnje, distribucije i skladištenja pridružuju i drugi nenamjenski mikroorganizmi. U radu je ispitana mikrobiološka kvaliteta uzoraka svježih i suhih oblika pekarskog kvasca različitih proizvođača prisutnih na hrvatskom tržištu. Za izolaciju i identifikaciju mikrobnih populacija u uzorcima pekarskog kvasca upotrijebljene su klasične mikrobiološke metode, a mikrobni rast određen je brojanjem poraslih kolonija na selektivnim hranjivim podlogama. Rezultati su pokazali da su bakterije mliječne kiseline (BMK) dominantni pridruženi mikroorganizmi pekarskom kvascu, prisutni u koncentraciji od  $10^5$  -  $10^8$  st/g. U uzorcima kvasca dokazani su i divlji kvasci i koliformne bakterije u koncentraciji od  $10^3$ , odnosno  $10^4$  st/g. Suhi pekarski kvasac imao je bolju mikrobiološku kvalitetu budući da u uzorcima nisu dokazane plijesni i bakterija *Listeria monocytogenes*. *Salmonella sp.* i *Escherichia coli* nisu dokazane u nijednom uzorku, dok je *Staphylococcus aureus* dokazan u 89% uzoraka svježeg te 67% uzoraka suhog kvasca u koncentraciji od oko  $10^1$  st/g.

**Ključne riječi:** pekarski kvasac, mikrobiološka kvaliteta, bakterije mliječne kiseline**Summary**

Commercial baker's yeast is active biomass of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. During production, distribution and storage it is joined by other microorganisms. In this work microbiological quality of samples of fresh and dried form of baker's yeast of different manufacturers present on the Croatian market has been researched. Classical microbiological methods were used for the isolation and identification of microbial populations in the samples of yeast. Microbial growth was determined by counting the colonies grown on the selective medium. The results showed that the dominant yeast contaminants were lactic acid bacteria ( $10^5$ - $10^8$  cells/g). Apart from them, wild yeasts ( $10^3$  cells/g) and coliform bacteria ( $10^4$  cells/g) were also detected. Dry yeast had a better microbiological quality while in those samples molds and *Listeria monocytogenes* were not detected. *Salmonella* and *Escherichia coli* were not detected in any sample, while *Staphylococcus aureus* was detected in 89% of fresh and 67% of dry yeast samples ( $10^1$  cells/g).

**Keywords:** baker's yeast, microbiological quality, lactic acid bacteria**Uvod**

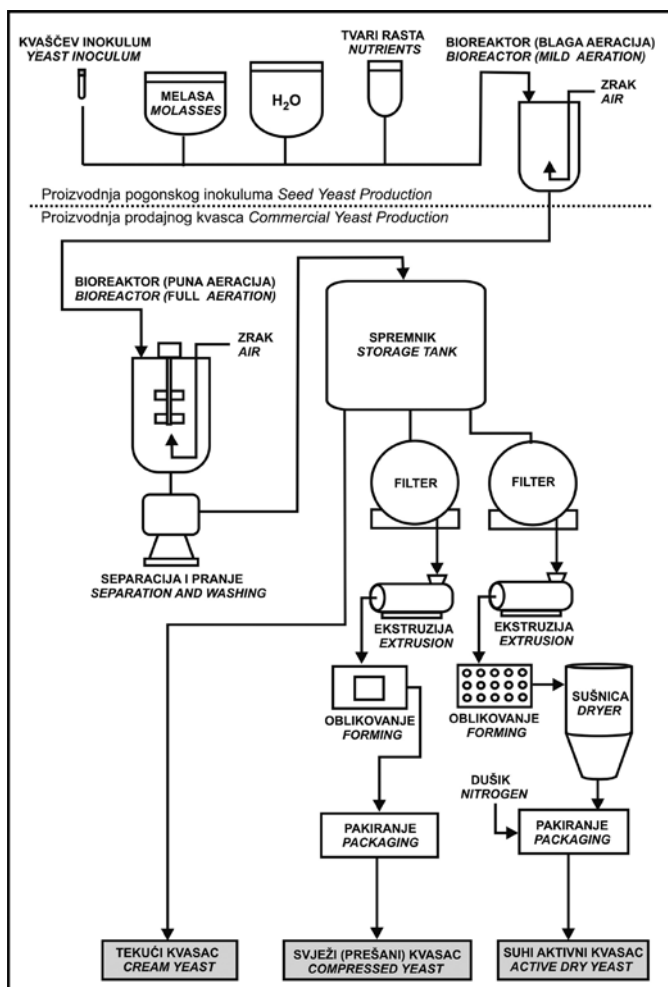
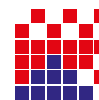
Budući da je kruh jedna od osnovnih prehrambenih namirnica, a pekarski kvasac jedna od osnovnih sirovina u pekarstvu, u svijetu se proizvode velike količine pekarskog kvasca (cca  $3 \times 10^6$  tona svježeg kvasca/god.). Uloga kvasca u pekarstvu je višestruka. Kvasac u tijestu alkoholnom fermentacijom šećera iz brašna proizvodi alkohol i ugljikov dioksid ( $\text{CO}_2$ ) što ima za posljedicu dizanje tijesta. Fermentacijom se povećava elastičnost tijesta što povoljno utječe na reološka svojstva tijesta, a alkohol i nusproizvodi alkoholne fermentacije povoljno utječu na organoleptička svojstva (okus i boju) pekarskih proizvoda (Grba, 2010).

Na tržištu je pekarski kvasac prisutan u 3 osnovna oblika: tekući (kvašćeva suspenzija), svježi (kvašćev kolač i granulirani kvasac) i suhi aktivni (instant ili granulirani) kvasac (slika 1). Svježi kvasac je trenutno najčešće korišten oblik kvasca u pekarskoj industriji, no sve više raste potražnja i za suhim aktivnim kvascem. Uz kontrolu kemijskog sastava, točnije koncentracije proteina koja je odgovorna za aktivnost kvasca te koncentracije rezervnih ugljikohidrata odgovornih za stabilnost kvasca tijekom skladištenja, mikrobiološka kvaliteta

kvasca postala je vrlo važan čimbenik kvalitete kvasca, budući da mikrobnost kontaminacija pekarskog kvasca ima negativan učinak na aktivnost kvasca (kvarenje, smanjen rok trajanja) te kvalitetu i sigurnost pekarskih proizvoda (Reale i sur., 2013).

Pekarski kvasac proizvodi se u nekoliko osnovnih faza: uzgoj kvašćeve biomase, separacija, dehidratacija (filtriranjem i/ili sušenjem), pakiranje, skladištenje i transport (slika 1). Mogući izvori mikrobnost kontaminacije su sirovine, procesna voda, kemikalije (sredstva protiv pjenjenja), procesna oprema (bioreaktori, posude za skladištenje, sušionici, filteri), površine koje dolaze u kontakt s gotovim proizvodom, kontaminacija iz zraka i nehigijensko rukovanje gotovim proizvodom.

Divlji kvasci, bakterije mliječne kiseline, koliformne bakterije i plijesni najčešći su mikroorganizmi pridruženi komercijalnom pekarskom kvascu. Pojam "divlji kvasci" odnosi se na sve vrste kvasaca koje se pojavljuju tijekom proizvodnje pekarskog kvasca osim vrste koja je korištena kao inokulum. S obzirom da se radi o istoj vrsti mikroorganizama, uvjeti pri kojima se uzgaja pekarski kvasac pogodni su za rast divljih kvasca pa je pojava divljih kvasca u proizvodnji pekarskog kvasca česta. Izvor divljih kvasca u proizvodnji mogu biti zrak, voda te ostale sirovine ili insekti, a najčešće je riječ o kvascima iz



**Slika 1.** Proizvodnja pekarskog kvasca  
**Figure 1.** Production of baker's yeast

rodova *Candida*, *Torulopsis*, *Geotrichum* i *Hansenula* (Reed i Nagodawithana, 1991). Prisustvo divljih kvasaca u pekarskom kvascu može za posljedicu imati kvarenje pekarskih proizvoda, a očituje se kao vidljivi rast divljih kvasaca u obliku bijelih ili ružičastih mrlja na površini pekarskih proizvoda.

Bakterije mliječne kiseline (BMK) su česti i brojni mikroorganizmi pridruženi pekarskom kvascu budući da rastu pri uvjetima sličnim onima u proizvodnji kvasca (Ismail, 2006; Albers i sur., 2011). Većina bakterija pripada heterofermentativnim bakterijama mliječne kiseline iz roda *Leuconostoc* ili homofermentativnim bakterijama iz roda *Lactobacillus* (Reed i Nagodawithana, 1991). Od ostalih BMK, prisutne su vrste iz rodova *Pediococcus*, *Lactococcus* i *Enterococcus* (O'Brien i sur., 2004). Izvor ovih bakterija mogu biti sirovine koje se koriste u proizvodnji pekarskog kvasca. BMK imaju GRAS (engl. Generally Recognized as Safe) status te njihova prisutnost u pekarskom kvascu ne predstavlja rizični faktor. Ipak, budući da se vrste iz roda *Lactobacillus* mogu razmnožavati pri nižim temperaturama, tijekom skladištenja pekarskog kvasca pri 10 °C i više, njihov broj može uvelike narasti. BMK kao starter kulture u kiselom tijestu proizvode CO<sub>2</sub>, sintetiziraju spojeve arome i poboljšavaju senzorska svojstva te nutritivnu i zdravstvenu kvalitetu proizvoda (Corsetti i Settanni, 2007; Hansen i Schieberle, 2005; Gobetti i sur., 2007; Arendt i sur., 2011; Reale i sur., 2004). Međutim, BMK su nenamjenski mikroorganizmi u pekarskom kvascu i ne mogu tijekom kratkog

procesa klasične fermentacije utjecati na kvalitetu pekarskih proizvoda. Metaboliziraju male količine ugljikohidrata u mliječnu kiselinu što povećava kiselost tijesta i može smanjiti broj mikroorganizama osjetljivih na niži pH.

Pekarski kvasac kontaminira se plijesnima iz zraka uglavnom nakon što tekući kvasac prođe kroz separatore (slika 1). Rastu na površini kvašćevog kolača, ako nije skladišten pri odgovarajućim temperaturama. Međutim, plijesni rastu sporije od bakterija i divljih kvasaca te zbog toga obično ne predstavljaju problem u proizvodnji pekarskog kvasca, osim ako nije skladišten na dulji period ili ukoliko dođe do prekida hladnog lanca tijekom transporta ili skladištenja.

Koliformne bakterije su primarno nepatogene i oportunističke bakterije koje obitavaju u intestinalnom traktu čovjeka i toplokrvnih životinja. Izlučuju se fekalijama i preko komunalnih otpadnih voda mogu dospjeti u prirodne vode. Koliformne bakterije uključuju vrste iz obitelji *Enterobacteriaceae* kao što su *Escherichia coli* te potencijalno patogene vrste iz roda *Salmonella*. Prisutnost patogenih bakterija u pekarskom kvascu nije dovoljno istražena, najvjerojatnije iz razloga što visoke temperature pečenja kruha inaktiviraju bakterijske kontaminante i/ili potencijalne patogene. Unatoč tome, prisutnost patogena u pekarskom kvascu je nedozvoljena, ne samo s gledišta kvalitete i higijene već s mnogo važnijeg sigurnosnog gledišta. Naime, kontaminirani pekarski kvasac ulazna je točka ovih bakterija u pekare te može dovesti do kontaminacije drugih sirovina i pekarskih proizvoda. Patogene bakterije koje se mogu naći u pekarskom kvascu su bakterije iz roda *Listeria*, *Staphylococcus* i *Salmonella*. Bakterije iz roda *Listeria* mogu rasti i na 4 °C, dakle i tijekom hladnog skladištenja pekarskog kvasca. Tijekom proizvodnje mjesto kontaminacije ovom bakterijom može biti proces separacije i filtracije. Rod *Staphylococcus* je dio ljudske mikroflore u gornjem dišnom sustavu, mukoznoj membrani nosa i površini kože. Primarno se u proizvodne pogone unosi direktnim ili indirektnim ljudskim kontaktom (Ingham i Lau, 2003).

Iako su problemi povezani s mikrobiološkom kvalitetom pekarskog kvasca u industriji dobro poznati, mikrobnih kontaminanti pekarskog kvasca su još uvijek u znatnoj mjeri prisutni u komercijalnom proizvodu, što znatno ovisi o razini higijene proizvodnog procesa te kvaliteti hladnog lanca tijekom čuvanja i distribucije pekarskog kvasca. Stoga je u ovom radu ispitana mikrobiološka kvaliteta uzoraka pekarskog kvasca različitih proizvođača prisutnih na hrvatskom tržištu.

## Materijali i metode

Analizirani uzorci svježeg i suhog pekarskog kvasca kupljeni su u trgovinama. Analizirano je devet različitih uzoraka svježeg kvasca za slana ili slatka tijesta (≈ 30 % s.tv.) namijenjenih industrijskim i zanatskim pekarama u pakiranjima od 500 g te svježi kvasac za domaćinstvo pakiran u kockice od 25 - 40 g. Uzorci instant suhog pekarskog kvasca namijenjeni također za slana ili slatka tijesta (≈ 95 % s.tv) bili su pakirani u količini od 7 - 125 g. Uzorci za mikrobiološku analizu pripremljeni su na način da je 10 g uzorka homogenizirano u 90 mL sterilne fiziološke otopine i tako je dobiveno osnovno razrjeđenje iz kojega su pripremljena sva potrebna decimalna razrjeđenja. Za izolaciju i identifikaciju mikrobnih populacija u uzorcima pekarskog kvasca upotrijebljene su klasične mikrobiološke

**Tablica 1.** Klasične mikrobiološke metode izolacije i identifikacije mikroorganizama

**Table 1.** Methods for isolation and identification of microorganisms

Mikroorganizmi/ Microorganisms	Hranjiva podloga/ Nutrition medium	Uvjeti inkubiranja/ Incubation conditions	Metoda/Method
<i>Salmonella</i> sp.	RP-bujon, XLD (Biolife, Milan, Italy)	37 °C 24 - 48 h	HRN EN ISO 6579
Koliformne bakterije/ Coliforms	VRB (Biolife)	37 °C 24 h	HRN ISO 21528-2
<i>Escherichia coli</i>	RAPID'E. coli 2 agar (Biolife)	37 °C 48 h	HRN ISO 16649-2
<i>Staphylococcus aureus</i>	BP (Biolife)	37 °C 48 h	HRN EN ISO 6888-1
Sulfitoreducirajuće klostridije/ Sulphite reducing clostridia	Sulfitni agar (Biolife)	37 °C 72 h	HRN ISO 15213
<i>Listeria monocytogenes</i>	Fraser bujon, Palcam (Biolife)	37 °C 24 h	HRN EN ISO 11290-1 HRN EN ISO 11290-2
Bakterije mliječne kiseline/ Lactic acid bacteria	MRS agar (Biolife)	30 °C 48 -72 h	ISO 15214
Kvasci i plijesni/ Yeasts and moulds	Sabouraud agar (Biolife)	25 °C 48-72 h	HRN ISO 7954
Aerobne mezofilne bakterije/ Aerobic mesophilic bacteria	Hranjivi agar (Merck, Darmstadt, Germany)	37 °C 24 h	HRN EN ISO 6222
Divlji kvasci/ Wild yeasts	Lysine agar (Oxoid)	25 °C 48 h	HRN ISO 7954

metode (HRN ISO postupci), a analizirani su sljedeći parametri: *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i sulfitoreducirajuće klostridije u 1 g uzorka, *Salmonella* sp. i *Listeria monocytogenes* u 25 g uzorka, bakterije mliječne kiseline, divlji kvasci i plijesni te aerobne mezofilne bakterije (tablica 1). Mikrobnii rast određen je brojanjem poraslih kolonija na selektivnim podlogama, a rezultati su izraženi kao CFU (colony forming units) vrijednosti.

## Rezultati i rasprava

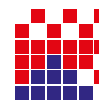
Rezultati mikrobiološke analize istraživanih uzoraka svježeg i suhog kvasca prikazani su u tablicama 2 i 3. Mikrobiološke analize uzoraka pekarskog kvasca provode se prema važećem Zakonu o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN 81/13), odnosno čl.5 tog Zakona koji uključuje Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (2011). Također, usklađivanjem zakonodavstva RH s EU preuzeta je i

**Tablica 2.** Mikroorganizmi izolirani iz uzoraka svježeg kvasca izraženi kao CFU vrijednost (st/g)

**Table 2.** Microorganisms isolated from fresh yeast samples, expressed as CFU value (cells/g)

Uzorak/ Sample	CFU/g										
	Aerobne mezofilne bakterije/ Aerobic mesophilic bacteria	Bakterije mliječne kiseline/ Lactic acid bacteria	Divlji kvasci/ Wild yeast	Plijesni/ Moulds	Koliformne bakterije/ Coliforms	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> sp.	Bacillus sp.	Sulfitoreducirajuće klostridije/ Sulphite reducing clostridia
7	>10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>7</sup>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
8	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	nd	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	nd
9	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	9,5 x10 <sup>3</sup>	poz	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	poz	nd	nd	nd
10	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	7,6 x10 <sup>3</sup>	poz	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	poz	nd	nd	nd
11	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	3,6 x10 <sup>3</sup>	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	nd
12	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	2,8 x10 <sup>3</sup>	poz	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	nd
13	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	2,1 x10 <sup>3</sup>	poz	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	>10 <sup>2</sup>	nd
14	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	6,7 x10 <sup>3</sup>	poz	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	>10 <sup>2</sup>	nd
15	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	6,5 x10 <sup>3</sup>	poz	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	nd

nd- nije dokazano; poz-pozitivno  
nd- not detected; poz-positive

**Tablica 3.** Mikroorganizmi izolirani iz uzoraka suhog kvasca izraženi kao CFU vrijednost (st/g)**Table 3.** Microorganisms isolated from dry yeast samples, expressed as CFU value (cells/g)

Uzorak/ Sample	CFU/g										
	Aerobne mezofilne bakterije/ Aerobic mesophilic bacteria	Bakterije mliječne kiseline/ Lactic acid bacteria	Divlji kvasci/ Wild yeast	Plijesni/ Moulds	Koliformne bakterije/ Coliforms	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylo- coccus aureus</i>	<i>Listeria monocyto- genes</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Sulfito- redukcijske klostridije/ Sulphite reducing clostridia
1	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>8</sup>	1,5 x 10 <sup>3</sup>	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	>10 <sup>2</sup>
2	>10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	9,6 x 10 <sup>2</sup>	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	>10 <sup>2</sup>	nd
3	>10 <sup>6</sup>	6,5x10 <sup>6</sup>	1,6 x 10 <sup>3</sup>	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	nd	nd	nd	nd	>10 <sup>2</sup>
4	2 x 10 <sup>6</sup>	nd	1,8 x 10 <sup>3</sup>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
5	>10 <sup>6</sup>	3 x 10 <sup>5</sup>	1,1 x 10 <sup>3</sup>	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	nd
6	>10 <sup>6</sup>	3 x 10 <sup>5</sup>	6,7 x 10 <sup>2</sup>	nd	>10 <sup>4</sup>	nd	>10 <sup>1</sup>	nd	nd	nd	nd

nd- nije dokazano; poz-pozitivno

nd- not detected; poz-positive

uredba komisije (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu. COFALEC (Confederation of European Yeast Producers) krovna organizacija europskih proizvođača kvasca izdala je smjernice za mikrobiološku kvalitetu pekarskog kvasca (tablice 4 i 5). Prema literaturnim podacima, kao prateća mikroflora stanicama kvasca *S. cerevisiae* uobičajeno su prisutne i neke druge vrste mikroorganizama koje nisu obuhvaćene navedenim propisima, kao što su divlji kvasci, bakterije mliječne kiseline, plijesni, a znatno govore o mikrobiološkoj kvaliteti kvasca i mogu negativno utjecati na kvalitetu i trajnost kvasca (Reed i Nagodawithana, 1991; Reale i sur., 2013). Stoga su uzorci kvasca analizirani i na ove dodatne parametre.

**Tablica 4.** Mikrobiološka kvaliteta svježeg kvasca**Table 4.** Microbiological quality of fresh yeast

Mikroorganizmi/ Microorganisms	COFALEC CFU/g	Neispravni	
		uzorci/ Negative samples n/9	Vrijednosti/ Value CFU/g
Koliformne bakterije/ Coliforms	< 10 <sup>3</sup>	8	> 10 <sup>4</sup>
<i>Salmonella</i> sp.	0/25g	-	nd
<i>Listeria monocytogenes</i>	< 10 <sup>2</sup>	-	< 10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 10 <sup>1</sup>	8	> 10 <sup>1</sup>
<i>Escherichia coli</i>	< 10 <sup>2</sup>	-	nd

nd = nije dokazano

nd = not detected

Rezultati pokazuju da 88,9 % uzoraka svježeg, odnosno 83,3% uzoraka suhog kvasca nije zadovoljavalo mikrobiološku ispravnost u skladu sa COFALEC-ovim smjernicama za mikrobiološku kvalitetu pekarskog kvasca, prvenstveno zbog povećane koncentracije koliformnih bakterija koje trebaju biti u koncentraciji < 10<sup>3</sup> st/g te *Staphylococcus aureus* koji je bio prisutan u koncentracijama > 10<sup>1</sup> st/g. *S. aureus* je dokazan u 88,9 % uzoraka svježeg te 66,7 % uzoraka suhog kvasca.

Kontaminacija ovom bakterijom moguća je u kasnim fazama proizvodnje svježeg i suhog kvasca, tijekom filtracije i pakiranja budući da su to faze u kojima kvasac dolazi u kontakt s radnicima. Također, *S. aureus* može kolonizirati proizvodnu opremu i na taj način kontaminirati proizvod. Prisutnost koliforma upućuje na moguću prisutnost patogenih crijevnih bakterija, kao indikatora fekalne kontaminacije. Njihova prisutnost u proizvodu pokazatelj je loše proizvođačke prakse i niskog higijenskog standarda. Iako je broj koliformnih bakterija i u svježem i u suhom kvascu bio visok, *Salmonella* i *E. coli* nisu dokazane u nijednom uzorku. Prema gore navedenim smjernicama *Salmonella* ne smije biti prisutna u 25 g uzorka, dok je za *L. monocytogenes* i *E. coli* dozvoljena koncentracija od 10<sup>1</sup>-10<sup>2</sup> st/g (tablice 4 i 5). Dva uzorka svježeg kvasca (22,22%) su bila pozitivna na *L. monocytogenes* ali u koncentracijama manjim od 10<sup>2</sup> st/g.

**Tablica 5.** Mikrobiološka kvaliteta suhog kvasca**Table 5.** Microbiological quality of dry yeast

Mikroorganizmi/ Microorganisms	COFALEC CFU/g	Neispravni	
		uzorci/ Negative samples n/6	Vrijednosti/ Value CFU/g
Koliformne bakterije/ Coliforms	< 10 <sup>3</sup>	5	> 10 <sup>4</sup>
<i>Salmonella</i> sp.	0/25g	-	nd
<i>Listeria monocytogenes</i>	< 10 <sup>2</sup>	-	nd
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 10 <sup>1</sup>	4	> 10 <sup>1</sup>
<i>Escherichia coli</i>	< 10 <sup>1</sup>	-	nd

nd = nije dokazano

nd = not detected

Koncentracija divljih kvasaca kretala se oko  $10^3$  st/g u uzorcima svježeg kvasca namijenjenog za domaćinstvo, dok u uzorcima većih pakiranja divlji kvasci nisu dokazani. U uzorcima suhog kvasca koncentracija divljih kvasaca bila je u granicama  $10^2$  -  $10^3$  st/g. Divlji kvasci prisutni i u malom broju mogu imati negativan učinak na proizvodnju  $CO_2$ , stabilnost i trajnost pekarskog kvasca.

U testiranim uzorcima plijesni nisu dokazane u suhom kvascu te u svježem kvascu većih pakiranja, dok su dokazane u svim uzorcima svježeg kvasca namijenjenim za domaćinstvo. Iz ovih rezultata može se pretpostaviti da je pojava plijesni povezana ne samo s procesom proizvodnje već i s ambalažnim materijalom i procesom pakiranja. Spore plijesni su termolabilne i inaktiviraju se tijekom procesa pečenja kruha i ostalih pekarskih proizvoda, a plijesni na kruhu potječu od naknadne kontaminacije plijesnima iz okoline, iz zraka, s površine stolova, ruku djelatnika i sl. Ipak, pojava plijesni u pekarskom kvascu mora se ozbiljno uzeti u obzir budući da one utječu na okus proizvoda, mogu proizvoditi mikotoksine, a isto tako, plijesni s pekarskog kvasca se lako prenose na ostale sirovine i proizvode u pekari (Saranraj i Geetha, 2012).

Broj bakterija izoliranih iz svježeg pekarskog kvasca obično je između  $10^4$  i  $10^8$  CFU/g (Reed i Nagodawithana, 1991), što je u skladu s rezultatima postignutim u ovom radu. Dominiraju bakterije mliječne kiseline, a u dva uzorka svježeg te jednom uzorku suhog kvasca dokazane su i vrste iz roda *Bacillus*. Uzorci pozitivni na *Bacillus* su svi od istog proizvođača, što ukazuje najvjerojatnije na propust u sterilizaciji melase. Ove bakterije uzrokuju nitavo kvarenje kruha, najučestalije kvarenje kruha nakon pljesniivoće, do kojeg obično dolazi u ljetnim mjesecima kada klimatski uvjeti pogoduju rastu bakterija. Najčešći kontaminant je *Bacillus subtilis*, kao i *Bacillus licheniformis* te *Bacillus cereus*. Budući da su spore tih bakterija termorezistentne, preživljavaju proces pečenja u sredini kruha ( $\sim 95$  °C) i nakon hlađenja, u povoljnim uvjetima iz spore nastaju vegetativne stanice koje stvaraju enzime te tako dovode do narušavanja strukture kruha u smislu nitavosti, promjena boje iz smeđe u crnu, izuzetno vlažnih i ljepljivih mrvica i neugodnog mirisa na truli ananas (Doyle i sur., 1997; Viljoen i von Holy, 1997). De Jonghe i suradnici (2010) izolirali su nekoliko vrsta bakterija kao što su *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. subtilis* i *B. cereus*, a koje predstavljaju rizik za zdravlje potrošača budući da mogu rasti u kruhu i proizvoditi citotoksične spojeve. Također, ciklički lipopeptidi imaju antimikrobno djelovanje te inhibiraju fermentacijsku aktivnost kvasca, a time i smanjuju kvalitetu pekarskih proizvoda (Hsieh i sur., 2008). *Bacillus* vrste imaju i snažno proteolitičko djelovanje što negativno utječe na trajnost kvasca kao proizvoda. Toksine mogu proizvoditi i sulfitoreducirajuće klostridije koje su dokazane u dva uzorka suhog kvasca (od istog proizvođača) u koncentraciji od  $10^2$  st/g. Izvor ovih bakterija u pekarskom kvascu je također neodgovarajuće proveden proces sterilizacije melase.

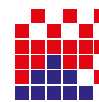
## Zaključak

Bakterije mliječne kiseline dominantni su prateći mikroorganizmi pekarskog kvasca u koncentraciji od  $10^5$  -  $10^8$  st/g. U koncentraciji od oko  $10^3$ , odnosno  $10^4$  st/g dokazani su divlji kvasci i koliformne bakterije. Unatoč tome, patogene bakte-

rije (*E. coli* i *Salmonella*) nisu dokazane niti u jednom uzorku. Može se istaknuti da suhi pekarski kvasac te svježi kvasac većih pakiranja namijenjen za industrijsku proizvodnju ima bolju mikrobiološku kvalitetu budući da u tim uzorcima nisu detektirane plijesni i *L. monocytogenes*. Mikrobiološka kvaliteta pekarskog kvasca je pokazatelj razine higijene proizvodnog procesa te kvalitete hladnog lanca tijekom čuvanja i distribucije pekarskog kvasca. Potrebno je učinkovito čišćenje sve procesne opreme kako bi broj pridruženih mikroorganizama u komercijalnom pekarskom kvascu bio u granicama smjernica mikrobiološke kvalitete pekarskog kvasca, što osigurava deklariranu trajnost proizvoda, a pekarima važnu fermentabilnu aktivnost kvasca potrebnu za proizvodnju kvalitetnih pekarskih proizvoda.

## Literatura

- Albers E., Johansson E., Franzen C.J., Larsson C. (2011) Selective suppression of bacterial contaminants by process conditions during lignocellulose based yeast fermentations. *Biotechnology for Biofuels*, 4 59.
- Arendt E.K., Moroni A., Zannini E. (2011) Medical nutrition therapy: use of sourdough lactic acid bacteria as a cell factory for delivering functional biomolecules and food ingredients in gluten free bread. *Microbial Cell Factories*, 10 15.
- Confederation of European Yeast Producers (COFALEC) (2012) General Characteristics of Bakers' Yeast. Dostupno na: <http://www.cofalec.com>. Pristupljeno: 1.6.2015.
- Corsetti A., Settanni L. (2007) Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40 539–558.
- De Jonghe V., Coorevits A., De Block J., Van Coillie E., Grijspeerdt K., Herman L., De Vos P., Heyndrickx M. (2010) Toxinogenic and spoilage potential of aerobic spore-formers isolated from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 136 318–325.
- Doyle M.P., Beuchat L.R., Montville T.J. (eds) (2001) *Food microbiology: Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology, Washington, D.C. USA.
- Gobbetti M., Rizzello G.C., Di Cagno R., De Angelis M. (2007) Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiology*, 24 (2) 187–196.
- Grba S. (2010) *Kvasci u biotehnoškoj proizvodnji*, str. 319-325. Plejada, Zagreb, Hrvatska.
- Hansen A., Schieberle P. (2005) Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 16 85–94.
- Hsieh F.C., Lin T.C., Meng M., Kao S.S. (2008) Comparing methods for identifying *Bacillus* strains capable of producing the antifungal lipopeptide iturin A. *Current Microbiology*, 56 1–5.
- Ingham S.C., Lau M.M. (2003) Comparative survival of *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* on hot-smoked fish. *Food Protection Trends*, 23 (9) 735–742.
- Ismail A.M.E. (2006) Comparison study on some baker's yeast strains. PhD thesis, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Al-Azhar University, Egypt.



O'Brien S.S., Lindsay D., von Holy A. (2004) The presence of *Enterococcus*, coliforms and *E. coli* in a commercial yeast manufacturing process. *International Journal of Food Microbiology*, 94 23–31.

Reale A., Di Renzo T., Succi M., Tremonte P., Coppola R., Sorrentino E. (2013) Microbiological and fermentative properties of baker's yeast starter used in breadmaking. *Journal of Food Science*, 78 (8) 1224-1231.

Reale A., Mannina L., Tremonte P., Sobolev A.P., Succi M., Sorrentino E., Coppola R. (2004) Phytate degradation by lactic acid bacteria and yeasts during the wholemeal dough fermentation: a <sup>31</sup>P NMR study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 6300–6305.

Reed G., Nagodawithana T. W. (ed) (1991) *Yeast technology*, 2. izdanje, str. 89-151, 261-369. The AVI Publishing Company Inc., New York. USA

Saranraj P., Geetha M. (2012) Microbial spoilage of bakery products and its control by preservatives. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Achieves*, 3 38–48.

Viljoen B.C., von Holy A. (1997) Microbial populations associated with commercial bread production. *Journal of Basic Microbiology*, 6 439–444.

Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja Republike Hrvatske (2011) Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 3. izmijenjeno izdanje, Zagreb.

Uredba komisije (EZ) br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu (2005). Službeni list Europske unije, 13/Sv. 34, Bruxelles.

Zakon o higijeni hrane i mikrobiološkim kriterijima za hranu, Narodne novine, NN 81/13.