

Prehrambena industrija

MLEKO I MLEČNI PROIZVODI

ČASOPIS SAVEZA HEMIČARA I TEHNOLOGA

VOL. 19

BEOGRAD, 2008.

BROJ 1-2

Izdavači:

SAVEZ HEMIČARA I TEHNOLOGA (SHT)
TEHNOLOŠKI FAKULTET (TF), NOVI SAD

Za izdavača:

Tatijana Duduković, sekretar SHT
Prof. dr Zoltan Zavargo, dekan TF

Glavni urednik:

Spasenija Milanović

Uredništvo:

Marijana Carić, Dragojlo Obradović,
Ljerka Gregurek, Zdenko Puhar
Adnan Tamime, Gyula Vatai

Izdavački savet:

Živanko Radovančev (predsednik),
Marijana Carić, Spasenija Milanović,
Dušan Grujić, Dragan Šašić,
Nataša Tucović, Zoran Đerić,
Branko Popović, Bratislav Banjanac,
Zoran Golubović, Dubravka Bajić
Gizela Korhec

**Publikovanje časopisa finansijski su
potpomogli:**

Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj
Republike Srbije

Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki
razvoj

Izlazi kao dvobroj dva puta godišnje

Redakcija:

Tehnološki fakultet
21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
Tel: +381 21 485 3712
Fax: + 381 21 450 413

Pretplata:

Za čitaoce u SRB 300 din po dvobroju
Za inostranstvo 20 USD
Žiro račun: 840-1647666-56

Korektor:

Vilma Beker-Gačeša

Priprema i štampa:

VERZAL, Novi Sad
Tel./faks: 021/505-103

Tiraž: 250 primeraka

SADRŽAJ

G. Vatai, Iskorišćenje surutke primenom membranskih procesa – state of the art-iskustva Corvinus University of Budapest i Mađarske	3
Lj. Gregurek, Jogurt–potrošnja i trendovi	7
D. Obradović, Osnovni principi sanitacije pogona–preduslovi za HACCP	10
M. Ostojić, Lj. Topisirović, Značaj autohtonih sojeva bakterija mlečne kiseline u zaštiti geografskih oznaka mlečnih proizvoda	12
S. Bulajić, Z. Mijačević, Fenomen rezistencije na antibiotike kod bakterija mlečne kiseline	18
Z. Radulović, T. Petrović, D. Paunović, N. Mirković, D. Obradović, Karakterizacija autohtonog soja <i>Lactobacillus paracasei</i> 08 na potencijalne probiotske sposobnosti	23
M. Vilušić, S. Milanović, M. Jukić–Grbavac, Sastav masnih kiselina i sadržaj kolesterola u svježem siru tipa Quarg	28
M. Kutija, K. Tonković, R. Božanić, Lj. Gregurek, Optimizacija procesa delaktozacije mlijeka i proizvodnja jogurta	32
H. Keran, A. Odobašić, A. Bratovčić, I. Šestan, E. Omeragić, Određivanje sadržaja kadmija i olova u mlijeku primjenom voltametrijske tehnike	34
R. Popović, Trendovi na svetskom tržištu mleka i uticaj na tržište Srbije	38
R. Malbaša, E. Lončar, S. Minić, Lj. Kolarov, Uticaj inokuluma kombuhe na kvalitet fermentisanih mlečnih proizvoda	43
M. Stijepić, J. Glušac, D. Đurđević–Milošević, Uticaj temperature termičke obrade svježeg kozjeg mlijeka i dodatka inulina na kvalitet probiotičkog jogurta	47
E. Stojanović, Higijena muznih uređaja	54
S. Popović, N. Lukić, Z. Jaramazović, I. Šijački, Čišćenje membrana u industriji mleka primenom ultrazvuka	59
K. Duraković, S. Milanović, M. Carić, M. Iličić, M. Đurić, M. Tekić, J. Lendel, Funkcionalni niskoenergetski fermentisani mlečni napitak proizveden uz primenu kombuhe	66
A. Isaković, Z. Sarić, T. Dizdarević, Komparativna analiza kefirra proizvedenog fermentacijom mlijeka različitim starter kulturama	74
M. Iličić, S. Milanović, M. Carić, M. Đurić, M. Tekić, D. Šašić, Teksturalne karakteristike fermentisanih mlečnih proizvoda	79
D. Pejić, V. Lazić, J. Gvozdenović, Ambalaža za pakovanje funkcionalnih fermentisanih mlečnih proizvoda	84
S. Cvetanović, D. Nikolić, B. Đorđević, I. Miletić, I. Stanković, B. Vidović, Ispitivanje belih sireva u salamuri sa teritorije pirotskog okruga	88
J. Đerovski, Z. Radulović, D. Paunović, P. Puđa, Uticaj dopunskih kultura na svojstva niskomasnog sira u salamuri	92
T. Vučić, O. Mačej, S. Jovanović, S. Seratlić, G. Niketić, Zlatarski sir – autohtona tehnologija i senzorne karakteristike	97
N. Dugalić–Vrmić, V. Vuković, Proračuni pri praviljenju direktnih razblaženja uzoraka mleka	102
N. Pavlović, V. Vuković, Koncentracija rezidua antibiotika posle mešanja kontaminiranih količina mleka	105
V. Vuković, A. Kasalica, Izračunavanje minimalne količine rezidua antibiotika u mleku	108
Dž. Tomovska, N. Hristovski, S. Presilski, N. Tomovska, Ishrana kao faktor koji utiče na hemijski sastav mleka	110
G. Dimitrovska, S. Srbinska, S. Presilski, Zavisnost broja somatskih ćelija i ukupnog broja bakterija u kravljem mleku Holštajn-frizijske rase sa farme u Pelagoniji	116

Food industry

MILK AKD DAIRY PRODUCTS

JOURNAL OF CHEMISTS AND TECHNOLOGISTS ASSOCIATION

VOL. 19

BEOGRAD, 2008.

No 1-2

Publishers:

CHEMISTS AND TECHNOLOGISTS
ASSOCIATION (CTA)
FACULTY OF TECHNOLOGY (FT)

For publisher:

Tatijana Duduković, secretary CTA
Prof. dr Zoltan Zavargo, dean FT

Editor-in-Chief:

Spasenija Milanović

Editorial board:

Marijana Carić, Dragojlo Obradović,
Ljerka Gregurek, Zdenko Puhan
Adnan Tamime, Gyula Vatai

Advisory board:

Živanko Radovančev (chairman),
Marijana Carić, Spasenija Milanović,
Dušan Grujić, Dragan Šašić,
Nataša Tucović, Zoran Đerić,
Branko Popović, Bratislav Banjanac,
Zoran Golubović, Dubravka Bajić
Gizela Korhec

The Journal is financially supported by:

Ministry of Science and Technological
Development, Republic of Serbia

Provincial Secretariat for Science and
Technological Development

Published semiannually.

Editorial:

Faculty of Technology
21000 Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1
Tel: +381 21 485 3712
Fax: + 381 21 450 413

Subscription:

300 din per issue or 20 USD
Bank account: 840-1647666-56

Text proof-reader:

Vilma Beker-Gačeša

Prepress & printed by:

VERZAL, Novi Sad
Phone/Fax: +381 21 505 103

Copies: 250

CONTENTS

G. Vatai, Utilisation of whey by membrane processes – state of the art–experiences at Corvinus University of Budapest and Hungary	3
Lj. Gregurek, Yoghurt – consumption and trends	7
D. Obradović, Basic plant sanitation principles – prerequisite for HACCP	10
M. Ostojić, Lj. Topisirović, Importance of autochthonous strains of lactic acid bacteria (LAB) in protection of geographical origin of dairy products	12
S. Bulajić, Z. Mijačević, The phenomenon of antibiotic resistance in lactic acid bacteria	18
Z. Radulović, T. Petrović, D. Paunović, N. Mirković, D. Obradović, Characterization of autochthonous <i>Lactobacillus paracasei</i> 08 strain on potential probiotic ability	23
M. Vilušić, S. Milanović, M. Jukić–Grbavac, Fatty acid composition and cholesterol content of fresh cheese - Quarg	28
M. Kutija, K. Tonković, R. Božanić, Lj. Gregurek, Optimization of milk delactosation process and production of yoghurt from hydrolyzed milk	32
H. Keran, A. Odobašić, A. Bratovčić, I. Šestan, E. Omeragić, Lead and cadmium content determination in milk by applying the voltammetry method	34
R. Popović, World milk market trends and their effects on serbian market	38
R. Malbaša, E. Lončar, S. Minić, Lj. Kolarov, Influence of inoculum of kombucha on quality of fermented dairy products	43
M. Stijepić, J. Glušac, D. Đurđević–Milošević, The influence of thermal treatments temperature of raw goat milk with inulin addition on the quality of probiotic yoghurt	47
E. Stojanović, Hygiene of milking equipment	54
S. Popović, N. Lukić, Z. Jaramazović, I. Šijački, The application of ultrasound for cleaning of membranes employed in the dairy industry	59
K. Duraković, S. Milanović, M. Carić, M. Iličić, M. Đurić, M. Tekić, J. Lenđel, Functional low energy fermented milk beverage produced with kombucha application	66
A. Isaković, Z. Sarić, T. Dizdarević, Comparative analysis of kefir made by fermentation of milk with different starter cultures	74
M. Iličić, S. Milanović, M. Carić, M. Đurić, M. Tekić, D. Šašić, Textural characteristics of fermented dairy products	79
D. Pejić, V. Lazić, J. Gvozdenović, Packaging of functional fermented dairy products	84
S. Cvetanović, D. Nikolić, B. Đorđević, I. Miletić, I. Stanković, B., Vidović, Investigation of cheeses in brine from pirot region	88
J. Đerovski, Z. Radulović, D. Paunović, P. Puđa, The influence of adjunct cultures on the properties of low fat brined cheese	82
T. Vučić, O. Mačej, S. Jovanović, S. Seratlić, G. Niketić, Zlatar cheese – autochthonous technology and sensory characteristics	97
N. Dugalić–Vrndić, V. Vuković, Calculations for making direct dilutions of milk samples	102
N. Pavlović, V. Vuković, Antibiotics residues concentration after mixing contaminated volumes of milk	105
V. Vuković, A. Kasalica, Determination of minimal concentration of antibiotic residues in milk	108
Dž. Tomovska, N. Hristovski, S. Presilski, N. Tomovska, Nutrition as a factor of influence on chemical composition of milk	110
G. Dimitrovska, S. Srbinovska, S. Presilski, Correlation dependance between somatic cells and total count of bacteria in cow milk of Holstein – Friesian breed on farm in the region of Pelagonia	116

GYULA VATAI

Corvinus University of Budapest,
Faculty of Food Science,
Department of Food Engineering

SCIENTIFIC PAPER

UDK: 637.344:542.816(439)

UTILISATION OF WHEY BY MEMBRANE PROCESSES – STATE OF THE ART – EXPERIENCES AT CORVINUS UNIVERSITY OF BUDAPEST AND HUNGARY

In this paper the utilisation of whey by membrane processes will be reviewed, using up-to-date literature survey of the topics. Beside the global statements some of the most interesting processes or technologies will be more thoroughly discussed. From the first view it is obvious, that they are some simple handlings of whey as wastewater in a Jet Loop Membrane Bioreactor, the largest number of the articles is dealing with production of fuels (ethanol, butanol, hydrogen) after or before lactose separation from proteins. The most sophisticated utilization is separation of valuable components from whey as lactoperoxidase and lactoferrin. The experiences at Corvinus University of Budapest, Faculty of Food Science, Department of Food Engineering as well as the Hungarian experiences will be presented also.

Key words: whey • utilization • membrane processes

INTRODUCTION

As it pointed out by Smithers (2008): Whey was discovered about 3000 years ago. Apart from being valued as a medicinal agent in the 17th and 18th centuries, whey has primarily been considered a waste by the dairy industry, and thus destined for the 'cheapest gutter'. In the late 20th century, regulations prevented disposal of untreated whey (Smithers, 2008). Nowadays there are many researches for the economical utilization of the sweet whey, as byproduct of the cheese production. Even there are some efficient methods treating whey as waste water (Farizoglu et al, 2007; Kertész et al, 2006; 2007; 2008; László et al 2006; 2007) using membrane bioreactor (MBR) consisted of a jet loop bioreactor (aerobic high rate system) and a membrane separation unit (microfiltration).

The amount of the sweet whey is 90% of the processed cheese-milk. Total soluble solid content (TSS) in whey is relatively high, it changes between 5.5-6.5% and this value is 45-50% of the total solids content of milk. Whey contains 4.0%-4.5% lactose, 0.6%-1.0% total protein (including crude protein and NonProteinNitrogen), 0.5%-0.8% minerals, predominantly salts, and vitamins and fats in trace (Zhang & Zhang, 1996). Whey is an important source of Ca^{2+} and it contains more sort of B-Vitamins in huge amount (Díaz et al., 2004; Homonnay & Koncz, 2005).

The membrane filtration is widely used in dairy technology successfully for fractionation of components of milk (Brans et al., 2004). Some other sepa-

ration technologies have also been used for water removal, like crioconcentration (Aider et al, 2007) using other modern techniques for improvement the efficiency and economy of the process (Aider et al, 2008). The whey utilization is very different, from simple fuel production, ethanol (Aktas et al, 2006; Kargi&Ozmichi, 2006; Staniszewski et al, 2007; Ozmichi & Kargi, 2008) or butanol (Qureshi & Maddox, 2005) or even biohydrogen (Kapdan&Kargi, 2006). The more sophisticated utilization is production of whey protein hydrolysate (Sinha et al, 2007) or Single Cell Protein (Ghaly et al, 2005). The fermentation of lactose to lactic acid (Gonzalez et al, 2008) is also a promising alternative, as well as the separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate (Andersson&Mattiasson, 2006). Whey could be used for manufacture of food products such as ice-cream or cooked products (Roman et al, 2007).

The most interesting utilizations

Yorguna et al (2008) treated two different types of whey by using different membrane processes – ultrafiltration (UF), nanofiltration (NF), and reverse osmosis (RO). They investigated possibility for cleaner discharge and to recover the proteins in whey for re-use. Membrane modules were tested as one stage operations and cascade operations by employing a combination of membrane modules in series. Nanofiltration, when operated in one stage, produced the best results from the aspect of treatment capacity, COD removal, and protein re-

Correspondant author:
Prof. Dr. Gyula Vatai
Corvinus University of Budapest
Faculty of Food Science
Department of Food Engineering,
H-1118 Budapest, Menesi út 44, Hungar
tel.: +361 482 6232; fax: +361 482 6323
e-mail: gyula.vatai@uni-corvinus.hu

covery. 30.8 L/(m²h) of permeate flux value at transmembrane pressure (TMP) of 8 bar was reached with nanofiltration which produced permeate with COD load of 2,787 mg O₂/L, and the protein rejection was 88%. Additionally, the influent whey was concentrated 6.8 times its original volume. Among the applied cascade operations, the NF + RO combination produced the best results. Another achievement of this combination is its capability of recovering both protein and lactose separately, protein recovery in the first stage and lactose recovery in the second stage.

In the article of Gonzalez et al (2008) lactic acid recovery from clarified fermentation broths by nanofiltration was studied. The effect of feed concentration, flow rate, transmembrane pressure and pH on flux and rejection were analysed. The separation efficiency of nanofiltration membranes in the treatment of ionic solutions was explained by the combination of size and charge effects. In the case of lactic acid solutions, the ratio of lactate ions to non-ionized lactic acid affects the rate at which both pass through nanofiltration membranes. At pH values around 5.0, which are typical values in industrial fermentations, lactic acid was mainly found in the dissociated form. Two polyamide nanofiltration membranes were used. A strong influence of pH on lactic acid transport through these membranes was observed. The pH value affected both rejection and permeate flux. Rejection increased with pH while flux decreased with this variable.

Microfiltration of whey protein solutions by tubular ceramic membranes, under constant cross-flow and trans-membrane pressure, with periodic backwashing, was investigated using a fully instrumented pilot unit (Mourouzidis-Mourouzis & Karabelas, 2008). They used relatively large nominal membrane pore size (0.8 μm) which insures very high protein transmission, which is desirable in applications such as microbial load reduction. In the first of three filtration backwashing cycles, irreversible and reversible fouling were identified, over the tested pressure range of 5–17.5 psi. Early in the first cycle, especially at higher pressures, a pore blocking mechanism appears to be responsible for the irreversible fouling. In the other two cycles only the reversible fouling is significant, possibly due to some kind of protein layer formation on the

membrane surface. They concluded that permeate flux level tends to increase by increasing trans-membrane pressure up to a near-optimum value of 10 psi, beyond which pressure has a negative effect.

Suarez et al (2006) studied demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate (MUP). Whey contains proteins (8.4 g/L), lactose (79 g/L), fat (<2.5 g/L) and mineral salts (5.6–8.4 g/L), while MUP composition was similar to that of skim milk except for the negligible amount of proteins that it contained. Both streams show a very high COD value (about 60,000 mg/L) and therefore they cannot be drained without a treatment. Moreover, valuable compounds (protein, lactose) can be found in their composition. Thus they could be used for the manufacture of food products such as ice-creams or cooked products. However, they show a very high mineral salt content that should be reduced. In this work, the membrane technique of nanofiltration (NF) was used to carry out a partial demineralization of whey and MUP.

Andersson & Mattiasson (2006) used simulated moving bed (SMB) technology for separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate. As they explained, SMB is a continuous chromatographic technique which has many advantages compared to conventional batch chromatography, such as: raised productivity and product concentration, reduced buffer consumption as well as more efficient use of raw material. In the study, a 20 column SMB process for the separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate (WPC) was developed. A simplified approach with data from a single column experiment was used for designing the process. The SMB process data were compared to a theoretical scale-up of the breakthrough experiment reflecting the same 20 column set-up run in non-moving bed mode. The outcome of the comparison is a 48% raise in productivity, a 4.3 times decrease in buffer consumption, 6.5 times raise in target protein concentration with a raw material utilization which is slightly better for the SMB process.

Experiences Corvinus University of Budapest

The influence of the operation parameters on milk- and whey protein

and lactose concentration was measured in investigations of Atra et al (2005). The experiments were carried out using laboratory scale ultra- and nanofiltration units. The permeate flux, protein and lactose content in the permeate and in the concentrate fractions were measured during the experimental runs. Comparing the separation behavior of the membranes it was found that the investigated membranes are suitable for concentration of the milk- and whey proteins and lactose with high flux and retention. The filtration characteristics were obviously influenced by the process parameters. A new combination of membrane based cheese production procedure is proposed, which makes possible a significant increase in the cheese yield by incorporating the whey proteins.

The aim of the research of Rektor & Vatai (2004) research was to develop a complex membrane filtration technology for whey processing. The microfiltration and ultrafiltration processes were carried out with pilot-scale equipment. For these filtration procedures three modules - hollow-fibre, ceramic and spiral wound - were used. The permeates from micro- and ultrafiltration (MF and UF), and the original whey sample were filtered on nanofiltration (NF) and reverse osmosis (RO) equipment. On the basis of laboratory and pilot plant membrane filtration experiments with mozzarella whey, three alternative treatment lines can be proposed. The alternatives differ in the separation efficiency of the valuable whey components and complexity of the proposed treatment technology. Line 1: NF is used for the concentration of the microfiltered whey. The produced concentrate is a perfect raw material for ice-cream production. This solution should be suitable for small- and middle-sized dairies because the modular type of membrane filtration enables its adaptation for a certain capacity of the dairy, and investment costs are commensurate with the built-in membrane surface.

Line 2: In this line there are two membrane filtration separation steps after MF: the UF step with high rejection of proteins partially combined with diafiltration, which can be used for the production of whey protein concentrate. The permeate of UF concentrated by NF and combined with crystallization results in lactose that is good for the pharmaceutical

industry. This line can be profitable for middle-sized and large factories because the two-stage process needs more basic materials and the costs of investment and operation are higher.

Line 3: This complex membrane separation method would be the best solution for small factories. Using RO, all components of the defatted and sterilized whey can be concentrated. This concentrate can be recycled in the line of cheese making so the economical efficiency should be improved. The end filtrate has small COD and BOI values so it can be discharged directly to sewers or used for irrigation (Rektor & Vatai, 2008).

In the paper of Roman et al (2007) nanofiltration combined with conti-

nuous variable volume diafiltration (CVVD) of cottage cheese whey (also known as acid whey) was investigated to simultaneously concentrate and partially demineralize it. The concentrations were carried out at different values of the ratio of the volume of dialyzation water and the volume of permeate (α). The degree of demineralization of monovalent ions reached 70 % and 90 % at 2.5 volume concentration ratio (VCR), and at diafiltration and permeate volume ratios of 0.5 and 0.75, respectively. The amount of multivalent ions increased continuously during the nanofiltration combined with CVVD of acid whey. The rejection of the valuable compounds of whey such as protein and

lactose was over 90 %.

The permeate fluxes of the continuous variable volume diafiltration of acid whey with different diafiltration and permeate volume ratios (α) are rapidly decreases in function of the time of the CVVD, especially in case of $\alpha = 0.5$, when the concentration ratio (VCR) is faster. In this case, the increasing rate of the retentate concentration is higher and also the concentration related to osmotic pressure. Plotting the flux versus VCR there was no significant difference between the fluxes with different α values. In all cases the flux decreased with an increase of the VCR, due to higher viscosity, density and concentration polarization during the CVVD. The Reynolds number calculated on the basis of the characteristics of the initial feed and final retentate was 8375 and 4626, respectively (Roman et al 2007). Based on the presented results it can be concluded that the applied membrane is suitable for washing out of the monovalent ions and the concentration of valuable components like proteins, lactose Ca, Mg and P ions in CVVD operation mode.

REFERENCES

1. Aider M., D. de Halleux & A. Akbache (2007): Whey cryoconcentration and impact on its composition. *Journal of Food Engineering* 82, 92-102.
2. Aider M., D. de Halleux & I. Melnikova (2008): Gravitational and microwave-assisted thawing during milk whey cryoconcentration. *Journal of Food Engineering* 88, 373-380.
3. Aktas N., I. H. Boyaci, M. Mutlu, & A. Tanyolac (2006): Optimization of lactose utilization in deproteinated whey by *Kluyveromyces marxianus* using response surface methodology (RSM). *Bioresource Technology* 97, 2252-2259.
4. Andersson J. & B. Mattiasson (2006): Simulated moving bed technology with a simplified approach for protein purification - Separation of lactoperoxidase and lactoferrin from whey protein concentrate. *Journal of Chromatography A* 1107, 88-95.
5. Atrai R, Vatai Gy, Bekassy-Molnar E. & Balint A (2005): Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. *Journal of Food Engineering*, 67(3), 325-332.
6. Cheryan M (1998): *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Technomic, Lancaster, USA.
7. Diaz O, Pereira CD & Cobos A (2004): Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocolloids*, 18, 601-610.
8. Farizoglu B., B. Keskinler, E. Yildiz & A. Nuhoglu (2007): Simultaneous removal of C, N, P from cheese whey by jet loop mem-

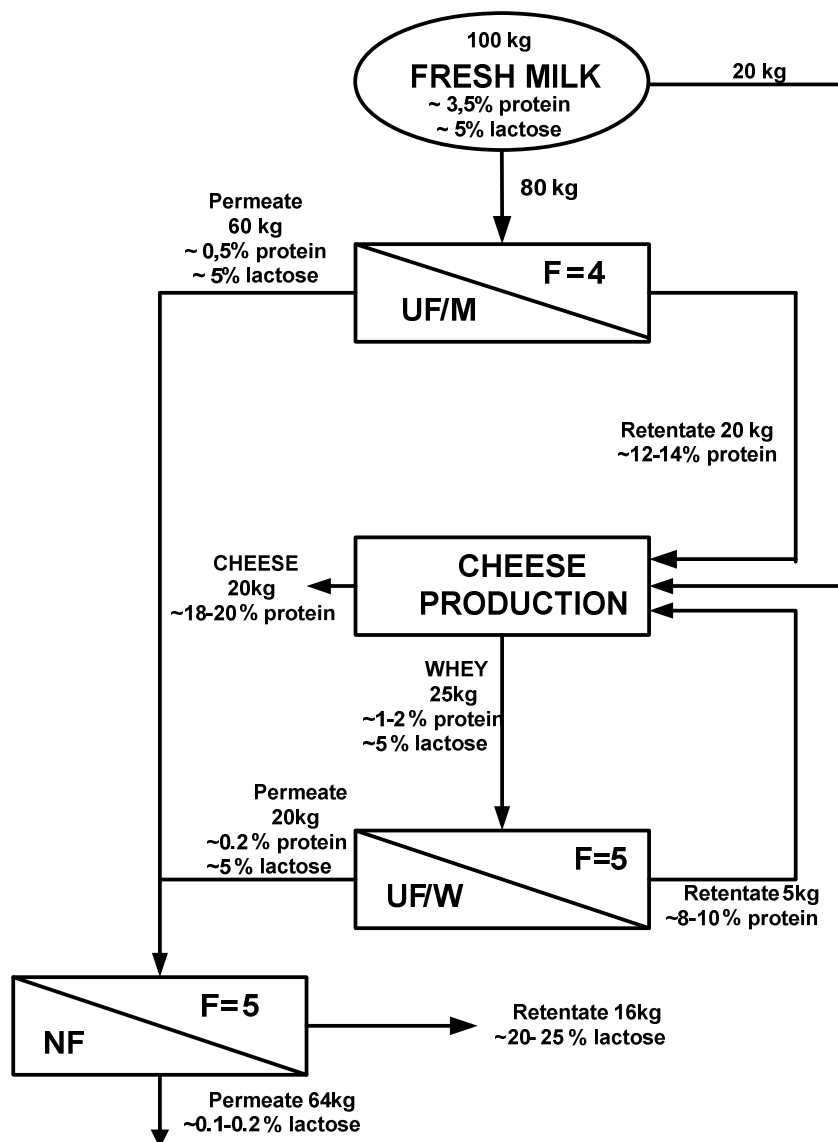


Fig.1. MASS BALANCE OF THE PROPOSED PROCESS-COMBINATION

- brane bioreactor (JLMBR). *Journal of Hazardous Materials* 146, 399–407.
9. Ghaly A. E., M. Kamal & L. R. Correia (2005): Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. *Bioresource Technology* 96, 1143–1152.
 10. González M. I., S. Alvarez, F. A. Riera & R. Álvarez (2008): Lactic acid recovery from whey ultrafiltrate fermentation broths and artificial solutions by nanofiltration. *Desalination* 228, 84–96.
 11. Homonnay Zs & Koncz K (2005) : About the whey on another way. 1. Part : The composition of the whey (In Hungarian). *Élelmiszeripar*, 59(6), 129-133.
 12. Kapdan I.K. & F. Kargi (2006): Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology* 38, 569–582.
 13. Kargi F. & S. Ozmihiçi (2006): Utilization of cheese whey powder (CWP) for ethanol fermentations. Effects of operating parameters *Enzyme and Microbial Technology* 38, 711–718.
 14. Kertész Sz., László Zs., Szabó G., Hodúr C. (2006): Élelmiszeripari szennyvíztisztítás membránszűrés és ózonozás hibrid eljárásával. *Membrántechnika*, X. évf. 3. sz.
 15. Kertész Sz., Puskás J., László Zs., Hodúr C., (2007): Detergens eltávolítása a tejipari szennyvizékből hibrid módszerekkel. *Műszaki Kémiai Napok'07 Veszprém*, 2007. április 25-27. full text, ISBN 978-963-9696-15-0, pp: 289-292.
 16. Kertész Sz., Zs. László, Zs. H. Horváth, C. Hodúr (2008): Analysis of nanofiltration parameters on removal of an anionic detergent. *Desalination*, 221 (2008) 303-311.
 17. László Zs., Sz. Kertész, E. Mlinkovics, C. Hodúr (2006): Dairy waste water treatment by combining ozonation and nanofiltration. *Proceedings of 1st European Conference on Environmental Applications of Advanced Oxidation Processes*, Chania, Greece., p. 269.
 18. László Zs., Sz. Kertész, E. Mlinkovics, C. Hodúr (2007): Dairy waste water treatment by combining ozonation and nanofiltration. *Separation Science and Technology Taylor & Francis*, Volume 42, Issue 7 p 1627 - 1637
 19. László Zs., Sz. Kertész, S. Beszédes, Zs. Hovorka-Horváth, G. Szabó, C. Hodúr (2007): Effect of preozonation on filterability of model dairy waste water. *PERMEA 2007, Membrane Science and Technology Conference of Visegrad Countries 2007*. 09. 02-06. Siófok. full paper, CD Rom ISBN: 978-963-9319-69-1.
 20. László Zs., Sz. Kertész, S. Beszédes, Zs. Hovorka-Horváth, G. Szabó, C. Hodúr (2007): Effect of preozonation on the filterability of model dairy waste water in nanofiltration. *Desalination in press-Ref. No.: Desal-07-241*
 21. Mourouzidis-Mourouzis S.A. & A.J. Karabelas (2008): Whey protein fouling of large pore-size ceramic microfiltration membranes at small cross-flow velocity *Journal of Membrane Science* 323, 17–27.
 22. Ozmihiçi S. & F. Kargi (2008): Ethanol production from cheese whey powder solution in a packed column bioreactor at different hydraulic residence times. *Biochemical Engineering Journal* 42, 180–185.
 23. Qureshi N. & I. S. Maddox (2005): Reduction in Butanol Inhibition by Perstraction: Utilization of Concentrated Lactose/Whey Permeate by *Clostridium acetobutylicum* to Enhance Butanol Fermentation Economics. *Trans IChemE, Part C, Food and Bioproducts Processing* 83(C1), 43–52.
 24. Rektor A & Vatai Gy (2004): Membrane filtration of Mozzarella whey. *Desalination*, 162, 279-286.
 25. Román A., J. Wang, J. Csanádi, C. Hodúr, Gy. Vatai (2007): Partial demineralization and concentration of acid whey by nanofiltration combined with diafiltration. *Desalination* (accepted for publication-Ref. No.: Desal-07-273)
 26. Sinha R., C. Radha, J. Prakash & P. Kaul (2007): Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry* 101,1484–1491.
 27. Smithers G. W. (2008): Whey and whey proteins—From 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal* 18, 695– 704.
 28. Smithers G. W. (2008): Whey and whey proteins—From 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal* 18, 695– 704.
 29. Staniszewski M., W. Kujawski & M. Lewandowska (2007): Ethanol production from whey in bioreactor with co-immobilized enzyme and yeast cells followed by pervaporative recovery of product – Kinetic model predictions. *Journal of Food Engineering* 82, 618–625.
 30. Suárez E., A. Lobo, S. Alvarez-Blanco, F. A. Riera, R. Álvarez (2006): Utilization of nanofiltration membranes for whey and milk ultrafiltration permeate demineralization. *Desalination* 199, 345–347.
 31. Tango M.S.A. & A.E. Ghaly (1999): Amelioration of lactic acid production from cheese whey using micro-aeration. *Biomass and Bioenergy* 17, 221-238.
 32. Tosi E., Canna L., Lucero H. & Ré E. (2007): Foaming properties of sweet whey solutions as modified by thermal treatment. *Food Chemistry*, 100(2), 794-799.
 33. Yorguna M.S., I. Akmeahmet Balcioglu, O.Saygin (2008): Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. *Desalination* 229, 204–216.
 34. Zhang JR & Zhang YD (1996): Development and utilization of whey. *China Dairy Industry*, 24(6), 38-40.

IZVOD

ISKORIŠĆENJE SURUTKE PRIMENOM MEMBRANSKIH PROCESA- STATE OF THE ART-ISKUSTVA CORVINUS UNIVERSITY OF BUDAPEST I MAĐARSKE

Gyula Vatai

Corvinus University of Budapest, Faculty of Food Science, Department of Food Engineering

U radu je prikazan pregled najnovijih rezultata istraživanja mogućnosti iskorišćenja surutke primenom membranskih procesa. Pored jednostavnih procesa prerade surutke kao sporednog proizvoda primenom *Jet Loop* membranskog bioreaktora, veliki broj istraživanja vezan je za proizvodnju goriva (etanol, butanol i vodonik) posle ili pre separacije laktoze od proteina. Jedan od visoko sofisticiranih postupaka iskorišćenja je separiranje nutritivno vrednih komponenata surutke kao što su laktoperoksidaza i laktoferin. Rezultati istraživanja naučnika Corvinus University of Budapest i Mađarske takođe su prikazani u radu.

Ključne reči: surutka • iskorišćenje • membranski procesi

LJERKA GREGUREK
KATARINA TONKOVIĆ

Probiotik d.o.o., Zagreb, Hrvatska

PREGLEDNI RAD

UDK: 637.146:339.133

JOGURT – POTROŠNJA I TRENDOVI

Mlijeko je jedna od najkompletnijih namirnica, koja organizmu osigurava i energiju i brojne tvari esencijalne za život.

Fermentirani mliječni proizvodi, za čiju se proizvodnju koristi mlijeko, mnogo su lakše probavljivi od mlijeka zbog nastanka karakteristične strukture proteina u toku fermentacije, a koja je pristupačnija probavnim enzimima.

Najpopularniji među fermentiranim mliječnim proizvodima je jogurt. Prema podacima iz literature (1), glavna i osnovna hrana u Aziji, Istočnoj i Centralnoj Europi, već dugi niz godina (oko 4.500 godina) je jogurt.

Danas, čini se, Zapadna Europa troši sve više i više fermentiranih mliječnih proizvoda, posebno jogurta, a ponajviše je popularan tzv. "spoonable" (čvrsti) jogurt, zatim slijedi "drinking" (pitki) jogurt.

Jogurt je dugo vremena smatran zdravim proizvodom, a pred više od 100 godina je ruski biolog Metchnikoff utvrdio da je redovito uzimanje jogurta dodatni faktor dobrog zdravlja i dugovječnosti. Nakon toga popularnost jogurta naglo raste, a proizvođači počinju "obogaćivati" proizvod različitim dodacima (od fitosterola do lanenih sjemenki) u želji da od dobrog, zdravog i poželjnog proizvoda, proizvedu još bolji i zdraviji!

Važno je imati saznanja o tome što potrošači žele od proizvoda, a od jogurta potrošači, prvenstveno, žele da je, ne samo poželjan po svojim senzorskim svojstvima, već žele proizvod s manjom kalorijskom vrijednosti, a povećanom zdravstvenom. Tako se u mljekarskoj preradi pojavljuju funkcionalni proizvodi, proizvodi koji imaju učinak na smanjenje kolesterola, osiguravaju pozitivne probavne efekte i dr. Također, sve se više traže mala pakovanja, tzv. "snack", prilagođena potrošaču koji želi svoj zdravi proizvod konzumirati na ulici – u pokretu. Sve je više različitih proizvoda namijenjenih djeci, a najčešće su to mala, praktična i privlačna pakovanja. Sve je veći interes potrošača za prirodni jogurt ili jogurt sa oznakom "organic", izvorni ili "authentic" jogurt.

Prema mišljenju mnogih, jogurt je od svih fermentiranih mliječnih proizvoda idealan posrednik za funkcionalne dodatke i, sasvim sigurno, zbog svojih mnogih pozitivnih svojstava podiže potrošnju mliječnih proizvoda.

Pored navedenih želja, potrošači žele (a i propisi zahtijevaju) da se na pakovanju proizvoda (pa tako i jogurta) nalaze sve važne poruke o proizvodu, da je navedena količina masti i šećera koje proizvod sadrži, da je naveden njegov povoljan utjecaj na zdravlje, način njegovog čuvanja i da se vide jasni natpisi o dodacima u proizvodu, da su navedeni E-brojevi. Svakako, potrošači žele da su proizvodi bez dodataka konzervansa, stabilizatora (E-free) i sl., ali da su oplemenjeni dodacima koji poboljšavaju

nutritivnu odnosno zdravstvenu vrijednost proizvoda – jogurta.

Mnogo je različitih faktora, koji utječu na kvalitetu jogurta, a posebno na njegovu strukturu. Najvažniji od njih su: kvaliteta mlijeka, sastav mlijeka za proizvodnju, dodaci za poboljšanje teksture, homogenizacija, uvjeti pasterizacije, tip mljekarske kulture, uvjeti fermentacije, način i uvjeti punjenja proizvoda.

Reduciranje % mliječne masti u mlijeku za proizvodnju jogurta umanjuje "kremasti" i "puna usta" okus jogurta, a pored toga često se izdvaja i vodena faza – sirutka. Da bi izbjegli ove nepoželjne promjene proizvoda zbog manje količine masti, proizvođači vrlo često koriste stabilizatore, sredstva za zgušnjavanje i/ili želiranje. Naravno, ti dodaci poboljšavaju strukturu jogurta, ali njihov se dodatak mora naznačiti na pakovanju (kao E-broj), što potrošači, uglavnom, ne smatraju poželjnim. Također, takvi dodaci mogu promijeniti svojstven i prepoznatljiv okus i izgled proizvoda. Zbog toga je potrebno, za postizanje poželjne strukture proizvoda – jogurta, koristiti bolja, alternativna rješenja.

Posljednjih godina intenzivna su istraživanja, ali također i primjena u proizvodnji, bakterija mliječno-kiselog vrenja koje proizvode egzopolisaharide (EPS), uglavnom radi njihovog svojstva da se koriste kao "prirodna sredstva" za zgušnjavanje (2,3). Korištenjem odabranih starter-kultura proizvođači mogu izbjeći primjenu nepoželjnih stabilizatora. Također, ne treba zanemariti i imunološka pa ni probiotična

Adresa autora:
Dr. sc. Ljerka Gregurek, Probiotic d.o.o.,
Ulica grada Gospića 3,
10 000 Zagreb, Republika Hrvatska

svojstva bakterija koje proizvode EPS (4).

EPS se smatraju sigurnim i imaju GRAS status, pa su doista vrlo dobra alternativa za primjenu stabilizatora.

Odabrane bakterije mliječno-kiselog vrenja proizvode dva tipa EPS-a: homoEPS i heteroEPS. Oba tipa su vrlo opsežno istražena i utvrđeno je da su homoEPS polisaharidi sastavljeni od D-glukoze ili D-fruktoze. Heteropolisaharidi, koji se u proizvodnji jogurta češće koriste od homoEPS, sastavljeni su od D-galaktoze i D-glukoze i/ili L-ramnoze (5). Tijekom fermentacije, bakterije mliječno-kiselog vrenja mogu u proizvodu proizvesti između 50 i 600 mg/L EPS-a, a što ovisi o sastavu startera i o uvjetima fermentacije (pH, temperatura).

Praćenjem primjene kultura koje proizvode EPS potvrđeno je da povoljno utječu na teksturu fermentiranih mliječnih proizvoda, povećana je viskoznost proizvoda i znatno manji stupanj sinereze (6).

Treba dodati da je korištenjem bakterija koje proizvode EPS moguće da proizvod – jogurt – poprimi tzv. "ropy" strukturu (da se rasteže), što potrošači ponekad ne smatraju poželjnim svojstvom. Efekt je kompleksan i istraživanja, koja su vrlo intenzivna, pokazuju da "ropy" svojstvo proizvoda nije uvijek u korelaciji s količinom proizvedenog EPS-a.

Za povećanje suhe tvari mlijeka za proizvodnju jogurta, i preko toga za postizanje bolje strukture proizvoda, proizvođači vrlo često u mlijeko za proizvodnju dodaju obrano mlijeko u prahu. Međutim, dodatak obranog mlijeka u prahu može biti uzrok variranja kvalitete proizvoda i promjene njegovih svojstava (povećana kiselost, manja trajnost proizvoda, izdvajanje sirutke). Neujednačenost kvalitete posebno je nepoželjna ako se radi o "brand" proizvodu, koji potrošači prepoznaju po određenim, uvijek prisutnim svojstvima.

Za postizanje poželjne strukture jogurta, posebno ako se proizvodi od niskomasnog mlijeka, sve više se koristi dodatak mliječnih proteina ili još bliže – sirutkinih proteina.

Mlijeko sadrži dve glavne grupe proteina: kazeine i sirutkine proteine. Sirutkini proteini imaju važnu ulogu u određivanju strukturnih svojstava jogurta.

Kazeini su u mlijeku organizirani u micelle, a sirutkini proteini imaju globularnu strukturu. Tijekom obrade mlijeka za proizvodnju jogurta, sirutkini proteini povezuju se sa kazeinskim micelama i stvaraju sirutkine agregate. Kada se pH sredine u procesu fermentacije snizi, stvara se kiselinski gel, a njegova će čvrstoća, u mnogome, ovisiti o proteinskoj kompoziciji proizvoda – jogurta. Što je više sirutkinih proteina ili, još bliže, što je više β -laktoglobulina u mlijeku, bolji i čvršći bit će gel.

Sirutkini proteini su prirodni sastojci mlijeka i vrlo su povoljni za postizanje dobre strukture i "puna usta" okusa proizvoda od niskomasnog mlijeka. Prirodno, u odnosu na sirutkine proteine, obrano mlijeko u prahu, koje se dodaje od cca 1,5-2,0%, po cijeni je povoljniji dodatak, ali za kvalitetu proizvoda znatno neefikasniji. Sirutkini proteini se (prema uputi proizvođača) dodaju u količini od 0,2-0,7% (ovisno o sastavu proizvoda).

Dodatkom sirutkinih proteina u mlijeko za proizvodnju jogurta ne postiže se samo željena struktura proizvoda, već se i funkcionalnost proizvoda povećava, jer sirutka ima najvišu biološku vrijednost od bilo kojih poznatih proteina.

Na tržištu se nalazi cijeli niz proizvoda različitih proizvođača, koji sadrže različite količine sirutkinih proteina. Proizvođači sirutkinih proteina preporučuju način primjene i količinu dodatka proteina za određene mliječne proizvode. Treba dodati da je važno poštovati upute proizvođača, jer dodatak previsokih količina sirutkinih proteina u mlijeko za proizvodnju može

biti uzrok zrnatosti i pojave grudica u proizvodu, koji može imati kratku i lomljivu strukturu.

Dodatak sirutkinih proteina u mlijeko za proizvodnju jogurta vrlo je povoljan (bez obzira na njihovu cijenu), jer je to prirodni sastojak mlijeka, proizvod – jogurt – je E-free, a nutritivna vrijednost proizvoda povećana.

Može se zaključiti da jogurt, najpopularniji od fermentiranih mliječnih proizvoda, može odgovoriti na mnogobrojne želje potrošača, kako populaciji koja vrlo aktivno živi i radi, želje ženske populacije koja želi kontrolirati svoju težinu, djece koja rastu i starijih osoba koje žele zadržati dobru strukturu svojih kostiju.

Ključne riječi: jogurt • kvaliteta • potrošnja • egzopolisaharidi • proteini sirutke

LITERATURA

1. Mollé, L.: Healthy ways, International Food Ingredients, 3, p. 33-34 (2008).
2. Cerning, J.: Production of Exopolysaccharides by Lactic Acid Bacteria and Dairy Propionibacteria, Lait, 75, p. 463-472 (1995).
3. Laws, A., Gu, Y., Marshall, V.: Biosynthesis, characterization and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria, Biotechnology Advances, 19, p. 1-28, (2001).
4. Vaningelgem, F., Zamfir, M., Mozzi, F., Adriany, T., Vancanneyt, M., Swings, J., de Vuyst, L.: Biodensity of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* strains is reflected in their production and their molecular and functional characteristics. Applied and Environmental Microbiology, 70, p. 900-912, (2004).
5. De Vuyst, L., Zamfir, M., Mozzi, F., Adriany, T., Marshall, V., Degeest, B., Vaningelgem, F.: Exopolysaccharide – producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. Ind. Dairy Journal, 13, p. 707-717, (2003).
6. Hassan, A. N., Ipsen, R., Janzen, T., Qvist, K. B.: Microstructure and rheology of yoghurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides, Journal of Dairy Science, 86, p. 1632-1638, (2003).

SUMMARY

YOGHURT – CONSUMPTION AND TRENDS

Ljerka Gregurek, Katarina Tonković

Probiotik d.o.o., Zagreb, Croatia

Yoghurt is by far most ideal media for functional ingredients within all dairy products, and because of its positive properties, increases milk product consumption. Recently, there have been more and more producers who are using natural milk ingredients in yoghurt production as egzopolysaccharide producing lactic acid bacteria or whey proteins, which enhance physical and nutritive properties of the final product. Yoghurt can answer to various consumer's needs, active and working population, woman population wishing to control their weight, growing children and elderly people which want to keep good bone structure.

Key words: yoghurt • quality • consumption • egzopolysaccharides • whey proteins

DRAGOJLO B. OBRADOVIĆUniverzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet, Katedra za
tehnološku mikrobiologiju

UDK: 637.1:579.66

OSNOVNI PRINCIPI SANITACIJE POGONA – PREDUSLOV ZA HACCP

Sprečavanje oboljenja koja se prenose hranom, smanjenje kvarenja proizvoda i poboljšanje kvaliteta proizvoda tekući su trendovi u prehrambenoj industriji. Zbog toga je bezbednost hrane predmet od posebnog interesa za prehrambenu industriju. Postoje brojne mogućnosti za kontaminaciju hrane od momenta proizvodnje do konzumacije. Hrana može da bude kontaminirana na farmi, u moru, i u prehrambenim objektima a isto tako i za vreme transporta. I na kraju, hrana može da bude kontaminirana u finalnim fazama proizvodnje, u objektima prodaje i od strane potrošača u njihovim domovima. Prema tome, u eri u kojoj je naglasak stavljen na bezbednost hrane, u kojoj su pripreme i obim proizvodnje povećani, neophodno je posvetiti veću pažnju sanitarnim uslovima u lancu od primarne proizvodnje do konzumiranja. Neosporno je da ovaj trend predstavlja veliki iza-

zov za prehrambenu industriju. Sanitacija je primenjena nauka koja obuhvata principe planiranja, razvoja, implementacije, održavanja, uvođenja ili poboljšanja higijenske prakse u cilju obezbeđenja odgovarajućih ekoloških uslova za proizvodnju hrane. Sanitacija se isto tako smatra primenjenom naukom zbog njenog značaja u zaštiti zdravlja ljudi i njene povezanosti sa faktorima okolne sredine koji utiču na zdravlje.

To znači da je sanitacija posvećena kontroli bioloških, hemijskih i fizičkih hazarda u okruženju proizvodnje hrane. Principi planiranja sa gledišta higijene uključuju uspostavljanje jasno odvojenih zona u pogonu, kontrolu kretanja osoblja i materijala u cilju smanjenja hazarda, sprečavanje nakupljanja vode u pogonu, kontrolu temperature i vlažnosti u objektima, kontrolu protoka i kvaliteta vazduha, lokaciju objekta što uslovljava nivo

sanitacije, spoljašnje stanje objekta, što uslovljava nivo sanitacije, raspored unutrašnjeg prostora koji utiče na sanitaciju, građevinsku konstrukciju koja omogućava uslove sanitacije, opremu i alate dizajnirane tako da sprečavaju kontaminaciju i sanitaciju u skladu sa karakteristikama objekta. Ovi principi su takođe preduslov koji je osnova za postavljanje HACCP a istovremeno predstavljaju vitalnu komponentu kompanijskog sistema bezbednosti hrane.

Ključne reči: sanitacija • hrana • objekat • higijena

SUMMARY

BASIC PLANT SANITATION PRINCIPLES – PREREQUISITE FOR HACCP

Dragojlo B. Obradović

University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Department for Industrial Microbiology

Prevention of food borne illnesses, reduction of product spoilage, and improvements to product quality are ongoing concerns in the food manufacturing industry. Because of this food safety has become an issue of special importance for the food industry. There are many opportunities for food to be contaminated between production and consumption. Food can be contaminated at the farm or in the sea and also in food processing plants and during transport to food establishments. Finally, food can be contaminated during the last stages of production, at retail establishments, and by consumers in their homes. Therefore in this era of emphasis on food safety and security, high volume food processing and preparation operations have increased the need for improved sanitary practices from processing to consumption. This trend presents great challenge for the food industry. Sanitation is an applied science that incorporates the principles of design, development, implementation, maintenance, restoration and/or improvement of hygienic practices designed to maintain a clean environment for food production, processing and storage. Sanitation is considered to be applied science because of its importance to the protection of human health and its relationship with environmental factors that relate to health. This means that sanitation is dedicated to control of the biological, chemical and physical hazards in a food environment. It is also prerequisite that provide the foundation for HACCP and it is also vital component in a company food safety assurance system. Hygienic design principles include direct hygienic zones in the facility, control the movement of personnel and materials flows to reduce hazards, water accumulation controlled inside the plant, room temperature and humidity controlled, room air flow and room air quality control, site elements facilitate sanitary conditions, building envelope facilitates sanitary conditions, interior spatial design promotes sanitation, building components and construction facilitate sanitary conditions, design utility systems to prevent contamination and sanitation integrated into facility design. These principles are also prerequisite that provide the foundation for HACCP and it is also vital component in a company food safety assurance system.

Key words: sanitation • food • plant • hygiene

¹MIHAILO S.OSTOJIĆ
²LJUBIŠA M. TOPISIROVIĆ

¹Univerzitet u Beogradu,
 Poljoprivredni fakultet
²Univerzitet u Beogradu,
 Biološki fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 637.146.1:637.1:658.626

ZNAČAJ AUTOHTONIH SOJEVA BAKTERIJA MLEČNE KISELINE U ZAŠTITI GEOGRAFSKIH OZNAKA MLEČNIH PROIZVODA*

Izvršena je izolacija bakterija mlečne kiseline (BMK) iz autohtonih mlečnih proizvoda proizvedenih na planinama Kopaonika, Zlatara, Golije i Durmitora. Njihovom identifikacijom i determinacijom izdvojeni su sojevi BMK sa probiotskim karakteristikama. Tako dobijene BMK su korišćene u laboratorijskoj, eksperimentalnoj i industrijskoj proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka sa probiotskim svojstvima i standardizovanoj proizvodnji autohtonih sireva.

Ključne reči: Autohtoni sirevi · kiselomlečni napici · bakterije mlečne kiseline · prirodni izolati

UVOD

Tradicija korišćenja bakterija mlečne kiseline (BMK) u pripremi fermentisane hrane je izuzetno duga.

Postoje zapisi da je čovek od svoje najranije aktivnosti koristio prirodno fermentisane proizvode, svako ne znajući da su BMK prirodnog ambijenta, koji ga okružuje, u najvećem broju slučajeva odgovorne za dobijanje fermentisanih proizvoda. BMK su i stalni stanovnici gastrointestinalnog trakta čoveka i ostalih sisara.

U intestinalnoj populaciji BMK najčešće se mogu naći *Lactobacillus acidophilus* i *Lactobacillus reuteri*. Ne ki od sojeva BMK su probiotici, tj., pokazano je da mogu značajno da utiču na zdravlje čoveka. Probiotici su monokulture ili mešane kulture živih mikroorganizama koje, kada ih koristi čovek ili životinja, povoljno deluju na domaćina, poboljšavajući osobine postojeće mikroflore (Topisirović i Ostojčić, 2000a).

Bakterije mlečne kiseline imaju veliki industrijski značaj. One se široko koriste u proizvodnji fermentisanih mlečnih proizvoda i druge fermentisane hrane. Jedna od važnih osobina bakterija mlečne kiseline je posedovanje proteolitičkog sistema što im omogućava da rastu u mleku. Pored toga, BMK su proizvođači i bakteriocina, egzopolisaharida i aromogenih materija. Izučavanja BMK, poreklom iz tradicionalnih fermentisanih kiselomlečnih proizvoda, dobijenih u domaćoj radinosti na specifičnim lokalitetima našeg područja, omogućava formiranje kolekcije ovih bakterija (Vukašinović i sar., 2003). Njihova mikrobiološka i molekularno-genetička izučavanja daju osnovu za selekciju specifičnih sojeva karakterističnih za određene regione. Konstrukcija starter kultura sastavljenih od dobro izučenih prirodnih izolata BMK daje osnovu za dobijanje proizvoda sa deklaracijom specifičnog geografskog porekla. Pored toga, sve je više podataka da su neke BMK probiotici i samim tim osnova za proizvodnju funkcionalne hrane (Topisirović i Ostojčić, 2000b).

Takva saznanja stvaraju interes da se BMK koriste u procesu konzervacije hrane i produženja veka njenog trajanja. Međutim, najveći broj bakte-

riocina BMK ima uzak antimikrobni spektar delovanja, tako da je njihova upotrebna vrednost ograničena. Izučavanje mehanizama biosinteze bakteriocina, kao i kloniranje gena odgovornih za njihovu sintezu daje mogućnost genetičke manipulacije i konstrukcije himernih bakteriocina sa širim spektrom antimikrobnog delovanja (Topisirović i sar., 2003).

MATERIJAL I METODI

Kolekcija bakterija mlečne kiseline (BMK) je napravljena od mikroorganizama izolovanih iz fermentisanih mlečno – kiselinskih proizvoda dobijenih na tradicionalan način na planinama Kopaonika, Zlatara, Golije i Durmitora. Njihovom identifikacijom i determinacijom izdvojeni su sojevi BMK sa probiotskim karakteristikama. Tako dobijene BMK su korišćene u laboratorijskoj, eksperimentalnoj i industrijskoj proizvodnji standardizovanih autohtonih sireva i fermentisanih mlečnih napitaka sa probiotskim svojstvima.

Iz kolekcije uzoraka 51 izolat je identifikovan kao *Lactobacillus* sp. Svi izolovani laktobacili pripadaju grupi mezofilnih sojeva koji dobro rastu na temperaturama od 15° C i 30° C, a ne rastu na temperaturi od 45° C. Testiranje sposobnosti rasta u prisustvu nizina pokazalo je da su izolati BGCGK-4, BGHN-40, BGBUK2-8, BGBUK2-7 i BGBUK2-16 rezistentni na bakteriocin nizin. U eksperimentu određivanja minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) za nizin pokazano je da je najrezistentniji izolat *Lactobacillus* sp. BGCGK4. Izolat BGBUK2-16, determinisan kao *Lactobacillus paracasei*

*Rad je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj po projektu TR 20111

Adresa autora:
 Dr Mihailo Ostojčić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun, e-mail: mostojic@agrifaculty.bg.ac.yu.

subsp. *paracasei*, proizvodi bakteriocin označen kao Bac217 i pokazuje rezistenciju na 8000 IU/ml. Čišćenjem plazmida iz soja BGBUK2-16 dobijena su 2 derivata označena kao BGBUK2-16/K2 i BGBUK2-16/K4. Derivat BGBUK2-16/K2 zadržao je rezistenciju na Bac217 i nizin, ali je izgubio sposobnost sinteze Bac217, dok je derivat BGBUK2-16/K4 pored gubitka sposobnosti sinteze Bac217 postao senzitivniji na Bac217 i nizin. Prirodno rezistentni laktobacili se mogu iskoristiti za pripremanje starter kultura u kombinaciji sa nizinom kao konzervansom u cilju kontrolisane mlečno kiseline fermentacije.

Za mikrobiološku analizu je korišćeno 20 g svakog uzorka sira koji je homogenizovan u 180 ml sterilnog 2% (w/v) natrijum citrata. Razređenja homogenata pripremana su u sterilnom 0,85% (w/v) natrijum hloridu i zasejavana na medijumima za izolaciju BMK: a) za laktobacile je korišćen MRS agar pH 5,7 i zasejane Petri šolje inkubirane su 72 sata na 30°C i 45°C u aerobnim i 5 dana u anaerobnim uslovima; b) za laktokoke je korišćen M17 agar pH 5,7 i zasejane Petri šolje inkubirane su 72 sata na 30°C (Mannu i sar., 2002).

Ukupna DNK iz BMK je izolovana prema prethodno opisanoj proceduri (Hopwood i sar., 1985). Tako izolovana DNK iz izolata BMK je korišćena kao matrica za rep-PCR analizu, pri čemu je za umnožavanje specifičnih fragmenata DNK korišćen oligonukleotidni prajmer BOXA1R (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'), a prema optimalnom PCR programu (Versalović i sar., 1994), sa Taq DNK polimerazom. BOXA1R prajmer ima repetitivne sekvence od 154 bp u obe orijentacije. Dobijeni DNK fragmenti su razdvajani elektroforezom na 1,5% agaroznom gelu (15 x 20 cm) koji sadrži 0,5 µg/ml etidijum bromida u trajanju od 16 sati u TAE puferu pri konstantnoj voltaži od 55 V na +4°C (Versalović i sar., 1994). Rep-PCR profili su vizualizovani pod UV svetlom i snimani digitalnom CCD kamerom. Referentni sojevi BMK su korišćeni kao kontrola.

Analiza antimikrobne aktivnosti izolata BMK izvršena je odloženom metodom testiranja, korišćenjem različitih indikator sojeva. Izolati koji pokazuju antimikrobnu aktivnost testiraju se na sposobnost proizvodnje bakteriocina opisanom metodom korišćenja bunarčića u agaru (Tagg i McGilven, 1971). Kao indikator sojevi koriš-

ćeni su *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGMN1-596, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NS1 i *Lactobacillus plantarum* A112. Meki GM17 i MRS agar (0,7%, w/v), koji sadrži odgovarajući indikator soj, razliva se na GM17 ili MRS podlogu u Petri šoljama.

Soj *Lactobacillus* BGRA 43 izolovan je iz kolekcije humanih laktobacila kao soj koji pokazuje najbrži rast u laboratorijskom medijumu (MRS), kao i u mleku. Pored toga, ovaj izolat je pokazivao značajan antimikrobni efekat protiv, kako Gram pozitivnih (uključujući i *Clostridium sporogenes*), tako i protiv Gram negativnih bakterija. Rast *Lactobacillus* BGRA 43 u obranom mleku u laboratorijskim uslovima, rezultuje u snižavanju pH vrednosti na 4,53, nakon 6 sati inkubacije na 37°C. Pored brze acidifikacije mleka, soj BGRA 43 daje znatnu viskoznost proizvodu. *Lactobacillus* BGRA43 proizvodi ekstracelularne proteinaze, koje mogu imati efekta na kvalitet dobijenog proizvoda.

REZULTATI I DISKUSIJA

Istraživanja prirodnih izolata bakterija mlečne kiseline (BMK) nisu bila u centru pažnje istraživača u svetu sve do momenta kada je uočeno da bi ovi izolati BMK mogli biti korišćeni za unapređenje postojećih starter kultura, ali i kao izvor novih gena čijom bi se kombinacijom moglo doći do novih tipova starter kultura ili poboljšanja karakteristika postojećih starter kultura. Stoga se relativno malo zna, a u poslednje vreme sve više se radi na genetičkim i komercijalnim potencijalima BMK koje se nalaze u autohtonim fermentisanim proizvodima.

regionu zapadne Srbije na planinama Kopaonik, Golija i Zlatar, kao i na Durmitoru u Crnoj Gori zadržana je tradicionalna proizvodnja sira koja se još uvek odvija u domaćinstvima. Značajno je da se za proizvodnju tih sireva ne koristi bilo koja komercijalna starter kultura. Stoga, populacija BMK u tim sirevima predstavlja autohtonu mikrofloru, specifičnu za lokalitet gde se sir proizvodi. To je, između ostalog, i razlog što se i sirevi razlikuju od domaćinstva do domaćinstva, po zastupljenosti pojedinih vrsta BMK, hemijskom sastavu i svojim senzorskim karakteristikama.

Da bi se postigao ujednačen kvalitet ovog sira neophodno je da se proizvodnja odvija u što je moguće kontrolisanim uslovima u domaćinstvima. To iziskuje ne samo poznavanje

tradicionalne tehnologije proizvodnje sira, već i analizu mikroflora, pre svega BMK, koje iz sirovog mleka i okolne sredine dolaze u sir (Ostojić i sar., 2001). Upravo zbog mogućih komercijalnih potencijala prirodnih izolata BMK, mikrobiološke analize su do sada sprovedene na mnogim poznatim vrstama sira kao što su Parmigiano Reggiano, Cheddar i dr. (Banina i sar., 1997). Pokazalo se da tokom zrenja autohtonih sireva ne učestvuje samo jedna vrsta BMK, već više vrsta, koje se tokom procesa proizvodnje i zrenja smenjuju, prepliču i dopunjuju. Svaka vrsta BMK svojom aktivnošću u pojedinim fazama proizvodnje i zrenja sira doprinosi prepoznatljivom ukusu, mirisu i strukturi proizvoda (Olson, 1990). Prema tome, aktivnost autohtone mikroflora određuje specifičnost sira koji se proizvodi u tom lokalitetu.

Fermentisani mlečni napici predstavljaju prehrambenu namirnicu bogatu hranljivim materijama u odgovarajućem odnosu i lako dostupnom obliku za ljudski organizam. Oni u svom sastavu imaju sve komponente mleka, koje mogu biti uvećane koncentracijom ili obogaćene različitim dodacima. Primenjeni fermentativni procesi menjaju sastav mleka. Mlečnokiselinska fermentacija utiče na stvaranje mlečne kiseline iz laktoze, masnih kiselina iz mlečne masti i amino kiselina iz proteina.

Fermentacija se odvija pod dejstvom BMK koje su prirodno prisutne u mleku, ali se dodaju i kao starter kulture. Prisutne BMK svojom aktivnošću povećavaju svarljivost proizvoda, poboljšavaju iskorišćenje kalcijuma i sprečavaju aktivnost drugih patogenih mikroorganizama. Oni u većem organizmu stvaraju i održavaju ravnotežu mikroflora probavnog trakta i zato fermentisana mleka spadaju u zdravstveno korisnu hranu (Topisirović i Ostojić, 2000b).

Probiotici su organizmi u organskoj materiji koji doprinose intencionalnoj ravnoteži mikroorganizama. Oni praktično štite organizam od različitih bolesti kao što su akutna rotavirusna dijareja, mnoge smetnje u funkciji debelog creva, alergije na hranu itd. Značajnu ulogu u tome imaju BMK iz roda *Streptococcus*, *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. One su prirodno prisutne u ljudskom i životinjskom muko-znom tkivu. Fermentisani mlečni proizvodi koji sadrže ove BMK nazivaju se funkcionalna hrana (Rogelj, 2000).

Do sada su starter kulture za proizvodnju fermentisanih mlečnih napici

taka sadržale dve ili više BMK poreklom iz intestinalnog trakta i to uglavnom *Lactobacillus acidophilus* i vrste roda *Bifidobacterium*. Zbog sporog rasta u mleku ove bakterije se često moraju kombinovati sa BMK koje ulaze u sastav starter kultura za proizvodnju jogurta (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*).

Fluktuacija BMK praćena je u zlatarskom siru tokom njegovog zrenja. U tu svrhu su BMK izolovane iz mleka od koga je sir proizveden i uzoraka sira starih 1, 10, 20, 30, 45 i 60 dana. Ukupno je sakupljeno, nasumičnim izborom 306 izolata od kojih 253 izolata pripada grupi Gram-pozitivnih i katalaza-negativnih bakterija. Prvi rezultati su pokazali da procenat koka i štapića varira počevši od mleka kao sirovine i tokom zrenja sira. Sirovo mleko i sir starosti jednog dana ima značajno veći broj koka nego štapića. Međutim, tokom zrenja sira broj izolovanih mlečnokiselinskih koka varira, dok se broj mlečnokiselinskih štapića uvećava, a najveći broj je izolovan iz uzorka sira nakon 30 dana zrenja. U siru nakon 60 dana zrenja izolovan je isti broj mlečnokiselinskih koka i štapića.

Analiza fizioloških osobina izolata pokazala je da tokom zrenja sira raste broj termofilnih mlečnokiselinskih koka (rastu na 45 °C), koje rastu u prisustvu 6,5% NaCl i hidrolizuju eskulin. Ovaj rezultat govori da se najverovatnije radi o povećanju broja enterokoka tokom zrenja zlatarskog sira (Terzić-Vidović i sar., 2007).

Iz zlatarskog sira izolovan je veliki broj mezofilnih mlečnokiselinskih štapića, laktobacila koji proizvode aromenu supstancu diacetil. Najveći broj ovih laktobacila je izolovan iz sireva 45. i 60. dana zrenja. Testiranje sposobnosti rasta u litmus mleku je pokazalo da 90% izolata pokazuje ACR karakteristiku (A – proizvode mlečnu kiselinu; C – efikasno formiraju grušu u mleku; R – redukuju litmus). Među ovim izolatima najveću efikasnost je pokazalo osam izolata koji su zgrušavali mleko nakon 5 do 7 sati inkubacije kada je vrednost pH dostizala 4,8 (Veljović i sar., 2007).

Antimikrobna aktivnost BMK izolovanih iz zlatarskog sira

Bakterije mlečne kiseline sintetišu veliki broj antimikrobnih supstanci koje imaju značaj u održavanju ispravnosti i kvaliteta fermentisanih proizvoda. Pored sinteze i izlučivanja metabolič-

kih produkata (mlečna kiselina, sirćetna kiselina, vodonik peroksid, diacetil i druga jedinjenja ukuljučujući i enzime) neke BMK sintetišu i izlučuju antimikrobne supstance koje se nazivaju bakteriocini. Bakteriocini su proteinske prirode i mogu imati baktericidno i bakteriostatičko delovanje. Na osnovu hemijskih, strukturnih i funkcionalnih osobina, bakteriocini se dele u četiri grupe (Nes i sar., 1996).

U prethodnim analizama BMK izolovanih iz autohtonih sireva našeg područja, otkriveni su veoma dobri proizvođači bakteriocina. Među njima je bio i izolat koji istovremeno proizvodi tri različita bakteriocina, odnosno multiplikuju baktericidno i bakteriostatičko delovanje (Kojić i sar., 1991b, Gajic i sar., 1999).

Analiza antimikrobne aktivnosti izolata zlatarskog sira je pokazala da 88 od 253 izolata BMK proizvodi antimikrobne supstance. Detaljnijom analizom je utvrđeno da ovi izolati proizvode bakteriocine. Neki od izolata pokazuju providne zone, drugi turbidne, a treći obe vrste zona inhibicije rasta indikator sojeva (tabela 1). Najveći broj proizvođača bakteriocina je izolovan iz sira starog jedan dan, dok je 77% bakteriocin proizvođača od svih testiranih nađeno u sirovom mleku. Interesantno je da proizvođači bakteriocina nisu detektovani među izolatima iz sira starosti 60 dana. Genetičkom analizom je ustanovljeno da proizvođači bakteriocina pripadaju vrstama *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* i *Enterococcus faecalis*.

Soj BGZLM1-24, koji je genetički determinisan kao *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, je pokazivao inhibitornu zonu na sva četiri korišćena indikator soja (tabela 1). Dodatne molekularno-genetičke analize su pokazale da ovaj izolat sintetiše bakteriocin nizin, koji je izuzetno širokog spektra delovanja.

Poznato je da nizin, kao i ostali bakteriocini BMK, mogu imati efekta na sastav mikroflore koja započinje fermentaciju. Smatra se da je biosinteza bakteriocina važan faktor koji određuje sposobnost takvih BMK da kompetiraju sa ostalim mikroorganizmima u fermentacionom ekosistemu. Interes za izučavanje bakteriocina i korišćenje BMK koje sintetišu bakteriocine za dobijanje fermentisanih proizvoda, leži i u činjenici da takvi proizvodi imaju dužu trajnost. Najrasprostranjeniji bakteriocin koji se primenjuje u pripremi fermentisane hrane je upravo nizin (Jung, 1991).

U poređenju sa drugim mlečnim bakterijama izolovanim iz humanog intestinalnog trakta, izolat *Lactobacillus helveticus* BGRA43 poseduje brojne tehnološke karakteristike koje doprinose dobrim organoleptičkim osobinama krajnjeg fermentisanog mlečnog napitka. Većina intestinalnih BMK odlikuje se veoma sporim rastom u mleku, što nije slučaj sa izolatom BGRA 43 koji ima veoma dobru aktivnost u mleku i na temperaturi od 37 °C za svega 6 sati dovodi do snižavanja pH vrednosti mleka sa 6,5 na 4,53. Ukoliko se proces fermentacije odvija na temperaturi od 42 °C vreme fermentacije se dodatno skraćuje na svega 4 do 5 sati u zavisnosti da li se primenjuje tehnološki postupak za proizvodnju jogurta ili kiselog mleka.

Biohemijska i genetička istraživanja ovog izolata su pokazala da sintetiše ekstracelularne proteinaze koje veoma efikasno hidrolizuju sve tri frakcije kazeina prisutnih u mleku (α , β , κ), što dodatno doprinosi dobroj aktivnosti u mleku. Naše dosadašnje ispitivanje proteolitičke aktivnosti BMK izolovanih kako iz humanog intestinalnog trakta tako i brojnih kiselo-mlečnih proizvoda pokazala su da nijedan izolat ne poseduje takvu sposobnost da u isto vreme hidrolizuje sve tri frakcije kazeina kao što je to slučaj sa izolatom BGRA43. Pored toga što ekstracelularne proteinaze BMK doprinose njihovoj boljoj aktivnosti u mleku, japanski naučnici su pokazali u eksperimentima sa miševima, koji su hranjeni fermentisanim napitcima dobijenim primenom nekoliko sojeva vrste *Lactobacillus helveticus*, da dolazi do snižavanja krvnog pritiska. Kao glavni razlog za snižavanje krvnog pritiska ovi naučnici navode prisustvo tri peptida kao što su Val-Pro-Pro i Ile-Pro-Pro, koji nastaju udruženom aktivnošću ekstracelularnih proteinaza i drugih proteolitičkih enzima koje ove bakterije poseduju.

Antimikrobna aktivnost BMK izolovanih iz autohtonih sireva

Bakterije mlečne kiseline sintetišu veliki broj antimikrobnih supstanci koje imaju značaj u održavanju ispravnosti i kvaliteta fermentisanih proizvoda. Pored sinteze i izlučivanja metaboličkih produkata (mlečna kiselina, sirćetna kiselina, vodonik peroksid, diacetil i druga jedinjenja uključujući i enzime), neke BMK sintetišu i izlučuju antimikrobne supstance koje se nazivaju bakteriocini.

Tabela 1. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST NEKIH IZOLATA BMK IZ AUTOHTONIH SIREVA
Table 1. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME LAB ISOLATES FROM AUTOCHTHONOUS CHEESES

Izolat <i>Isolate</i>	Rod <i>Genus</i>	Indikator sojevi <i>Indicator strains</i>		
		<i>Lc. lactis</i> BGMN1-596	<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> NS1	<i>Lb. plantarum</i> A112
BGZLM1-24	<i>Lc. ssp.</i>	6 mm (c)	4 mm (c) + 2 mm (t)	3 mm (t)
BGZLS1-8	<i>Lc. ssp.</i>	4 mm (c)	2 mm (c)	2 mm (t)
BGZLS10-6	<i>Lb. ssp.</i>	NA	1,5 mm (c)	1 mm (t)
BGZLS10-11	<i>Ec. ssp.</i>	4 mm (c)	2 mm (t)	NA
BGZLS20-19	<i>Lb. ssp.</i>	1 mm (c)	NA	NA
BGZLS20-34	<i>Lc. ssp.</i>	NA	NA	NA
BGZLS20-33	<i>Ec. ssp.</i>	6 mm (c) + 2,5 mm (t)	4 mm (c) + 1 mm (t)	3,5 mm (c) + 1 mm (t)
BGZLS30-7	<i>Lb. ssp.</i>	2 mm (c)	2 mm (t)	NA
BGZLS30-10	<i>Ec. ssp.</i>	2 mm (c) + 5 mm (t)	1,5 mm (c) + 3,5 mm (t)	NA

Skraćenice (*acronyms*):

Lb. – *Lactobacillus*; *Lc.* – *Lactococcus*; *Ec.* – *Enterococcus*;

BGZLM1 – izolati iz mleka (*isolates from milk*);

BGZLS1 – izolati iz sira starog jedan dan (*isolates from one day old cheese*);

BGZLS10 – izolati iz sira starog 10 dana (*isolates from ten days old cheese*); BGZLS20 – izolati iz sira starog 20 dana (*isolates from twenty days old cheese*);

BGZLS30 – izolati iz sira starog 30 dana (*isolates from thirty days old cheese*);

(c) – bistra zona oko bunarčića u mm (*clear zone around well in mm*);

(t) – turbidna, mutna zona oko bunarčića u mm (*turbid, opaque zone around well in mm*);

NA – nema aktivnosti (*no activity*).

Bakteriocini su proteinske prirode i mogu imati baktericidno i bakteriostatičko delovanje. Na osnovu hemijskih, strukturnih i funkcionalnih osobina, bakteriocini se dele u četiri grupe (Nes i sar., 1996).

U prethodnim analizama BMK izolovanih iz autohtonih sireva našeg područja, otkriveni su veoma dobri proizvođači bakteriocina. Među njima je bio i izolat koji istovremeno proizvodi tri različita bakteriocina, odnosno multiplikuje baktericidno i bakteriostatičko delovanje (Kojić i sar., 1991b, Gajić i sar., 1999).

Analiza antimikrobne aktivnosti izolata zlatarskog sira je pokazala da 88 od 253 izolata BMK proizvodi antimikrobne supstance. Detaljnijom analizom je utvrđeno da ovi izolati proizvode bakteriocine. Neki od izolata pokazuju providne zone, drugi turbidne, a treći obe vrste zona inhibicije rasta indikator sojeva. Najveći broj proizvođača bakteriocina je izolo-

van iz sira starog jedan dan, dok je 77% bakteriocin proizvođača od svih testiranih nađeno u sirovom mleku. Interesantno je da proizvođači bakteriocina nisu detektovani među izolatima iz sira starosti 60 dana. Genetičkom analizom je ustanovljeno da proizvođači bakteriocina pripadaju vrstama *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* i *Enterococcus faecalis*.

Soj BGZLM1-24, koji je genetički determinisan kao *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, pokazivao je inhibitornu zonu na sva četiri korišćena indikator soja (tabela 1). Dodatne molekularno-genetičke analize su pokazale da ovaj izolat sintetiše bakteriocin nizin, koji je izuzetno širokog spektra delovanja.

Poznato je da nizin, kao i ostali bakteriocini BMK, mogu imati efekta na sastav mikroflora koja započinje fermentaciju. Smatra se da je biosinteza bakteriocina važan faktor koji određuje sposobnost takvih BMK da

kompetiraju sa ostalim mikroorganizmima u fermentacionom ekosistemu. Interes za izučavanje bakteriocina i korišćenje BMK koje sintetišu bakteriocine za dobijanje fermentisanih proizvoda, leži i u činjenici da takvi proizvodi imaju dužu trajnost. Najrasprostranjeniji bakteriocin koji se primenjuje u pripremi fermentisane hrane je upravo nizin (Jung, 1991).

Iako kod izolata BGRA43 nije uočena sinteza egzopolisaharida, čak ni pri anaerobnim uslovima uzgajanja, tokom rasta ovog izolata u mleku formira se veoma viskozna gruša što u mnogome doprinosi dobrim reološkim svojstvima novog kiselomlečnog proizvoda.

Pošto viskoznost fermentisanih napitaka ne nastaje zbog sinteze egzopolisaharida, pretpostavka je da se viskoznost povećava kao rezultat interakcija između ćelija izolata BGRA43. Podsećamo da je izolat BGRA43 intestinalna BMK, a iz litera-

ture je poznato da ćelije ovih bakterija imaju sposobnost da se vezuju kako jedne za druge, tako i za ćelije crevnog epitela. Promena viskoznosti i pojava sinerezisa nije uočena ni posle sedamnaest dana čuvanja proizvoda na +4 °C, što otvara mogućnost da se novi kiselomlečni napitak iskoristi u kombinaciji sa voćem. Primenom izolata BGRA43 izbegla bi se upotreba hidrokoloida u proizvodnji voćnog jogurta.

Ispitivanja izvedena na soju BGRA43 pokazuju da on poseduje značajnu antimikrobnu aktivnost kako prema gram pozitivnim bakterijama (*Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*), tako i prema gram negativnim vrstama (*Escherichia coli* i *Pseudomonas* sp.). Primenom ovog izolata u proizvodnji ne samo fermentisanih mlečnih napitaka, već i drugih mlečnih proizvoda, izbegla bi se upotreba bioloških aditiva kao što je nizin, koji se u mnogim zemljama koristi pri proizvodnji različitih fermentisanih mlečnih proizvoda.

Ekperimentalna proizvodnja izvedena u mlekarama Zemun, Pančevo, Šabac i Bač sa izolatom *Lactobacillus helveticus* BGRA43 pokazala je da se novi kiselomlečni napitak veoma uspešno može proizvoditi i kao jogurt (tečna varijanta) i kao kiselo mleko (čvrsta varijanta) (Ostojic i sar., 2002). I u jednoj i u drugoj varijanti (jogurt i kiselo mleko) dobijen je proizvod koji je imao zadovoljavajuće organoleptičke karakteristike koje se nisu u mnogome menjale tokom posmatranog perioda čuvanja od sedamnest dana. U tabeli 2 prikazana je promena kiselosti izražena u °SH i ukupnog broja BMK u proizvodu čuvanom sedamnaest dana na +4 °C.

Tokom sedamnaestodnevno čuvanja proizvoda na +4°C dolazi do povećanja naknadne kiselosti proizvoda koja je još uvek ispod granice

predviđene Pravilnikom o kvalitetu mleka i fermentisanih mlečnih proizvoda (2002).

U istom posmatranom periodu ukupan broj BMK nije opao ispod 10^6 što je jedan od preduslova da bi se jedan fermentisani mlečni napitak smatrao probiotikom. Proizvodi su i posle ovog perioda imali zadovoljavajuće organoleptičke karakteristike. Tako je u mlekarama Pančevo, Zemun, Bač i Šabac po prvi put proizveden kiselomlečni napitak od BMK koja je izolovana i potpuno okarakterisana u našoj zemlji. Za ovu bakteriju se sa sigurnošću može reći da pripada vrsti *Lactobacillus helveticus*, pošto je determinisana savremenim molekularno-genetičkim metodama (Vukasinovic i Topisirovic, 2000). To je još jedna prednost ovog novog kiselomlečnog napitka jer su ispitivanja izvedena sa DGGE metodom (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) pokazala da svega 54,5% probiotičkih jogurata sadrži mikroorganizme naznačene na deklaraciji. Ovo se posebno odnosi na vrste roda *Bifidobacterium* koje su u većini slučajeva neprecizno identifikovane (Temmerman i sar., 2003, Theunissen i sar., 2005).

ZAKLJUČAK

Na osnovu sveobuhvatnih istraživanja može se zaključiti sledeće:

U regionu zapadne Srbije zadržana je tradicionalna proizvodnja sira koja se još uvek odvija u domaćinstvima. Značajno je da se za proizvodnju takvih sireva ne koristi bilo koja komercijalna starter kultura. Stoga, populacija bakterija mlečne kiseline (BMK) u njima predstavlja autohtonu mikrofloru, specifičnu za lokalitet gde se sir proizvodi. To je, između ostalog, i razlog što se i sirevi razlikuju od domaćinstva do domaćinstva, po za-

stupljenosti pojedinih vrsta BMK, hemijskom sastavu i svojim senzorskim karakteristikama. Da bi se postigao ujednačen kvalitet ovog sira neophodno je da se proizvodnja odvija u što kontrolisanim uslovima u domaćinstvima. To iziskuje ne samo poznavanje tradicionalne tehnologije proizvodnje sira, već i analizu mikroflora, pre svega BMK, koje iz sirovog mleka i okolne sredine dolaze u sir.

Selekcija i genetička karakterizacija BMK iz autohtonih sireva, na osnovu dobre proteolitičke aktivnosti, sposobnosti da sintetišu egzopolisaharide, bakteriocine i aromogena jedinjenja, doprineće ne samo poboljšanju i standardizaciji kvaliteta autohtonih sireva, već daje i mogućnost proizvodnje novih tipova sireva sa modifikovanim senzorskim karakteristikama.

Na tržištu je prisutan znatan broj fermentisanih mlečnih napitaka u čijoj proizvodnji učestvuju različite BMK poreklom iz intestinalnog trakta. Ovi fermentisani mlečni napitci postali su veoma popularni u ishrani ljudi, jer ove bakterije svojom aktivnošću sprečavaju rast štetnih bakterija u intestinalnom traktu usporavajući na taj način proces starenja. Pored ovoga stalna izolacija novih sojeva BMK iz intestinalnog trakta omogućava formiranje takvih starter kultura čijom se primenom mogu dobiti fermentisani mlečni napitci sa poboljšanim ili novim osobinama.

LITERATURA

- Banina, Ana, Branković, S., Vukašinić, Maja, Fira, Dj., Kojić, M. i Topisirović, Lj.: Genetička, biohemijska i tehnološka svojstva prirodnih izolata bakterija mlečne kiseline za proizvodnju sireva. Jugoslovenski mlekarSKI simpozijum 'Kvalitet mleka i fermentisanih proizvoda', Zlatibor, Zbornik radova, (1997) 71-78.

Tabela 2. PROMENA KISELOSTI I UKUPNOG BROJA BMK TOKOM ČUVANJA NA +4 °C
Table 2. CHANGES IN ACIDITY AND TOTAL COUNT OF LAB DURING STORAGE AT +4 °C

Vreme (dani) Time (days)	Skladištenje na 8° C / Storage at 8° C					
	Jogurt / Yoghurt			Kiselo mleko / Fermented milk		
	Kiselost Acidity °SH	pH	Ukupan broj BMK Total count of LAB (u / in 1 ml)	Kiselost Acidity °SH	pH	Ukupan broj BMK Total count of LAB (u / in 1 ml)
1	39.20	3.98	2.7×10^7	37.20	4.06	5.8×10^7
2	39.00	4.00	-	50.00	3.86	-
6	43.20	3.85	-	49.60	3.79	-
8	44.00	3.85	1.8×10^6	46.80	3.96	8.5×10^6
13	43.67	3.82	-	54.01	3.76	-
17	47.12	3.69	1×10^6	47.50	3.73	7×10^6

2. Gajić, O., Kojić, M., Banina, Ana and Topisirović, Lj.: Characterization of Natural Isolate *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BGMN1-5, a Strain Producing Two Bacteriocins, Cell Wall-Associated Proteinase and Showing Clumping Phenotype. Arch. Biol. Sci., 51, (1999) 69-78.
3. Jung, G. In: Nisin and novel lantibiotics (eds: H.-G. Sahl and G. Jung), ESCOM, Leiden, 1, The Netherlands (1991).
4. Kojić, M., Svirčević, J., Banina, Ana, Topisirović Lj.: A bacteriocin-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* S50. Appl. Environ. Microbiol., 57, (1991)1835-1837
5. Mannu, L., Riu, G., Comunian, R., Frozzi, M.C. and Scintu, M.F.: A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes, milk cheese: PCR- identification and evolution during ripening. Int. Dairy J., 12, (2002) 17-26.
6. Nes, I.F., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Brurberg, M.B., Eijsink, V. and Holo, H.: Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek 70, (1996): 113–128.
7. Olson, F.N.: The impact of *lactis* acid bacteria on cheese flavour, FEMS Microbiol. Rev., 87, (1990)131-148.
8. Ostojić, M., Topisirović, Lj., Vukašinić, Maja: Sirevi sa geografskim poreklom, Jugoslovenski mlekarški simpozijum, Savremeni trendovi u mlekarstvu, Vrnjačka Banja, Zbornik radova, (2001) 133-143.
9. Ostojić, M., Topisirović, Lj., Vukašinić, Maja: Eksperimentalna proizvodnja fermentisanog mlečnog napitka sa probiotičkim svojstvima. Mlekarstvo 9, (2002) 273-276.
10. Rogelj, Irena: Funkcionalna hrana – hrana budućnosti. Prehrambena industrija, 11(1-2), (2000) 40-42.
11. Sl.list SRJ: Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za mleko, mlečne proizvode, kompozitne mlečne proizvode i starter kulture, Sl.list SRJ (2002), 26/02.
12. Tagg, J.R. and Mc Given, A.R.: Assay system for bacteriocins. Appl. Microbiol. 21 (1971) 943.
13. Temmerman, R., Scheirlinck, I, Huys, G., Swings, J.: Culture-independent analysis of probiotics by denaturing gradient gel electrophoresis, Applied and Environmental Microbiology, (2003) 220-226.
14. Theunissen, J., Britz, T.J., Torriani, S., Witthuhn, R.C.: Identification of probiotic microorganisms in South African products using PCR-based DGGE analysis, International Journal of Food Microbiology, (2005) 11-21.
15. Terzić-Vidojević, Amarela, Vukašinić, Maja, Veljović, Katarina, Ostojić, M., Topisirović, Lj.: Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlata cheese. International Journal of Food Microbiology. Volume 114, Issue 1, 28 February 2007, Pages 36-42.
16. Topisirović Lj., Ostojić M.: Natural isolates of lactic acid Bacteria for production of autochthonous products. J. Sci. Agric. Research 61, No212 (1-2) (2000a) 357-368.
17. Topisirović, Lj., Ostojić, M.: Genetički modifikovani organizmi i proizvodnja hrane. Hrana i ishrana 41 (1 – 2), (2000b) 5 – 10.
18. Topisirović, Lj., Ostojić, M., Vukašinić, Maja: Mlekarški simpozijum "Savremeni trendovi u mlekarstvu", Vrnjačka Banja, Zbornik radova, (2003)140-147.
19. Versalović, J., Schneider, M., De Bruin, F.J. and Lipski, J.R.: Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. Methods Mol.Ce. Biol., 5, (1994) 25-40.
20. Veljović, Katarina, Terzić-Vidović, Amarela, Vukašinić, Maja, Strahinić, Ivana, Begović, J., Lozo, J., Ostojić, M., Topisirović, Lj.: Preliminary characterisation of lactic acid bacteria isolated from Zlata cheese. Appl Microbiol. 2007 Dec ;103 (6):2142-52.
21. Vukašinić, Maja, Kuljača, S., Topisirović, Lj., Ostojić, M.: Analiza prisustva BMK u zlatarskom siru. Mlekarstvo 14, (2003) 421 – 427.
22. Vukašinić, M., Topisirović, Lj.: Molekularna determinacija bakterija mlečne kiseline. Prehrambena industrija, 11 (2000) 46–51.

SUMMARY

IMPORTANCE OF AUTOCHTHONOUS STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA (LAB) IN PROTECTION OF GEOGRAPHICAL ORIGIN OF DAIRY PRODUCTS

¹Mihailo S.Ostojić, ²Ljubiša M. Topisirović

¹University of Belgrade, Faculty of Agriculture, ²University of Belgrade, Faculty of Biology

The aim of this study was isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria (LAB) from autochthonous cheeses and natural fermented milk, and selection of strains with good technological characteristics.

Characterization of LAB was based on morphological, physiological and biochemical assays, as well as on determining proteolytic activity and plasmid profile.

Experimental industrial production of new fermented milk with starter culture containing only strain *Lactobacillus helveticus* has been realized in dairy factories Pančevo, Šabac, Bač and Zemun. Strain BGRA43 was isolated in our laboratory from human intestinal tract. Its biochemical, genetic and technological characteristics were tested, which helped in production of new fermented milk.

During 17 days storage at 4°C acidity of new fermented milk didn't change more than 55°SH what is allowed according to the milk quality regulation. Total number of lactic acid bacteria didn't decline under 1×10^6 during storage what is one of significant requirements for probiotic fermented milk.

Key words: autochthonous cheeses • fermented milk • lactic acid bacteria • natural isolates

SNEŽANA B. BULAJIĆ
ZORA M. MIJAČEVIĆ

Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine

PREGLEDNI RAD

UDK: 579.67:574.826:577.18

FENOMEN REZISTENCIJE NA ANTIBIOTIKE KOD BAKTERIJA MLEČNE KISELINE

Rezistencija na antibiotike predstavlja ekološki problem uslovljen, najvećim delom, primenom enormnih količina antibiotika u humanoj i veterinarskoj medicini. U sadašnje vreme, interesovanje naučne javnosti pobuđuje činjenica da populacija komenzalnih bakterija, kao što su bakterije mlečne kiseline i bifidobakterije mogu predstavljati rezervoar gena rezistencije na antibiotike. Svojstvo rezistencije se može preneti putem mehanizama horizontalnog transfera gena na patogene i oportunističke mikroorganizme bilo tokom procesa proizvodnje ili tokom pasaže kroz gastrointestinalni trakt. Determinante rezistencije odgovorne za rezistenciju na nekoliko antibiotika (hloramfenikol, eritromicin, streptomycin, tetraciklin i vankomicin) lokalizovane na prenosivim genetskim elementima utvrđene su kod bakterija mlečne kiseline. Rad izveštava o profilima rezistencije na antibiotike kod nekoliko vrsta bakterija mlečne kiseline, uključujući laktobacile, laktokoke, enterokoke, bifidobakterije, leukonostok vrste i *Str. Thermophilus*.

Ključne reči: rezistencija na antibiotike bakterije mlečne kiseline

UVOD

U današnje vreme mnogi istraživači ističu hipotezu o tome da komenzalne bakterije, pre svega bakterije mlečne kiseline, mogu predstavljati rezervoar gena rezistencije na antibiotike (Perreten i sar., 1997a; Levy i Salyers, 2002). Upravo iz ovog razloga, populacija komenzala je veoma značajna u spoznavanju mehanizama perzistencije i širenja gena rezistencije u mikrobnom svetu (Levy i Miller, 1989). Takvi „rezervoar“ organizmi se mogu naći u različitim namirnicama, pre svega fermentisanim proizvodima od mleka i mesa koji su u velikom broju opterećeni nepatogenom mikroflorom kao rezultat njihovog prirodnog procesa proizvodnje.

Prema ovoj teoriji, lanac hrane se može smatrati jednim od glavnih puteva transmisije rezistentnih bakterija između populacije ljudi i životinja (Witte, 1997). Pre svega, fermentisani proizvodi od mleka i mesa, koji nisu termički tretirani, predstavljaju sredstvo prenosa rezistentnih bakterija i time postoji direktna povezanost između indogene mikroflora životinja i gastrointestinalnog trakta ljudi. Projekt pod imenom „rezervoari antibiotičke rezistencije“ (Levy i Salyers, 2002) postavljen je još daleke 1998. godine u cilju promovisanja studija o selekciji i diseminaciji nepatogenih bakterija rezistentnih na antibiotike kod ljudi, tokom procesa proizvodnje hrane, kao i u neposrednom okruženju. Iako mnoge bakterije mlečne kiseline, uključene u procese fermentacije namirnica imaju „*Generally Regarded As Safe*“ (GRAS) status, potencijalan rizik po zdravlje ljudi usled transfera gena re-

zistencije od tzv. „rezervoar“ sojeva bakterija mlečne kiseline na bakterije koje predstavljaju rezidentnu populaciju gastrointestinalnog trakta ljudi, još nije u potpunosti definisan.

Neophodno je praviti razliku između prirodne („intrinzič“) i stečene (prenosive) rezistencije. Rezistencija na dati antibiotik može biti intrinzična u odnosu na bakterijsku vrstu ili rod (prirodna rezistencija), a karakteriše se sposobnošću jednog organizma da preživi u prisustvu određenog antimikrobnog agensa, usled urođene karakteristike rezistencije. Intrinzična rezistencija se ne prenosi horizontalno. Suprotno ovom tipu, stečena rezistencija je karakteristika pojedinih sojeva unutar vrste obično osetljive na primenjeni antibiotik, i može se horizontalnim putem prenositi među bakterijama. Stečena rezistencija na određeni antimikrobni agens proizlazi bilo iz mutacije u genomu bakterije ili usled sticanja dodatnih gena koji kodiraju mehanizam rezistencije. Ovakve genetske promene pojačavaju odbrambenu sposobnost bakterija. Rezistencija se vrlo verovatno razvila daleko pre kliničke primene antibiotika. Geni rezistencije mogu voditi poreklo od mikroorganizama, prirodnih producenata antimikrobnih materija, koji su snabdeveni dotičnim genima u cilju samozaštite (Davies, 1997). Drugi potencijalni izvor gena rezistencije mogu predstavljati geni čiji produkti imaju ulogu u metabolizmu bakterija. Takvi geni su mogli biti izloženi „pametnim“ mutacijama, koje su izmenile spektar supstrata (po mutaciji supstrat predstavlja antibiotik u odnosu na pređašnje supstrate biosintetičkih ili biodegradativnih puteva).

Adresa autora:
Dr Snežana Bulajić, Univerzitet u Beogradu,
Fakultet veterinarske medicine
Bulevar oslobođenja 18, 11 000 Beograd
tel.: +381 11 2685 653
snezab@vet.bg.ac.yu

Stečena rezistencija na antibiotike predstavlja karakteristiku pre svega onih mikroorganizama, čiji primarni habitati podrazumevaju sredine permanentno izložene opterećenju usled kontinuirane primene antibiotika (intestinum ljudi i životinja) (Teuber i sar., 1999). Profili rezistencije na antibiotike kod bakterija koje predstavljaju komensalnu mikrofloru nekog ekosistema, npr. bakterije mlečne kiseline, indikatori su selektivnog pritiska koji dotični mikroorganizmi podnose u uslovima kontaminacije habitata antimikrobnim sredstvima. Sirovo mleko i meso kontaminira se tokom proizvodnje fekalnim materijalom, gde se mogu naći i bakterije mlečne kiseline rezistentne na antibiotike. Na taj način geni rezistencije bivaju preneseni u krajnje proizvode, pre svega sireve proizvedene od sirovog mleka i fermentisane kobasice. Kako molekularna analiza gena rezistencije lokalizovanih na plazmidima i transpozonima pokazuje identične genetske elemente kod ljudi i životinja, čini se mogućim da namirnice animalnog porekla služe kao sredstvo prenošenja rezistentnih bakterija, odnosno determinanti rezistencije na antibiotike. Naučna javnost poslednjih godina pokušava odgovoriti na pitanje: „Da li komenzalne bakterije iz namirnica mogu preneti gene rezistencije na indogenu mikrofloru ljudi tokom tranzita u intestinum?“

Rezistencija na antibiotike kod bakterija mlečne kiseline

Veliki broj bakterija mlečne kiseline prisutan u fermentisanim proizvodima sasvim sigurno pomaže u ostva-

riivanju različitih mehanizama rezistencija na antibiotike putem mutacija. Dodatno, bakterije mlečne kiseline su opskrbljene mobilnim genetskim elementima, pre svega plazmidima i transpozonima, koji promovišu horizontalan transfer i diseminaciju gena rezistencije. Po usvajanju svojstva rezistencije, determinante rezistencije se amplifikuju i mogu predati drugom domaćinu. Iz ovih razloga, sasvim je opravdan zahtev da se starter i probiotski sojevi bakterija mlečne kiseline ispituju na svojstvo prenosive rezistencije na antibiotike, pored potrebe za njihovom kompletnom fiziološkom i tehnološkom karakterizacijom. Od vitalnog značaja jeste jasno definisanje graničnih vrednosti na osnovu kojih se vrši kategorizacija na rezistentne i osetljive sojeve. Posebnu vrednost ima razlikovanje intrinzične (nespecifične, neprenosive) i stečene rezistencije, postupak koji zahteva poređenje profila antimikrobne rezistencije velikog broja bakterija mlečne kiseline poreklom iz različitih izvora (Teuber i sar., 1999). Uz tradicionalne kliničke granične vrednosti od pomoći kliničarima u odabiru efikasnog antibiotika, predstavljen je i koncept mikrobioloških graničnih vrednosti, i to na osnovu proučavanja distribucije minimalnih inhibičkih koncentracija na dati antibiotik u određenoj populaciji bakterija (Ollson-Liljequist i sar., 1997). Prema datom konceptu, onaj deo populacije koji pokazuje jasno odstupanje od osetljive većine smatra se rezistentnim delom populacije, odnosno delom populacije sa stečenom i potencijalno prenosivom rezistencijom. U tabeli 1. dat je prikaz mikrobioloških graničnih

vrednosti na osnovu kojih se pojedine vrste bakterija mlečne kiseline kategorizuju kao rezistentne. Definisane granične vrednosti trebalo bi smatrati pragmatičnim odgovorom na postojeći prolem razdvajanja sojeva sa stečenom rezistencijom od osetljivih sojeva.

Profili rezistencije na antibiotike kod BMK

Profili rezistencije na antibiotike kod *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* i *Propionibacterium* vrsta su sasvim različiti, iako se ne zapažaju jasno odvojeni, po vrstu specifični profili rezistencije. S jedne strane, većina vrsta je rezistentna na metronidazol (MIC ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$), i trimetoprim (MIC ≥ 30 $\mu\text{g/ml}$) (Charteris i sar., 1998b; Katla i sar., 2001). Ovi organizmi imaju ograničenu biosintetičku sposobnost i ne poseduju metabolički put sinteze folne kiseline, te se smatraju intrinzično rezistentnim na ove agense (Katla i sar., 2001). S druge strane, bakterije mlečne kiseline i bifidobakterije su osetljive na piperacilin i piperacilin plus tazobaktam (MIC ≤ 16 $\mu\text{g/ml}$) (Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005; Moubareck i sar., 2005). *Lactobacillus*, *Lactococcus* i *Leuconostoc* vrste pokazuju rezistenciju visokog nivoa na cefoksitin (MIC ≥ 30 $\mu\text{g/ml}$) (Charteris i sar., 1998b; Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005). Većina laktobacila, pediokokoka i *Leuconostoc* vrsta je rezistentna na visoke koncentracije vankomicina (MIC ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$), dok je većina laktokoka veoma osetljiva na isti antibiotik (MIC ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$)

Tabela 1. MIKROBIOLOŠKE GRANIČNE VREDNOSTI ZA MIC ($\mu\text{g/ml}$) ZA POJEDINE BAKTERIJE MLEČNE KISELINE
Table 1. MICROBIOLOGICAL BREAKPOINTS FOR MIC ($\mu\text{g/ml}$) OF SEVERAL LACTIC ACID BACTERIA

ANTIBIOTIK ANTIBIOTICS	Vrste Species							
	obligatno homofermentativni laktobacili	Heterofermentativni laktobacili*	<i>Lb.</i> <i>plantarum</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Pediococcus</i> spp.	<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Str. ther-</i> <i>mophilus</i>
Ampicilin	4	4	4	8	4	4	4	4
Vankomicin	4	IR	IR	8	IR	Ir	4	4
Gentamicin**	8	8	64	512	4	4	8	8
Kanamycin**	16	16	64	1024	4	8	8	8
Streptomycin**	16	16	64	1024	4	8	16	16
Neomicin**	16	16	32	1024	8	8	8	8
Eritromicin	4	4	4	4	4	4	4	4
Klindamicin	4	4	4	4	4	4	4	4
Kvinupristin+ Dalfopristin	4	4	4	4	4	4	4	4
Tetraciklin	8	8	32	16	4	4	4	4
Hloramfenikol	4	4	8	8	4	4	8	8

Tabela je preuzeta od FEEDAP Panel izveštaja (European Commission, 2005). Sojevi sa MIC vrednošću većom od naznačenih graničnih vrednosti smatraju se rezistentnim
IR - intrinzično rezistentni; *uključujući i *Lactobacillus salivarius*; **opisana interferencija antibiotika sa medijumom koji se koristi pri određivanju osetljivosti/rezistencije na antibiotike

(Danielsen i Wind, 2003; Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005). Rezi-stencija *Lactobacillus*, *Pediococcus* i *Leuconostoc* spp. Na vankomicin objašnjava se egzistencijom D-Ala-D-Laktata u peptidoglikanu, umesto D-Ala-D-Ala dipeptida koji predstavlja ciljno mesto delovanja antibiotika (Klein i sar., 2000). Time se rezisten-cija kod ovih vrsta smatra intrinzičnom i ne može se porediti sa prenosivom, plazmidima kodiranom rezistencijom utvrđenom kod enterokoka. Ispitivanjem molekularne osnove rezistencije kod BMK, a na osnovu poređenja identiteta nukleotidne sekvence sa sekvencom gena originalno opisanih kod filogenetski udaljenih bakterijskih grupa, utvrđeno je da sama rezisten-cija vodi poreklo od drugih mikroor-ganizama, sa kojih je na neki način prenešena na bakterije mlečne kise-line i bifidobakterije.

Profili rezistencije kod *Lactobacillus* spp.

U odnosu na antimikrobne agen-se, inhibitore sinteze ćelijskog zida, laktobacili su obično osetljivi na peniciline (penicilin i ampicilin), i β-lakta-maza inhibitore, ali daleko rezistentniji na oksacilin i cefalosporine (Coppola i sar., 2005; Danielsen i Wind, 2003). Impermeabilnost ćelijskog zida izgle-da da predstavlja glavni mehanizam rezistencije kako vrstama ovog roda nedostaje citohromima posredovan transport elektrona (Condon, 1983). Većina vrsta laktobacila pokazuje rezi-stenciju visokog nivoa na glikopeptide (vankomicin i teikoplanin).

Laktobacili su generalno osetljivi na antibiotike koji inhibiraju sintezu proteina, kao što su hloramfenikol, eritromicin, klindamicin i tetraciklin, i daleko rezistentniji na aminoglikozide (neomicin, kanamicin, streptomycin i gentamicin) (Charteris i sar., 1998b; Coppola i sar., 2005; Zhou i sar., 2005). Ipak, i pored generalne oset-ljivosti na prethodne antibiotike, iden-tifikovani su rezistentni sojevi (Char-teris i sar., 1998b; Danielsen i Wind, 2003; Delgado i sar., 2005; Florez i sar., 2005), a geni odgovorni za us-postavljanje rezistencije na iste anti-biotike su detaljno proučeni. Gen za rezistenciju na hloramfenikol (*cat*) utvrđen je kod *Lactobacillus reuteri* (Lin i sar., 1996) i *Lactobacillus plan-tarum* (Ahn i sar., 1992); različiti geni rezistencije na eritromicin (*erm*) potvr-đeni su kod mnogih vrsta laktobacila (Cataloluk i Gogebakan, 2004; Fons i sar., 1997; Tannock i sar., 1994), kao

i brojni geni rezistencije na tetraciklin - *tet(K)*, *tet(M)*, *tet(Q)*, *tet(S)*, *tet(W)* (Chopra i Roberts, 2001; Villedieu i sar., 2003; Roberts, 2005; Torres i sar., 2005; Huys i sar., 2006). Za *tet(S)* gen kod probiotskog soja *L. plantarum* CCUG 43738 utvrđeno je da je lokalizovan na plazmidu (Huys i sar., 2006). Genetička organizacija *erm(B)* gena kod *Lactobacillus john-sonii* G41 ukazuje da je gen ubačen sa plazmidnog *erm(B)* lokusa *Enterococcus faecalis* (Florez i sar., 2006a). Laktobacili su obično rezistentni na većinu inhibitora sinteze nukleinske kise-line, uključujući nalidiksičnu kiselinu, sulfametoksazol, trimetoprim i me-tronidazol (Charteris i sar., 1998b; Coppola i sar., 2005). Većim delom rezistencija na ove antibiotike je intrin-zičnog karaktera, mada su potrebna daljna ispitivanja.

Profili rezistencije kod *Lactococcus* spp.

Od sedam različitih vrsta opisanih unutar roda *Lactococcus*, tehnološki važne vrste su *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* i *L. lactis* subsp. *cremoris* (Carr i sar., 2002). *L. lactis* je gene-ralno osetljiv na antibiotike Gram-po-zitivnog spektra (makrolidi, bacitracin, eritromicin, linkomicin, novobiocin, tei-koplanin i vankomicin), antibiotike ši-rokog spektra (rifampicin, spektino-micin i hloramfenikol), β-laktame (penicilin, ampicilin, amoksicilin, piperacilin i imipenem). Osetljivost na tetra-cikline, cefalotin i nitrofurantoin je va-rijabilnog karaktera. Većina vrsta lak-tokoka je rezistentna na metronidazol, trimetoprim, antibiotike Gram-nega-tivnog spektra (fusidiksičnu kiselinu, nalidiksičnu kiselinu i polimiksin B), kao i na aminoglikozide gentamicin i kanamicin (Florez i sar., 2005; Her-tero i sar., 1996; Temmerman i sar., 2003). Slično laktobacilima, pojedini sojevi *L. lactis* pokazuju rezistenciju na hloramfenikol, klindamicin, strepto-micin, eritromicin i tetraciklin (Florez i sar., 2005; Raha i sar., 2002; Tem-merman i sar., 2003). Utvrđeno je da *L. lactis* subsp. *lactis* K214, soj izo-lovan iz mekog sira proizvedenog iz sirovog mleka, sadrži najmanje tri raz-ličite, plazmidima kodirane determi-nante rezistencije, i to za tetraciklin *tet(S)*, hloramfenikol i streptomycin (Perreten i sar., 1997a).

Profili rezistencije kod *Streptococcus thermophilus*

S. thermophilus, generalno, poka-zuje osetljivost na hloramfenikol, te-

traciklin, eritromicin, cefalotin i cip-rofoksacin. Suprotno tome, kod *S. ther-mophilus* utvrđuje se srednja do viso-kog nivoa rezistencija na aminogliko-zide (gentamicin, kanamicin, i strepto-micin), trimetoprim i sulfadiazin (Aslim i Beyatli, 2004; Katla i sar., 2001; Temmerman i sar., 2003). Osetljivost na penicilin G, ampicilin i vankomicin, kod iste vrste je varijabilnog karak-tera.

Profili rezistencije kod *Leuconostoc* vrsta

Pored njihove rezistencije na gli-kozide, cefoksitin i metronidazol, *Leu-conostoc* vrste su uobičajeno rezi-stentne na nalidiksičnu kiselinu, gen-tamicin, kanamicin, streptomycin, nitro-furantoin, sulfadiazin i trimetoprim (Swenson i sar., 1990; Herrero i sar., 1996; Zarazaga i sar., 1999; Katla i sar., 2001; Florez i sar., 2005). Većina *Leuconostoc* spp. pokazuje osetljivost na rifampicin, hloramfenikol, eritromi-cin, klindamicin i tetraciklin (Swenson i sar., 1990; Florez i sar., 2005).

Profili rezistencije kod *Bifidobacterium* spp.

Bifidobakterije su, uobičajeno, veoma osetljive na antibiotike Gram-pozitivnog spektra (makrolide, bacitra-cin, eritromicin, linkomicin, novobiocin, teikoplanin i vankomicin), antibio-tike širokog spektra (rifampicin, spek-tinomycin i hloramfenikol), i β-laktame (penicilin, ampicilin, amoksicilin, pipe-racilin i imipenem) (Delgado i sar., 2005; Zhou i sar., 2005; Masco i sar., 2006). Zapaža se varijabilnost u od-nosu na njihovu osetljivost prema te-traciklinu, cefalotinu i cefotetanu. Su-protno ovome, većina *Bifidobacterium* spp. je rezistentna na metronidazol, antibiotike Gram-negativnog spektra (fusidiksičnu kiselinu, nalidiksičnu ki-selinu i polimiksin B) i aminoglikozide (neomicin, gentamicin, kanamicin i streptomycin) (Charteris i sar., 1998a; Delgado i sar., 2005; Moubareck i sar., 2005; Zhou i sar., 2005; Masco i sar., 2006). Vredna zapažanja jeste činjenica da su bifidobakterije rezi-stentne na mupirocin, antibiotik koji se testira u svrhu selektivne izolacije *Bifi-dobacterium* spp. (Thitaram i sar., 2005). Pojedini sojevi bifidobakterija se smatraju rezistentnim na vankomi-cin i cefoksitin (Charteris i sar., 1998a), a drugi pak sojevi pokazuju rezistenciju na eritromicin, klindamicin i tetraciklin (Delgado i sar., 2005). Kod

različitih vrsta bifidobakterija okarakterisane su determinante koje kodiraju rezistenciju na tetracikline, npr. široko rasprostranjena *tet* (W) (Chopra i Roberts, 2001; Scott i sar., 2000; Florez i sar., 2006b; Kastner i sar., 2006; Masco i sar., 2006) i *tet* (M) determinanta (Chopra i Roberts, 2001). Poređenje nukleotidne sekvence *tet* (W) gena izolovanih iz filogenetski udaljenih vrsta i sojeva pokazuje na su geni gotovo identični, što opet govori o nedavnom transferu dotične determinante iz jednog originalnog izvora (Florez i sar., 2006b).

Profili rezistencije na antibiotike kod *Enterococcus* spp.

Enterokoke pokazuju intrinzičnu rezistenciju na cefalosporine, linkozamide, mnoge β -laktame i aminoglikozide (Morrison i sar. 1997, Murray 1990, Moellering, R.C. 1990, Leclercq, R. 1997). Pored ove konstitutivne rezistencije, enterokoke imaju stečene genetske determinante, na osnovu kojih ostvaruju rezistenciju na sve dosada poznate klase antibiotika, uključujući hloramfenikol, tetracikline i glikopeptide. Najveći rizik koji proizlazi iz stečene rezistencije jeste taj što je ona velikim delom prenosive prirode. Transfer gena je posredovan feromonima, ili se ostvaruje putem konjugativnih (često multirezistentnih) plazmida ili transpozoma. Takva izmena genetskog materijala se odigrava ne samo između enterokoka, već je transfer gena moguć i na daleko virulentnije patogene, kao što je *Staphylococcus aureus* (Morrison i sar. 1997, Schwarz i sar. 2001). Ekstremno visok nivo rezistencije na antibiotike primećen kod enterokoka, kao i njihova široka zastupljenost u sirovoj hrani, predstavljaju ključne elemente na osnovu kojih se objašnjava čest nalaz antibiotski-rezistentnih enterokoka (antibiotic-resistant enterococci-ARE) u fermentisanim i nefermentisanim namirnicama. ARE su utvrđene u proizvodima od mesa, proizvodima od mleka, "ready-to-eat foods", pa čak i među sojevima enterokoka koji se predlažu kao probiotici (Teuber i sar. 1999, Corpet. 1998, Quednau i sar. 1998, Son i sar.1999, Baumgartner i sar. 2001, Giraffa i sar. 2000). Ispitivanjem evropskih sireva utvrđene su enterokoke, prvenstveno *E. faecalis* i *E. faecium*, rezistentne, u različitom nivou na penicilin, tetraciklin, hloramfenikol, eritromicin, gentamicin, linkomicin, rifampicin, fusidiksličnu kiselinu i

vankomicin, ujedno je primećena i multipla rezistencija na antibiotike (Teuber i sar.1999). Sojevi sa visokim nivoom rezistencije na kanamicin i gentamicin su nedavno izolovani iz francuskih sireva proizvedenih od sirovog mleka (Bertrand i sar. 2000).

ZAKLJUČAK

U sadašnje vreme multirezistencija, na sreću, nije uobičajena kod bakterija mlečne kiseline. Ipak u sve većem broju se izoluju sojevi koji pokazuju atipične nivoe rezistencije na pojedine antibiotike (posebno tetraciklin i eritromicin). Takvi sojevi nose gene rezistencije za koje se veruje, a u mnogim slučajevima je i potvrđeno, da su stečeni horizontalnom transmisijom. Stoga je sasvim opravdana inicijativa Evropske agencije za bezbednost hrane sa ciljem postavljanja zahteva neophodnog testiranja na prenosive determinante rezistencije onih sojeva bakterija mlečne kiseline koji se primenjuju kao starter ili probiotički sojevi. Takvi zahtevi su definisani usvajanjem sistema kvalifikovane pretpostavke bezbednosti (Qualified Presumption of Safety – QPS).

Literatura

- Ahn, C., Collins-Thompson, D., Duncan, C., Stiles, M.E., 1992. Mobilization and location of the genetic determinant of chloramphenicol resistance from *Lactobacillus plantarum* caTC2R. Plasmid 27, 169-176
- Aslim, B., Beyatli, Y., 2004. Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yogurts. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 28, 257-263
- Baumgartner, A., Kueffer, M. and Rohner, P. 2001. Occurrence and antibiotic resistance of enterococci in various ready-to-eat foods. Arch. Lebensm. hyg.52, 16-19
- Bertrand, X., Mulin, B., Viel, J.F., Thouverez, M. and Talon, D. 2000. Common PFGE patterns in antibiotic resistant *Enterococcus faecalis* from humans and cheeses. Food Microbiol. 17, 543-551
- Carr, F.J., Chill, D., Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. Crit. rev. Microbiol. 28, 281-370
- Cataloluk, O., Gogebakan, B., 2004. Presence of drug resistance in intestinal lactobacilli of dairy and human origin in Turkey. FEMS Microbiol. Lett. 236, 7-12
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 1998a. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Bifidobacterium* isolates from the human gastrointestinal tract. Lett. Appl. Microbiol. 26, 333-337
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 1998b. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. J. Food Prot. 61, 1636-1643
- Chopra, I., Roberts, M., 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial

- resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65, 232-260
- Condon, S., 1983. Aerobic metabolism of lactic acid bacteria. Ir. J. Food Sci. Technol. 7, 15-25
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., Sorrentino, E., 2005. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. Lait 85, 193-204
- Corpet, D.E. 1998. Antibiotic resistant bacteria in human food. Rev. Med. Vet. 149, 819-822
- Danielsen, M., Wind, A., 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. Int. J. Food Microbiol. 82, 1-11
- Davies, J. 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: Chadwick, D.J., Goode, J. (Eds.), Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread, Ciba Foundation Symposium, vol.207. Wiley, Chichester, pp. 15-27
- Delgado, S., Florez, A.B., Mayo, B., 2005. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastrointestinal tract. Curr. Microbiol. 50, 202-207
- Florez, A.B., Ammor, M.S., Alvarez-Martin, P., Margolles, A., Mayo, B., 2006b. Molecular analysis of *tet*(W) gene-mediated tetracycline resistance in dominant intestinal *Bifidobacterium* species from healthy humans. Appl. Environ. Microbiol. 72, 7377-7379
- Florez, A.B., Ammor, M.S., Delgado, S., Mayo, B., 2006a. Molecular analysis of a chromosome-carried *erm*(B) gene and its flanking insertion points in *Lactobacillus johnsonii* G41. Antimicrob. Agents Chemother. 50, 4189-4190
- Florez, A.B., Delgado, S., Mayo, B., 2005. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment. Can. J. Microbiol. 51, 51-58
- Fons, M., Hege, T., Ladire, M., Raibaud, P., Ducluzeau, R., Maguin, E., 1997. Isolation and characterization of a plasmid from *Lactobacillus fermentum* conferring erythromycin resistance. Plasmid 37, 199-203
- Giraffa, G., Olivari, A.M. and Neviani, E. 2000. Isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from Italian cheeses. Food Microbiol. 17, 671-677
- Herrero, M., Mayo, B., Gonzales, B., Suarez, J.E., 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. J. Appl. Bacteriol. 81, 565-570
- Huys, G., D'Haene, K., Swings, J., 2006. Genetic basis of tetracycline and minocycline resistance in potentially probiotic *Lactobacillus plantarum* strain CCUG 43738. antimicrob. Agents Chemother. 50, 1550-1551
- Kastner, S., Perreut, V., Bleuler, H., Hugen-schmidt, G., Lacroix, C., Meile, L., 2006. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. Syst. Appl. Microbiol. 29, 145-155
- Katla, A.K., Kruse, H., Johnsen, G., Herikstad, H., 2001. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. Int. J. Food Microbiol. 67, 147-152
- Klein, G., Hallmann, C., Casas, I.A., Abad, J., Louwers, J., Reuter, G., 2000. Exclusion of vanA, vanB and vanC type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. J. Appl. Microbiol. 89, 815-824
- Leclercq, R. 1997. Enterococci acquire new kind of resistance. Clin. Infect. Dis. 24 (Suppl.1), S80-S84
- Levy, S.B., Miller, R.V. 1989. Horizontal gene transfer in relation to environmental release of genetically engineered microorganisms. Gene

- Transfer in the Environment. McGraw-Hill Publishing Company, New York, pp. 405-420
28. Levy, S.B., Salyers, A.A. 2002. Reservoirs of antibiotic resistance (ROAR) Network. http://www.healthsci.tufts.edu/apua/Roar/roarh_ome.htm
 29. Lin, C.F., Fung, Z.F., Wu, C.L., Chung, T.C., 1996. Molecular characterization of a plasmid-borne (pTC82) chloramphenicol resistance determinant (*cat*-TC) from *Lactobacillus reuteri* G4. Plasmid 36, 116-124
 30. Masco, L., Van Hoorde, K., De Brandt, E., Swings, J., Huys, G., 2006. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. J. Antimicrob. Chemother. 58, 85-94
 31. Moellering, R.C. 1990. The enterococci: an enigma and a continuing therapeutic challenge. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 9, 73-74
 32. Morrison, D., Woodford, N. and Cookson, B. 1997. Enterococci as emerging pathogens of humans. J. Appl. Microbiol. Suppl. 83, 89-99
 33. Moubareck, C., Gavini, F., Vaugien, L., Butel, M.J., Doucet-Populaire, F., 2005. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. J. Antimicrob. Chemother. 55, 38-44
 34. Murray, B.E. 1990. The life and times of the *Enterococcus*. Clin. Microbiol. Rev. 3, 46-65
 35. Ollson-Liljequist, B., Larsson, P., Walder, M., Miørner, H., 1997. Antimicrobial susceptibility testing in Sweden. III. Methodology for susceptibility testing. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 105, 13-23
 36. Perreten, V., Schwarz, F., Cresta, L., Boeglin, M., Dasen, G., Teuber, M. 1997. Antibiotic resistance spread in food. Nature 389, 801-802
 37. Quednau, M., Ahne, S., Petersson, A.C. and Molin, G. 1998. Antibiotic resistant strains of *Enterococcus* isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. J. Appl. Microbiol. 84, 1163-1170
 38. Raha, A.R., Ross, E., Yusoff, K., Manap, M.Y., Ideris, A., 2002. Characterisation and molecular cloning of an erythromycin resistance plasmid of *Lactococcus lactis* isolated from chicken cecum. J. Biochem. Mol. Biol. Biophys. 6, 7-11
 39. Roberts, M.C., 2005. Update on acquired tetracycline resistance genes. FEMS Microbiol. Lett. 245, 1798-1804
 40. Schwarz, F.V., Perreten, V. and Teuber, M. 2001. Sequence of the 5-kb conjugative multiresistance plasmid pRE25 from *Enterococcus faecalis* RE25. Plasmid 46, 170-178
 41. Scott, K.P., Melville, C.M., Barbosa, T.M., Flint, H.J., 2000. Occurrence of the new tetracycline resistance gene *tet(W)* in bacteria from the human gut. Antimicrob. Agents Chemother. 44, 775-777
 42. Son, R., Nimita, F., Rusul, G., Nasreldin, E., Samuel, L. and Nishibuchi, M. 1999. Isolation and molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Malaysia. Lett. Appl. Microbiol. 29, 118-122
 43. Swenson, J.M., Facklam, R.R., Thornsberry, C., 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. Antimicrob. Agents Chemother. 34, 543-549
 44. Tannock, G.W., Luchansky, J.B., Miller, L., Connell, H., Thode-Andersen, S., Mercer, A.A., Klaenhammer, T.R., 1994. Molecular characterization of a plasmid-borne (pGT633) erythromycin resistance determinant (*ermGT*) from *Lactobacillus reuteri* 100-63. Plasmid 31, 60-71
 45. Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J., 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. Int. J. Food Microbiol. 81, 1-10
 46. Teuber, M., Meile, L., Schwarz, F. 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. Antonie Van Leeuwenhoek 76, 115-137
 47. Thitaram, S.N., Siragusa, G.R., Hinton, Jr., A., 2005. *Bifidobacterium*-selective isolation and enumeration from chicken caeca by a modified oligosaccharide antibiotic-selective agar medium. Lett. Appl. Microbiol. 41, 355-360
 48. Torres, C., Rojo-Bezares, B., Saenz, Y., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F., 2005. Antibiotic resistance phenotypes and mechanisms of resistance in lactic acid bacteria of oenological origin. Eight Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, metabolism, and applications. FEMS, Egmond aan Zee, The Netherlands
 49. Villedieu, A., Diaz-Torres, M.L., Hunt, N., McNab, R., Spratt, D.A., Wilson, M., Mullany, P., 2003. Prevalence of tetracycline resistance genes in oral bacteria. Antimicrob. Agents Chemother. 47, 878-882
 50. Witte, W., 1997. Impact of antibiotic use in animal feeding on resistance of bacterial pathogens in humans. In: Chadwick, D.J., Goode, J. (Eds.), Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread, Ciba Foundation Symposium 207. Wiley, Chichester, pp. 61-75
 51. Zarazaga, M., Saenz, Y., Portillo, A., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F., Del Campo, R., Baquero, F., Torres, C., 1999. In vitro activities of ketolide HMR3647, macrolides, and other antibiotics against *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, and *Pediococcus* isolates. antimicrob. Agents Chemother. 43, 3039-3041
 52. Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K., Gill, H.S., 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. Int. J. Food Microbiol. 98, 211-217

SUMMARY

THE PHENOMENON OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN LACTIC ACID BACTERIA

Snežana B. Bulajić, Zora M. Mijačević

University of Belgrade, Faculty of Veterinary Medicine

The antibiotic resistance is an ecological problem generated by the world-wide use of antibacterial agents. At present, there is great concern that commensal bacterial populations from food, such as lactic acid bacteria (LAB) and bifidobacteria could act as a reservoir for antibiotic resistance genes. Resistance could ultimately be transferred to human pathogenic and opportunistic bacteria either during food manufacture or during passage through the GIT. LAB species have traditionally been used as starter cultures in the production of fermented food. The genes conferring resistance to several antimicrobials (chloramphenicol, erythromycin, streptomycin, tetracycline and vancomycin) located on transferable genetic element have already been described in lactic acid bacteria. This work reports the antibiotic resistance profiles of several LAB species including lactobacilli, lactococci, enterococci, *Bifidobacterium* spp., *Leuconostoc* spp. and *Str. thermophilus*.

Key words: antibiotic resistance • lactic acid bacteria

ZORICA T. RADULOVIĆ
TANJA S. PETROVIĆ
DUŠANKA D. PAUNOVIĆ
NEMANJA L. MIRKOVIĆ
DRAGOJLO B. OBRADOVIĆ

Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 637.146.1:637.05

KARAKTERIZACIJA AUTOHTONOG SOJA *Lactobacillus paracasei* 08 NA POTENCI- JALNE PROBIOTSKE SPOSOBNOSTI

Bakterije mlečne kiseline izolovane iz tradicionalnih sireva, predstavljaju neiscrpan potencijal u biotehnologiji. Njihova primena kao starter kultura ima sve veći značaj u cilju poboljšanja senzornog kvaliteta sira, ali probiotska sposobnost nije dovoljno ispitana.

Na osnovu fenotipskih, biohemijskih i tehnoloških karakteristika, za ispitivanje potencijalnih probiotskih sposobnosti izabran je autohtoni soj *Lactobacillus paracasei* 08. Ispitivanje probiotske sposobnosti obuhvatilo je senzitivnost na simulirane gastrointestinalne uslove, antimikrobnu aktivnost u odnosu na patogene, antibiotsku rezistentnost i sposobnost autoagregacije. *Lactobacillus rhamnosus* GG upotrebljen je kao referentni soj.

Testirani soj je dobro rastao u simuliranim gastrointestinalnim uslovima, ali je njegova osetljivost bila nešto veća u prisustvu žučne kiseline i pankreatina u poređenju sa pepsinom niskog pH 2 i pH 3.

Ispitivani soj je pokazao veoma dobru antimikrobnu aktivnost u odnosu na patogene, senzitivnost na antibiotike i sposobnost autoagregacije.

Autohtoni soj *Lb. paracasei* 08 pokazao je probiotski potencijal sličan referentnom soju *Lb. rhamnosus* GG, in vitro uslovima.

Ključne reči: autohtone bakterije mlečne kiseline • probiotska sposobnost • tradicionalni sirevi

UVOD

Proizvodnja sireva na tradicionalan način je zastupljena svuda u svetu i predstavlja obeležje određene oblasti i daje epitet „autohtoni“ za proizvodnju određenog sira.

Brojna istraživanja doprinela su standardizaciji autohtonih sireva u svetu, gde je uz najvažnije autentične tehnološke parametre proizvodnje, obavezna primena autohtone mikroflore kao starter kulture (Gatti i sar., 2008, Vanoni i sar., 2008, Barros i sar., 2008).

Autohtone bakterije mlečne kiseline predstavljaju ogroman potencijal za selekciju različitih vrsta i sojeva, koji bi se mogli primeniti u standardizovanoj industrijskoj proizvodnji sireva (Radulović i sar., 2006). Raznolikost mikroflore se ogleda u zastupljenosti različitih vrsta BMK, kao i ispoljavanju različitih metaboličkih karakteristika među sojevima u okviru vrste.

Primena autohtonih startera podrazumeva selekciju sojeva BMK prema osnovnim kriterijumima za starter kulture, što podrazumeva sposobnost acidifikacije, proteolitičku sposobnost, stvaranje aromogenih jedinjenja i dr.

Kako je sve veće interesovanje za primenu probiotika u proizvodima od mleka, pokazalo se da među autohtonim sojevima svakako mogu da se nađu i oni koji se karakterišu probiotskim osobinama. Savremena istraživanja proširuju kriterijume za selekciju, pa osim tehnoloških i biohemijskih osobina koje se odražavaju na senzorni kvalitet sireva, sve više su aktuelna ispitivanja i probiotskih osobina autohtonih sojeva BMK. Primena autohtonih probiotskih BMK u stan-

dardizaciji proizvodnje tradicionalnih sireva bi imala višestruki efekat, kako u dobijanju sireva sa tipičnim senzornim karakteristikama i mikrobiološki bezbednim svojstvima, tako i u postizanju profilaktičkog i terapeutičkog efekta, odnosno očuvanju zdravlja stanovništva.

Cilj ovog rada je da ispita osnovna probiotska svojstva soja *Lactobacillus paracasei* 08, koji je izolovan iz sjeničkog sira, okarakterisan prema kriterijumima za starter kulture i primenjen u standardizaciji proizvodnje sira u tipu sjeničkog (Radulović 2007, Radulović i sar., 2008).

MATERIJAL I METODI

U radu je ispitivan soj *Lb. Paracasei* 08, koji je izolovan iz sjeničkog sira, a kao referentni soj upotrebljen je *Lb. rhamnosus* GG iz Laboratorije za biotehnologiju hrane, ETH Ciriha. Za ispitivani soj prethodno su utvrđene sledeće karakteristike: sposobnost rasta na 2, 4 i 6,5% NaCl, sposobnost rasta na 15 i 45°C, acidogena aktivnost u toku 24h fermentacije rekonstituisanog obranog mleka i proteolitička sposobnost razgradnje β-kazeina određivana nakon 6 sati SDS PAGE elektroforezom (Radulović i sar., 2007).

Određivanje probiotskih svojstava

Kao kriterijumi probiotskih svojstava korišćeni su:

- senzitivnost na simulirane gastrointestinalne (GI) uslove:
 - o gastro test

Adresa autora:
Dr Zorica Radulović, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet,
Nemanjina 6, Zemun
tel.: 011 2615-315
e-mail: zradulovic@agrifaculty.bg.ac.yu

- o test žučnih soli;
- antimikrobna aktivnost;
- rezistentnost na antibiotike;
- sposobnost autoagregacije.

Gastro test

Za imitiranje uslova u želucu primenjen je rastvor pepsina i to od 0,5% NaCl i 0,22% pepsina, čiji je pH podešen na 2 i pH 3 sa 1M HCl. Ispitivane prekončne kulture su zasejavane u slane rastvore pepsina u odnosu 1:10, inkubirane anaerobno 1h na 37°C i dalje metodom razređenja zasejane na MRS agar.

Test žučnih soli

Za imitiranje uslova u duodenumu, primenjena je podloga od obranog mleka (0,5% m.m.), žučne soli (0,4%) i pankreatina (0,2%). Ispitivane prekončne kulture su zasejavane u rastvor žučnih soli i pankreatina u odnosu 1:10, inkubirane anaerobno 1h na 37°C i dalje metodom razređenja zasejane na MRS agar.

Uporedo sa ova dva testa urađeno je i zasejavanje sveže kulture na MRS agar za utvrđivanje ukupnog broja. Svi zasejani MRS agari su inkubirani na 37°C, 48h.

Antimikrobna aktivnost

Antimikrobna aktivnost je ispitivana na patogenim sojevima iz laboratorije TMF-a i Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu: *Listeria monocytogenes* IM2000, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 5999, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 10259, *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Salmonella enteritidis* ATCC 31806.

Za određivanje antimikrobne aktivnosti primenjen je SPOT test sa bikarbonatom (Bernet i sar., 1993), koji ukazuje na inhibitornu sposobnost potencijalnih probiotika, odnosno sposobnost kompeticije sa prisutnim patogenim mikroorganizmima, pri čemu prisutan bikarbonat eliminiše dejstvo kiseline kao mogućeg agensa inhibicije.

Rezistentnost na antibiotike

Rezistentnost na antibiotike je utvrđena difuznom metodom za antibiogram test. Ploče sa MRS agarom

su prelivene sa 6 ml TOP (soft) MRS agara (0,6 % agara) koji je sadržao 0,2 ml ispitivane kulture i ostavljen da se stegne. Antibiotičke tablete su postavljene na površinu agara i to je inkubirano 24 sata na 37 °C. Nakon toga merena je širina zone inhibicije. Korišćene su sledeće antibiogram tablete, proizvođača – Institut za imunologiju – TORLAK: hloramfenikol, penicilin, tetraciklin, streptomycin, ampicilin i kanamicin.

Sposobnost autoagregacije

Autoagregacija je ispitivana modifikovanom metodom Del Re i sar., (2000). Sveža bujonska kultura je centrifugirana na 3000 o/min, 15 minuta. Odliven je supernatant a ćelije su dva puta isprane i resuspendovane u fiziološkom rastvoru do dobijanja 10^8 ć/ml. Odvojeno je 4 ml suspenzije koja je homogenizovana na vorteksu 10 s i stepen autoagregacije je određivan u toku narednih 5 sati na sobnoj temperaturi. Na svakih sat vremena je uzimano 0,1 ml suspenzije sa vrha, sipano u 3,9 ml fiziološkog rastvora, homogenizovano na vorteksu i merena absorbanca (A) na spektrofotometru na talasnoj dužini od 600 nm. Procenat autoagregacije je izračunat prema sledećoj jednačini:

$$\% \text{ autoagregacije} = 1 - (A_t/A_0) \times 100$$

A₀ – absorbanca izmerena nultog časa, t = 0

A_t – absorbanca merena pri vremenima t = 1, 2, 3, 4, 5h

REZULTATI I DISKUSIJA

Ispitivani soj *Lb. paracasei* 08 izabran je na osnovu tehnoloških karakteristika koje su ranije ispitane (Radulović, 2007) i date u tabeli 1.

Izabrani soj *Lb. paracasei* 08 karakteriše se svojstvima koje treba da ima soj u starter kulturi a to je mogućnost preživljavanja visokog % soli, velikog temperaturnog opsega, dobre acidogene sposobnosti i izražene proteolitičke aktivnosti u cilju ubrzanja zrenja i poboljšanja senzornih karakteristika sira (Đerovski i sar., 2007, Radulović, 2008).

Iako su uslovi u GI traktu veoma

restriktivni za rast bakterija mlečne kiseline, testirani soj je preživljavao ove uslove posle 60 minuta u velikom broju (grafikon 1, slika 1).

U simuliranim gastro uslovima u prisustvu pepsina pH 3, procenat preživljavanja je bio 100%, a pri pH 2 94,34%. Procenat preživljavanja u duodenalnim uslovima u prisustvu pankreatina i žučnih soli bio je nešto niži i iznosio 93,64%. Ove vrednosti su veoma visoke i slične onima koje je pokazao referentni soj *Lb. Rhamnosus* GG u ovim i ranijim istraživanjima (Perea Velez i sar., 2007, Martin i sar., 2005). Treba istaći da je broj ćelija u svim uslovima rasta bio veći od 10^8 CFU/g, što je od velikog značaja s obzirom da je visoka brojnost ćelija preduslov probiotskog dejstva (tabela 2).

Jedna od veoma važnih sposobnosti probiotskih bakterija je inhibitorno dejstvo na patogene bakterije.

Rezultati rezistentnosti na antibiotike pokazali su da ispitivani soj *Lb. paracasei* 08 ima slične karakteristike referentnom soju *Lb. rhamnosus* GG. Oba soja su rezistentni na kanamicin, a senzitivna na skoro sve ostale ispitivane antibiotike. Jedina značajna razlika je u rezistentnosti soja *Lb. paracasei* 08 na streptomycin gde je zona inhibicije iznosila 2 mm (tabela 4).

Prema rezultatima prikazanim u tabeli 3 testirani soj *Lb. paracasei* 08 pokazao je veoma dobro inhibitorno dejstvo u odnosu na sve ispitivane patogene mikroorganizme. Laktobacili su veoma često konstituenti primarne mikrobiološke barijere prema infekcijama intestinalnog i urinarnog trakta. Njihova inhibitornost se javlja kao posledica produkcije najčešće mlečne kiseline, bakteriocina ili H₂O₂. U okviru laktobacila okarakterisan je veliki broj probiotskih sojeva, tako da ova grupa bakterija ima veliku primenu u prevenciji bolesti izazvanih infekcijama (Bengmark, 1998).

Prema podacima De Keersmaecker i sar. (2006), inhibitorni potencijal referentnog soja *Lb. rhamnosus* GG je posledica produkcije mlečne kiseline.

Tabela 1. TEHNOLOŠKE KARAKTERISTIKE SOJA *Lb. paracasei* 08
Table 1. TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Lb. paracasei* 08 STRAIN

% NaCl			Temperatura °C		Acidogena sposobnost (promene pH u toku 24h)					Proteolitička aktivnost
2	4	6	15	45	2h	4h	6h	8h	24h	% rezidua β-kazeina
+	+	+	+	+	6,39	6,30	6,12	5,86	4,60	43,27

Tabela 2. SPOSOBNOST PREŽIVLJAVANJA GASTROINTESTINALNIH USLOVA
Table 2. SURVIVAL ABILITY IN GASTROINTESTINAL CONDITIONS

Soj	Početni broj (CFU/ml)	Pepsin pH 3		Pepsin pH 2		Pankreatin + žučne soli	
		Broj preživelih (CFU/ml)	Procenat preživelih (%)	Broj preživelih (CFU/ml)	Procenat preživelih (%)	Broj preživelih (CFU/ml)	Procenat preživelih (%)
<i>Lb. paracasei</i> 08	1.9x10 ⁹	1.9x10 ⁹	100	5.7x10 ⁸	94.34	4.85x10 ⁸	93.64
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	1.5x10 ⁹	1.5x10 ⁹	100	1.4x10 ⁹	99.56	6.9x10 ⁸	96.30

Tabela 3. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST
Table 3. ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Soj	Prečnik zone inhibicije* (mm)						
	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonellae enteritidis</i>
<i>Lb. paracasei</i> 08	21	15	17	24	17	25	26
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	23	NR	NR	25	12	26	27

Tabela 4. REZISTENTNOST NA ANTIBIOTIKE
Table 4. RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

Antibiotik	<i>Lb. paracasei</i> 08		<i>Lb. rhamnosus</i> GG	
	Zona inhibicije (mm)	senzitivnost	Zona inhibicije (mm)	senzitivnost
hloramfenikol	7	+	10	++
penicilin	7	+	6	+
tetraciklin	6	+	6	+
streptomycin	2	R	7	+
ampicilin	5	+	6	+
kanamicin	0	R	0	R

++: vrlo senzitivna sa zonom inhibicije >10mm; senzitivna: sa zonom inhibicije 5–10mm;
R: rezistentna sa zonom inhibicije < 5mm

Tabela 5. SPOSOBNOST AUTOAGREGACIJE
Table 5. AUTOAGGREGATION ABILITY

Soj	% autoagregacije u ispitivanim vremenskim tačkama (h)				
	1	2	3	4	5
<i>Lb. paracasei</i> 08	95.88	97.20	94.91	94.04	96.90
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	76.42	NR	75.77	NR	70.60

Utvrđivanje rezistentnosti na antibiotike je veoma važan faktor za utvrđivanje probiotskih svojstava laktobacila. S jedne strane antibiotik-rezistentni probiotik sojevi mogu poboljšati stanje pacijenata čiji je balans normalne intestinalne mikroflora narušen primenom antibiotika (Salminen i sar., 1998), a sa druge strane ovakvi probiotik-sojevi mogu doprineti transmisiji antibiotik-rezistentnih gena na patogene bakterije prisutne u GI traktu (Morelli i Wright, 1997, Saarelo i sar., 2000). Determinacija lokacije gena odgovornih za rezistentnost na antibiotike (plazmidna ili hromozomalna) doprinela bi bezbednoj primeni

antibiotik-rezistentnih sojeva kao probiotika.

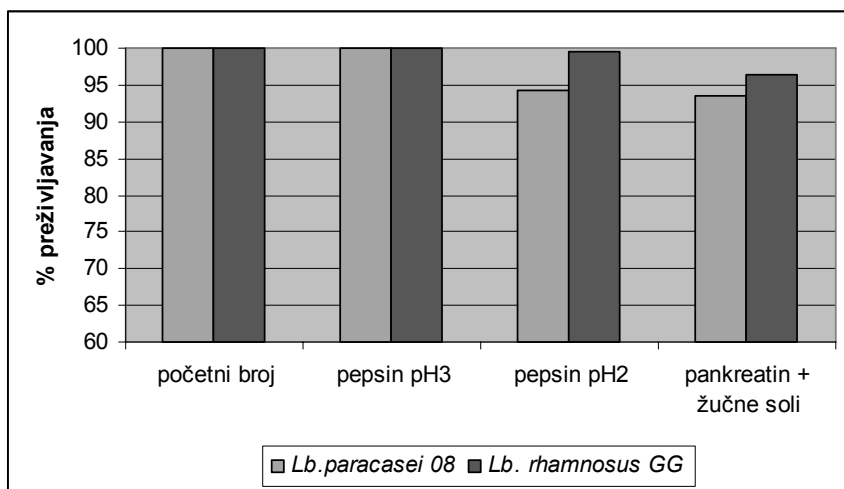
Kao još jedan kriterijum probiotske sposobnosti je i sposobnost autoagregacije. Testirani soj *Lb. paracasei* 08 je pokazao veoma visoku sposobnost autoagregacije u toku 5 sati ispitivanja (94,04-97,20%), što je znatno više od rezultata koji su dobijeni za referentni soj *Lb. rhamnosus* GG (70,60-76,42%) što je prikazano u tabeli 5 i rafikonu 2.

Da bi određena bakterija imala probiotsko dejstvo, neophodna je njena sposobnost kolonizacije i održavanja na zidovima intestinalnog trakta, što podrazumeva sposobnost adhezi-

je. Prema podacima Vandevorode i sar. (1992) i Boris i sar. (1997), autoagregaciona sposobnost je u relaciji sa adhezionom sposobnošću ćelija. Kompozicija, struktura i jačina interakcija odgovornih za bakterijsku adheziju bila su predmet istraživanja duži niz godina (Del Re i sar., 2000, Greene i Kleanhammer 1994, Pelletier i sar., 1997).

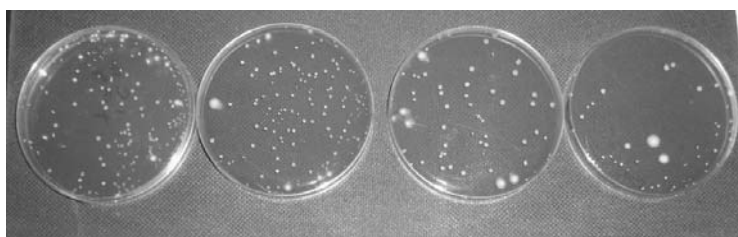
ZAKLJUČAK

Ispitivani autohtoni soj *Lb. Paracasei* 08 u ranijim istraživanjima je zadovoljio sve kriterijume kao dopunska starter kultura u cilju poboljšanja senzornih svojstava sireva. U ovim istraživanjima je pokazao i potencijalnu probiotsku sposobnost, koja je potpuno kompatibilna sa referentnim sojem *Lb. rhamnosus* GG in vitro uslovima. Pokazao je veoma dobru sposobnost preživljavanja u simuliranim GI uslovima, pri čemu je preživljavanje u prisustvu pepsina pH 3 iznosilo 100%, pri pH 2 94,34%, a u prisustvu



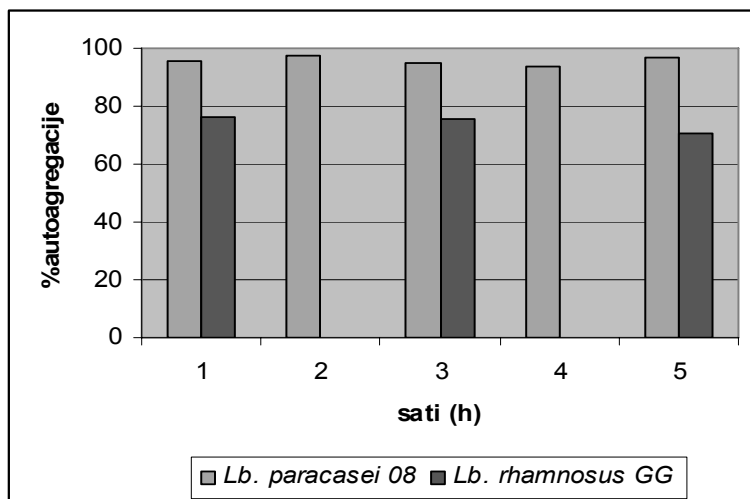
Grafikon 1. SPOSOBNOST PREŽIVLJAVANJA U GASTROINTESTINALNIM USLOVIMA

Figure 1. SURVIVAL ABILITY IN GASTROINTESTINAL CONDITIONS



Slika 1. PREŽIVLJAVANJE GASTROINTESTINALNIH USLOVA

Picture 1. SURVIVAL IN GASTROINTESTINAL CONDITIONS



Grafikon 2. AUTOAGREGACIJA U TOKU 5 SATI

Figure 2. AUTOAGGREGATION DURING 5 HOURS

pankreatina i žučnih soli 93,64%. Veoma dobro je inhibirao rast patogenih mikroorganizama, pokazao senzitivnost na većinu antibiotika, a njegova sposobnost autoagregacije je bila znatno veća (94,04-97,20%) nego kod

referentnog soja *Lb. Rhamnosus* GG. Dalja ispitivanja bi svakako dala definitivnu sliku o eventualnim probiotičkim karakteristikama ovog soja, koja bi otvorila novi aspekt u selekciji auto-

htonih sojeva za starter kulture u proizvodnji sireva.

LITERATURA

- Barros, J. J.C., Azevedo, A. C., Rossi, D. A., Moura, C. J., Penna, A. L. B. (2008): Biochemical and sensorial changes in Parmesan cheese manufactured with autochthonous starters of *Lactobacillus helveticus*. 5th IDF Symposium on cheese ripening. Abstract book, 146.
- Bengmark S. (1998): Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora, Gut 42, 2-7.
- Bernet, M.F., Brassart, D., Neeser, A., Servin, L. (1993): Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. Applied and Environmental Microbiology, 59, 4121-4128.
- Boris, S., Suarez, J.E. and Barbes, C. (1997): Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, a vaginal isolate. J. Appl. Microbiol. 83, 413-420.
- De Keersmaecker C.J.S. Verhoeven L.A.T., Marchal K.J.D., Vanderleyden J. & Nagy I. (2006): Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid, FEMS Microbiol Lett. 259, 89-96.
- Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M. and Palenzona, D. (2000): Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. Letters in Applied Microbiology, 31, 438-442.
- Đerovski, J., Radulović, Z., Radin, D., Obradović, D., Puđa, P. (2007): The influence of the autochthonous LAB on the ripening of white brined cheeses. 5th International Congress of Food Technology, Thessaloniki. Proceedings Vol. 3, 327-335.
- Gatti, M., De Dea Lindner, J., Turroni, F., Cavatorta, V., Sforza, S., Dossena, A., Marchelli, R., Nocetti, M., Pecorari, A., Neviani, E. (2008): Microbiological and proteolytic aspects of Parmigiano Reggiano cheese ripening. 5th IDF Symposium on cheese ripening. Abstract book, 53.
- Greene J.D., Kleanhammer T.R. (1994): Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells. Appl. Environ. Microbiol. 50, 4487-4494.
- Martín R., Olivares M., Marín L.M., Fernández L., Xaus J. and Rodríguez M.J. (2005): Probiotic Potential of 3 Lactobacilli Strains Isolated From Breast Milk J Hum Lact. 21, 8-17.
- Morelli, L., Wright, A.V. (1997): Probiotic bacteria and transferable antibiotic resistance-safety aspects. Demonstration of the Nutritional Functionality of Probiotic Foods News Letter 2, 9 - 14.
- Pelletier, C., Bouley, C., Cayuela, C., Bouttier, S., Bourlioux, P., and Bellon-Fontaine, M.N. (1997): Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains. Appl. and Environ. Microbiol. 63, 1725-1731.
- Perea Velez M., Hermans, K., Verhoeven, T.L.A., Lebeer, S.E., Vanderleyden, J. and De Keersmaecker, S.C.J. (2007): Identification and characterization of starter lactic acid bacteria and probiotics from Columbian dairy products, Journal of Applied Microbio. 103, 666-674.
- Radulović Z. (2007): Izolacija i selekcija autohtonih bakterija mlečne kiseline i njihova primena u standardizaciji sireva u tipu sjeničkog. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu.

15. Radulović Z., Đerovski, J., Radin D., Obradović, D., Puda, P. (2008): The role of autochthonous LAB in the white brined cheeses ripening. 5th IDF Symposium on cheese ripening. Abstract book, 114-115.
16. Radulović, Z., Radin, D., Obradović, D. (2006): Autohtona mikroflora sjeničkog sira. Prehrambena industrija, Vol. 17, No. 1-2, 48-51
17. Radulović, Z., Radin, D., Obradović, D. (2007): Identification of autochthonous lactic acid bacteria from Serbian artisanal cheeses. 3. Slovenian Congress on Food and Nutrition, Radenci, Abstract book, pp.
18. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mattila, J., Mattila-Sandholm, T. (2000): Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology 84, 197-215.
19. Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., Vos de, W.M., Fonde'n, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S.E., Sandholm, T.M., (1998): Demonstration of safety of probiotics—a review. International Journal of Food Microbiology 44, 93-106.
20. Vandevoorde, L., Christiaens, H. and Verstraete, W. (1992): Prevalence of coaggregation reactions among chicken lactobacilli. Journal of Applied Bacteriol. 72, 214-219.
21. Vanoni, L., Brasca, M., Lodi, R., Morandi, S. (2008): Technological properties of lactic acid bacteria isolated from Silter. 5th IDF Symposium on cheese ripening. Abstract book, 156.

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF AUTOCHTHONOUS *Lactobacillus paracasei* 08 STRAIN ON POTENTIAL PROBIOTIC ABILITY

Zorica T. Radulović, Tanja S. Petrović, Dušanka D. Paunović, Nemanja L. Mirković, Dragojlo B. Obradović

University of Belgrade, Faculty of Agriculture

Lactic acid bacteria strains isolated from traditionally made cheeses constitute a reservoir of unexplored potential in biotechnology. Their application as starter cultures is very important in improving sensory properties of cheese, but their probiotic ability hasn't been sufficiently researched.

According to phenotypic, biochemical and technological characterization, autochthonous strain *Lactobacillus paracasei* 08 was selected for examination on potential probiotic ability.

The investigation of probiotic ability comprised of sensitivity to simulated gastrointestinal tract conditions, antimicrobial activity against wide range of pathogens, antibiotic resistance as well as autoaggregation ability. *Lb. rhamnosus* GG was used as referent strain.

Tested strain grew well in simulated gastrointestinal conditions, but its sensitivity was to a certain greater on bile acids and pancreatin compared to pepsin's low pH 2 and pH 3. The examined strain showed very good antimicrobial activity to pathogens, sensitivity to antibiotics and autoaggregation ability.

For autochthonous strain *Lb. paracasei* 08 probiotic potential was similar with referent strain *Lb. rhamnosus* GG, determined in vitro.

Key words: autochthonous lactic acid bacteria • probiotic ability • traditional cheeses

¹MILICA M. VILUŠIĆ
²SPAŠENIJA D. MILANOVIĆ
³MARIJA V. JUKIĆ-GRBAVAC

¹Tehnološki fakultet, Univerzitet u
 Tuzli, ²Tehnološki fakultet,
 Univerzitet u Novom Sadu,
³Agencija za sigurnost hrane
 Bosne i Hercegovine

NAUČNI RAD

UDK: 637.356.2:637.043

SASTAV MASNIH KISELINA I SADRŽAJ KOLESTEROLA U SVJEŽEM SIRU TIP QUARG

U svježem siru tipa Quark određeni su sastav masnih kiselina i sadržaj kolesterola pomoću plinske kromatografije.

Sastav masnih kiselina pokazao je da su najzastupljnije palmitinska i stearinska kiselina, a od mononezasićenih masnih kiselina je oleinska.

Sadržaj kolesterola u rasponu 5,30 do 70,12 mg/100g masti je u direktnoj korelaciji sa sadržajem mliječne masti u svježem siru.

Odnos zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina u svježem siru tipa Quark je obrnuto proporcionalan potrebama balansirane prehrane i utjecaju na ljudsko zdravlje.

Ključne riječi: svježi sir tipa Quark • masne kiseline • kolesterol

UVOD

Posljednjih godina sve veća popularnost pridaje se onim mliječnim proizvodima koji imaju povoljno djelovanje na ljudski organizam (Soyeurt i sur. 2006). Mliječna mast je druga važna komponenta sa sadržajem od 0 do 15 g masti/100 g svježeg sira, i njen značaj se sagledava sa više aspekata (Sieber, 2005). Zbog toga su u literaturi dosta obrađivani i sastav i zastupljenost masnih kiselina (Andrikolopoulos i sur., 2003; Dashti i sur., 2003; Delaš i sur., 2005; Kinik i sur., 2005; Slaćanac i sur., 2005), kao i sadržaj kolesterola (Fletouris i sur., 1998; Andrikolopoulos i sur., 2003; Dashti i sur., 2003; Kinik i sur., 2005; Seckin i sur., 2005)

U mliječnoj masti je identificirano preko 400 različitih masnih kiselina (Collins i sur., 2003), a samo 13 masnih kiselina je prisutno u koncentraciji većoj od 1%. Odnos pojedinih masnih kiselina u mliječnoj masti ovisi o stadiju laktacije i prehrani, a računa se da je količina zasićenih masnih kiselina oko 70% od ukupne količine, mononezasićenih ima oko 27%, a polinezasićenih samo oko 3% (Tratnik, 1998).

Uzimajući u obzir sadržaj esencijalnih masnih kiselina koje ulaze u sastav masne globule, kao i njihovu višestruku ulogu u organizmu, nesumnjivo je da lipidi predstavljaju važnu komponentu hrane.

Prilikom razvoja organizma najvažnije je osigurati esencijalne masne kiseline tkivima koja intenzivno rastu i za čiji su razvoj one neophodne. Kod odraslih osoba sindrom nedostatka esencijalnih masnih kiselina najčešće je posljedica bezmasne prehrane, karakterizirana promjenama na koži i kosi, neurodermatitisom, poremećajima metabolizma masti i lipoproteina te razvojem masne jetre (Delaš i sur., 2005).

Osim esencijalnih masnih kiselina, lipidi mliječnih proizvoda sadrže i kolesterol, kao i zasićene masne kiseline dugog lanca (laurinska, miristinska i palmitinska) koje djeluju aterogeno, povećavaju nivo kolesterola u krvi. Poznato je i da pri visokim temperaturnim režimima polinezasićene masne kiseline se transformiraju u zasićene oblike. Istovremeno treba konstatirati da mliječni proizvodi sadrže i mono- i polinezasićene masne kiseline cis-oblika, koje imaju povoljan utjecaj na proces ateroskleroze. Da bi se smanjio rizik povećanja sadržaja LDL

kolesterola u krvi, danas nutricionisti savetuju smanjen unos namirnica sa visokim sadržajem kolesterola i zasićenih masnih kiselina dugog lanca (Milanović i sur., 2001).

S obzirom na ulogu masti odnosno masnih kiselina u ljudskoj prehrani, neophodne su nove spoznaje o njihovoj strukturi i djelovanju na ljudski organizam.

Svrha ovog rada je bila istražiti sastav masnih kiselina i sadržaj kolesterola u svježem siru tipa Quark zbog njihove značajne uloge za prehranu i zdravlje ljudi.

MATERIJAL I METODI

Materijal

Za proizvodnju svježeg sira tipa Quark korišteno je mlijeko sa 0,1, 1,5 i 3,2% mliječne masti, uz korištenje Frozen Dried-Direct Vat Set (FD-DVS) mikrobnih kultura - CHN-22 (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteorides* ssp. *Cremoris*), R-704 (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris*) i ABT-2 (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* BB-12, *Lactobacillus acidophilus* LA-5).

Tehnološki proces proizvodnje svježeg sira već je opisan u radu (Vilušić i sur., 2006; Vilušić i sur. 2007), a procesni parametri i oznake uzoraka dati su u tablici 1.

Metodi

Metil esteri masnih kiselina ispitivanih uzoraka pripremljeni su direktnom esterifikacijom sa zasićenom oto

Adresa autora:
 Dr. sc. Milica Vilušić,
 Univerziteta u Tuzli, Tehnološki fakultet
 Univerzitetska 8, 75000 Tuzla, Bosna i
 Hercegovina
 tel.: + 387 35 320 784, mob.: + 387 61 305 551
 e-mail: milica.vilusic@untz.ba

Tablica 1. PROCESNI PARAMETRI I OZNAKE UZORAKA SVJEŽEG SIRA TIPRA QUARK

Table 1. PROCESS PARAMETERS AND CHARACTERISTICS OF FRESH CHEESE SAMPLES QUARG TYPE

Uzorak / Sample	Mliječna mast u mlijeku / Milk fat in milk (%)	Mikrobiološka kultura / Microbiological culture
A1 A2 A3	0,1	CHN-22 R-704 ABT-2:CHN-22=1:3
B1 B2 B3	1,5	CHN-22 R-704 ABT-2:CHN-22=1:3
C1 C2 C3	3,2	CHN-22 R-704 ABT-2:CHN-22=1:3

pinom metanola sa KOH, a identifikacija i semikvantitativno određivanje metilestera masnih kiselina provedeni na plinskom kromatografu model 6890 (sa masenim detektorom model 6890) proizvođača Agilent (USA). Korištena je DB-5MS kolona dimenzija: dužina

na osnovu vremena retencije, usporedbom sa poznatim standardima.

Sastav masnih kiselina (%) svježeg sira tipa Quark izražen je sadržajem pojedinačnih viših masnih (C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C20:0, C20:1 i C22:0), kao i zastup-

standarda kolesterola korišten je referentni standard (Sigma Chemical Co., St. Luise, USA). Za analizu korištena je DB-5MS kolona dužine 30 m, širina 0,32 mm, punjenje 1,0 µm. Temperatura analize se kretala od 285-300°C. Volumen injektovanog uzorka iznosio je 1µl.

Koncentracija kolesterola izračunata prema jednadžbi datoj u radu Fletouris i sur. (1998).

REZULTATI I DISKUSIJA

Sir, kao koncentrirani mliječni proizvod, ima ogromnu popularnost zbog njegovog okusa, funkcionalnosti, mnogovrsnosti i nutritivnih svojstava.

Za proizvodnju jednog takvog sira korišteno je mlijeko utvrđenih fizikalno-kemijskih karakteristika (Vilušić i sur., 2007), a sastav i kvaliteta proizvedenog sira dati su u tablici 2.

Povećanjem sadržaja proteina povećavao se i udio suhe tvari bez masti u mlijeku, iako je izvršena standardizacija i obiranje mlijeka.

Prema Slačanac i sur. (2005) različite su tendencije nastanka masnih kiselina tijekom fermentacije mlijeka, što se kasnije može odraziti i na njihov sastav tijekom čuvanja proizvoda. Iz podataka u tablici 3 očigledna su variranja sadržaja pojedinih masnih kiselina u svježem siru tipa Quark bez značajnijeg utjecaja sadržaja mliječne masti u siru, odnosno vrste korištene mikrobne starter kulture.

Mliječna mast mlijeka i mliječnih proizvoda je karakterizirana većim udjelom kratko- i dugolančanih masnih kiselina, a nešto manje su zastupljene srednjelančane masne kiseline.

U sastavu masnih kiselina svježeg sira tipa Quark dominantna je bila palmitinska kiselina (C16:0) sa 40,01%

Tablica 2. SASTAV I KVALITETA SVJEŽEG SIRA TIPRA QUARK

Table 2. COMPOSITION AND QUALITY OF FRESH CHEESE QUARG TYPE

Komponenta / Component (%)	Uzorak svježeg sira / Sample of fresh cheese		
	A	B	C
Mliječna mast / Milk Fat	0,30	5,50	12,5
Proteini / Proteins	13,50	12,90	10,13
Laktoza / Lactose	2,60	1,66	1,83
Pepeo / Ash	0,99	1,08	1,08
Suha tvar / Dry matter	17,39	20,74	25,54
Mliječna mast / Suha tvar / Milk fat / Dry matter	1,73	26,52	48,94

60 m, širina 0,25 mm, punjenje 0,1 µm. Temperatura analize se kretala od 140-280°C, a vrijeme analize trajalo 45 minuta. Volumen injektovanog uzorka iznosio je 1µl. Identifikacija pojedinih masnih kiselina provedena je

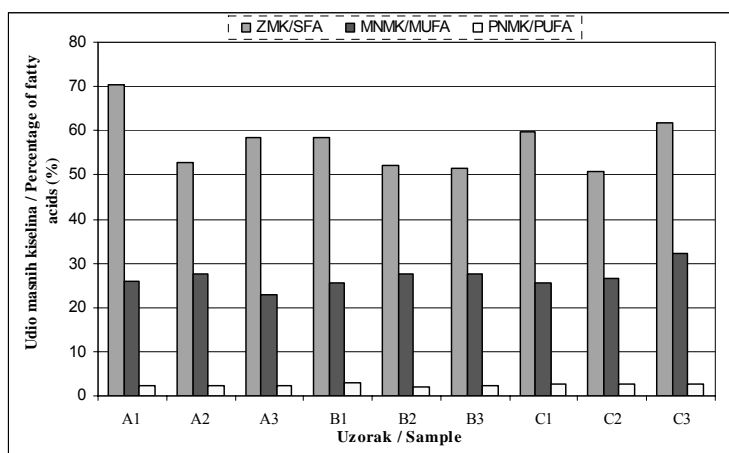
lijenošću zasićenih (ZMK), mononezasićenih (MNMK) i polinezasićenih (PNMK) masnih kiselina.

Određivanje kolesterola izvršeno je prema proceduri opisanoj u radu Fletouris i sur. (1998), a za pripremu

Tablica 3. SASTAV MASNIH KISELINA I SADRŽAJ KOLESTEROLA U SVJEŽEM SIRU TIPRA QUARK

Table 3. FATTY ACID COMPOSITION AND CHOLESTEROL CONTENT OF FRESH CHEESE QUARG TYPE

Uzorak / Sample	Masne kiseline / Fatty acids (%)									Kolesterol / Cholesterol (mg/100 g)
	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C20:1	C22:0	
A1	16,49	40,01	1,58	13,62	24,4	2,31	0,21	-	0,10	5,30
A2	9,06	28,66	1,24	14,75	26,44	2,28	0,28	-	0,11	8,19
A3	11,11	35,74	1,64	11,31	21,21	2,42	0,17	-	0,05	6,80
B1	9,56	35,95	1,27	12,54	24,31	3,11	0,26	-	0,13	18,05
B2	9,02	28,37	1,25	14,43	26,38	2,02	0,29	-	0,11	22,40
B3	8,91	27,63	1,41	13,96	26,25	2,26	0,83	-	0,15	24,10
C1	10,32	35,28	1,35	13,63	24,07	2,51	0,26	-	0,11	51,88
C2	8,78	28,86	1,58	12,79	24,93	2,82	0,31	-	0,14	66,02
C3	8,74	37,08	1,28	15,55	31,06	2,56	0,24	-	0,11	70,12



Slika 1. UDIO ZASIĆENIH (ZMK), MONONEZASIĆENIH (MNMK) I POLINEZASIĆENIH MASNIH KISELINA (PNMK) U SVJEŽEM SIRU TIPA QUARK

Figure 1. RATIO OF SATURATED (SFA), MONOUNSATURATED (MUFA) AND POLYUNSATURATED FATTY ACIDS (PUFA) IN FRESH CHEESE TYPE QUARK

(A1), što je 56,57% od ukupnih zasićenih masnih kiselina ovog uzorka, dok je prema Tratnik (1998) udio palmitinske oko 70% zasićenih masnih kiselina. Palmitinska kiselina može da doprinese porastu koncentracije kolesterola u krvnoj plazmi ljudi (Delaš i sur., 2005), što je karakteristično i za miristinjsku kiselinu (C14:0) sa 16,49% u uzorku A1.

Potom slijedi stearinska kiselina (C18:0) sa graničnim vrijednostima od 11,31% (A3) do 15,55% (C3). Zapažen je i proporcionalni odnos sadržaja stearinske kiseline uzoraka A3, B3 i C3 sa povećanjem udjela mliječne masti, a obrnuto proporcionalan kod uzoraka A2, B2 i C2.

Oleinska kiselina sa sadržajem od 21,21% (A3) do 31,06% (C3) je najzastupljenija masna kiselina u skupini mononezasićenih masnih kiselina, što se podudara sa literaturnim podacima (Dashti i sur., 2003; Kinik i sur., 2005; Seckin i sur., 2005). Kod uzoraka sira sa mikrobnom starter kulturom ABT2:CHN-22=1:3 zapažen je utjecaj povećanja udjela mliječne masti na povećanje sadržaja oleinske kiseline.

Glavna polinezasićena masna kiselina u svježem siru je linolna (C18:2) sa udjelom od 2,02% (B2) do 3,11% (B1) i kao esencijalna masna kiselina ne može se sintetizirati u ljudskom organizmu. Međutim, samo manji dio ovih kiselina potječe iz neposredne resorpcije hrane, dok veći dio potječe iz zaliha organizma, čime se djelomično kompenziraju oscilacije u unosu hranom. Sir je značajan izvor

linolne kiseline i njenih izomera koji imaju potencijalnu ulogu u reduciranju rizika karcinoma i srčanih oboljenja, povećavaju imunološku funkciju i regulaciju tjelesne težine odnosno raspodjelu masnih naslaga.

Ostale identificirane dugolančane zasićene masne kiseline, arahidinska (C20:0) i behenik (C22:0) kiseline u uzorcima svježeg sira tipa Quark bile su prosječno zastupljene sa 0,32% odnosno 0,10%.

Sadržaj kolesterola u uzorcima svježeg sira tipa Quark (tablica 3) proporcionalno se povećava sa povećanjem udjela mliječne masti u siru, što odgovara i literaturnim podacima (Fle-touris i sur., 1998; Sieber i sur., 1999; Andrikopoulos i sur., 2003; Kinik i sur., 2005), ali ima i tvrdnji da u mliječnim proizvodima sa niskim sadržajem mliječne masti dolazi do povećanja kolesterola (Molkentin, 2005). S obzirom da je kolesterol sastavni dio stanične membrane važan je i za izgradnju steroidnih hormona, žučnih kiselina i vitamina D. U krvi se nalazi 5% kolesterola, od čega se 70% esterificira sa masnim kiselinama.

Na slici 1 prikazana je zastupljenost zasićenih (ZMK), mononezasićenih (MNMK) i polinezasićenih masnih kiselina (PNMK) u svježem siru tipa Quark.

Različiti udio mliječne masti u siru odnosno mliječne masti u suhoj tvari sira nije značajnije utjecao na sastav masnih kiselina u ispitivanim uzorcima, jer je sadržaj ZMK varirao od 50,88% (C2) do 70,43% (A1), MNMK

od 22,85% (A3) do 32,34% (C3) i PNMK od 2,02% (B2) do 3,11% (B3). Komparirajući rezultate prema vrsti korištene mikrobnog starter kulture, također je zapaženo variranje udjela ZMK, MNMK i PNMK. Upotrebom starter kulture CHN-22 i povećanjem udjela mliječne masti vidljivo je smanjenje udjela MNMK za 2,16%, dok sa kulturom R-704 zastupljenost ZMK za 3,75% i MNMK za 4,23% se smanjuje povećanjem udjela mliječne masti u uzorcima svježeg sira. Izuzetak su uzorci sira sa ABT2:CHN-22=1:3, gdje zastupljenost MNMK raste za 29,34% sa povećanjem udjela mliječne masti u siru. Sadržaj MNMK u uzorcima svježeg sira tipa Quark ima zaštitni utjecaj na kardiovaskularne bolesti, dok je odnos ZMK:MNMK:PNMK obrnuto proporcionalan potrebama balansirane prehrane i utjecaju na ljudsko zdravlje.

ZAKLJUČAK

Rezultati ispitivanja pokazuju variranje sadržaja pojedinih masnih kiselina u svježem siru tipa Quark bez značajnijeg utjecaja sadržaja mliječne masti u siru, odnosno vrste korištene mikrobnog starter kulture.

U sastavu masnih kiselina svježeg sira tipa Quark dominantna je bila palmitinska kiselina (C16:0) sa 40,01% (A1), što je 56,57% od ukupnih zasićenih masnih kiselina ovog uzorka.

Oleinska kiselina sa sadržajem od 21,21% (A3) do 31,06% (C3) najzastupljenija je masna kiselina u skupini mononezasićenih masnih kiselina.

Kod uzoraka sira sa mikrobnom starter kulturom ABT2:CHN-22=1:3 zapažen je utjecaj povećanja udjela mliječne masti na povećanje sadržaja oleinske kiseline.

Glavna polinezasićena masna kiselina u svježem siru je linolna (C18:2) sa udjelom od 2,02% (B2) do 3,11% (B1) i kao esencijalna masna kiselina ne može se sintetizirati u ljudskom organizmu.

Ostale identificirane dugolančane zasićene masne kiseline, arahidinska (C20:0) i behenik (C22:0) kiseline u uzorcima svježeg sira tipa Quark bile su prosječno zastupljene sa 0,32% odnosno 0,10%.

Sadržaj kolesterola u svježem siru tipa Quark proporcionalno se povećava sa povećanjem udjela mliječne masti u siru.

Sadržaj MNMK u uzorcima svježeg sira tipa Quark ima zaštitni utjecaj

na kardiovaskularne bolesti, dok je odnos ZMK:MNMK:PNMK obrnuto proporcionalan potrebama balansirane prehrane i utjecaju na ljudsko zdravlje.

LITERATURA

- Andrikolopoulos, N. K., Kalogeropoulos, N., Zerva, A., Zerva, U., Hassapidou, M., Kapoulas, V. M.: Evaluation of cholesterol and other nutrient parameters of Greek cheese varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16 (2003) 155-167.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G.: Lipolysis and fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13 (2003) 841-866.
- Dashti, B., Al-Awadi, F., Sawaya, W., Al-Otaibi, J., Al-Sayegh, A.: Fatty acid profile and cholesterol content of 32 selected dishes in the state of Kuwait. *Food Chemistry*, 80 (2003) 377-386.
- Delaš, I., Kačunko, T., Beganović, J., Delaš, F.: Sastav masnih kiselina majčinog mlijeka i priprava dječje hrane. *Mljekarstvo*, 55 (2005) 101-112.
- Fletouris, D. J., Botsoglou, N. A., Psomas, I. E., Mantis, A. I.: Rapid Determination of Cholesterol in Milk and Milk Products by Direct Saponification and Capillary Gas Chromatography. *Journal Dairy Science*, 81 (1998) 2833-2840.
- Kinik, O., Gursoy, O., Seckin, A. K.: Cholesterol Content and fatty acid composition of Most Consumed Turkish hard and Soft Cheeses. *Czech. J. Food Sci.*, 23 (2005) 166-172.
- Milanović, S., Carić, M., Panić, M., Vukanić, A.: Dijetalni kvark sa funkcionalnim aromama. *Prehrambena industrija – Mleko i mlečni proizvodi*, 12 (2001) 48-54.
- Molketin, J.: Cholesterol content and lipid composition of low fat dairy products. *European Food Research and Technology*, 223 (2006) 253-260.
- Seckin, A. K., Gursoy, O., Kinik, O., Akbulut, N.: Conjugated linoleic acid (CLA) concentration, fatty acid composition and cholesterol content of some dairy products. *LWT-Food Science and Technology*, 38 (2005) 909-915.
- Sieber, R., Badertscher, R., Bütikofer, U., Nick, B.: Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung von schweizerischem Quark und Hüttenkäse. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 90 (1999) 662-669.
- Sieber, R.: Käse-ein wertvolles Lebensmittel in der menschlichen Ernährung. *Mitteilung Lebensmittel Hygiene* 96 (2005) 141-170.
- Slačanac, V., Hardi, J., Pavlović, H., Vlainić, M., Lučan, M.: Promjena udjela masnih kiselina tijekom fermentacije kozjeg i kravljeg mlijeka ABT-2 kulturom. *Mljekarstvo*, 55 (2005) 113-124.
- Soyeurt, H., Dardenne, P., Dehareng, F., Lognay, G., Veselko, D., Marlier, M., Ber-tozzi, C., Mayeres, P., Gengler, N.: Estimating fatty acid content in cow milk using mid-infrared spectrometry. *Journal Dairy Science*, 89 (2006) 3690-3695.
- Tratnik, L.J.: Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, p. 23 (1998).
- Vilušić, M., Milanović, S., Jukić-Grbavac, M., Bašić, M.: Utjecaj procesnih parametara na senzorska svojstva i prihvatljivost svježeg sira tipa Quarg. *Prehrambena industrija – Mleko i mlečni proizvodi*, 18 (2007) 37-42.
- Vilušić, M., Milanović, S., Jukić-Grbavac, M., Bašić, M.: Zastupljenost masnih kiselina u mlijeku i njihov odnos u svježem siru tipa Quark, 37. Hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka, Lovran, 26.-29. studenoga 2006, Zbornik sažetaka, p. 25.

SUMMARY

FATTY ACID COMPOSITION AND CHOLESTEROL CONTENT OF FRESH CHEESE - QUARG

¹Milica M. Vilušić, ²Spasenija D. Milanović, ³Marija V. Jukić-Grbavac

¹University of Tuzla, Faculty of Technology, ²University of Novi Sad, Faculty of Technology, ³Food Safety Agency of Bosnia and Herzegovina

In this work the fatty acid composition and cholesterol content of fresh cheese Quarg were determined by applying gas chromatography.

The fatty acid composition showed that palmitic and stearic acid as saturated fatty acids were predominant, whereas oleic was the major monounsaturated fatty acid.

Cholesterol content was in direct correlation with fat content in fresh cheese, ranging from 5,30 to 70,12 mg/100 g fat.

Ratio of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acid of fresh cheese Quarg is in inverse proportion to the needs of a balanced nutrition and influence on the human health.

Key words: fresh cheese type Quarg · fatty acids · cholesterol

¹MARTINA KUTIJA
²KATARINA TONKOVIĆ
¹RAJKA BOŽANIĆ
²LJERKA GREGUREK

¹Sveučilište u Zagrebu,
 Prehrambeno-biotehnološki
 fakultet, Zavod za mljekarstvo,
 Zagreb, Hrvatska
²Probiotik d.o.o., Zagreb, Hrvatska

NAUČNI RAD

UDK: 637.146.3:637.044

OPTIMIRANJE PROCESA DELAKTOZACIJE MLIJEKA I PROIZVODNJA JOGURTA IZ HIDROLIZIRANOG MLIJEKA

Laktoza, ili mliječni šećer, prisutna je u mlijeku svih sisavaca. U prehrambenoj industriji laktoza uglavnom služi kao aditiv u raznim prehrambenim proizvodima (nosač različitih aroma, sredstvo za posmeđivanje pekarskih proizvoda, kod proizvodnje slatkih sirupa, supstrat za proizvodnju različitih fermentiranih proizvoda), a istovremeno je i važan sastojak mnogih farmaceutskih proizvoda.

Za probavu laktoze neophodan je enzim laktaza, koji se nalazi u stanicama sluznice tankog crijeva i cijepa laktozu, kao složeni šećer, na jednostavne šećere, glukozu i galaktozu. Čovjek se rađa s određenom količinom laktaze u organizmu. Međutim, sadržaj ovog enzima postupno se smanjuje tijekom djetinjstva i adolescencije, a u odrasloj dobi može doći i do potpune inaktivacije gena za proizvodnju laktaze. Odrasle osobe koje imaju konstantno visoki kapacitet probave laktoze nalazimo kod samo nekoliko populacija. Niska aktivnost intestinalne laktaze ili njen izostanak, uobičajen je za većinu etničkih grupa. Kako je interes za proizvode bez ili sa smanjenim sadržajem laktoze sve veći, i raste, mliječna industrija stavljena je pred izazov proizvodnje novih funkcionalnih proizvoda za široki broj potrošača.

Osim toga, hidroliza laktoze u mlijeku ima za posljedicu promjenu fizikalno-kemijskih svojstava supstrata koji mogu biti od velikog interesa za mliječnu industriju (npr. izbjegavanje kristalizacije laktoze, povećana slatkoća, bolja probavljivost, itd.). Smatra se da fermentirani mliječni proizvodi poput jogurta mogu učinkovito poboljšati probavu laktoze kod osoba sa poremećenom probavom laktoze. Stoga, fermentirani proizvodi proizvedeni iz hidroliziranog mlijeka mogu dodatno olakšati probavu mliječnih proizvoda, a istovremeno osigurati isti sadržaj proteina, vitamina, kalcija te dati slatki okus proizvodu bez dodatnog šećera ili umjetnih sladila.

Cilj ovog rada bio je optimirati proces hidrolize mlijeka pomoću enzima laktaze – β -galaktozidaze izolirane iz mliječnog kvasca *Saccharomyces marxianus* var. *lactis*, komercijalnog naziva Maxilact L2000 (DSM Food Specialties), pokusna proizvodnja jogurta iz proizvedenog delaktoziranog mlijeka te određivanje njegove prihvatljivosti i poželjnosti među odabranom skupinom potrošača.

Za odabir optimalnog procesa hidrolize mlijeka odabrana su i provedena tri različita postupka:

- 1) predhidroliza pasteriziranog mlijeka za proizvodnju jogurta pri temperaturi +6 °C tijekom 20h,
- 2) predhidroliza pasteriziranog mlijeka za proizvodnju jogurta pri temperaturi +37 °C tijekom 2h i
- 3) simultana hidroliza i fermentacija mlijeka za proizvodnju jogurta.

Sadržaj laktoze (i galaktoze) određen je prije i nakon provedene hidrolize mlijeka, za svaki navedeni postupak. Kako je ova laktaza dobivena iz mliječnog kvasca, njeni su optimalni uvjeti blizu prirodnog pH mlijeka i temperature mlijeka, tj. pH 6,6-6,8 i temperature od 35-40 °C.

Prema dobivenim rezultatima analize uzoraka mlijeka, najveći stupanj hidrolize laktoze (97,42%) postignut je postupkom predhidrolize mlijeka pri temperaturi +37 °C. Pri temperaturi +6 °C hidrolizirano je 91,80% laktoze, a najniži stupanj hidrolize (74,26%) postignut je postupkom simultane hidrolize i acidifikacije mlijeka.

S obzirom na složenost procesa obrade i hidrolize mlijeka, u daljnjim pokusima mlijeko za proizvodnju jogurta hidrolizirano je postupkom predhidrolize mlijeka pri niskim temperaturama (+6 °C). Ova je metoda odabrana iz praktičnih razloga uvjeta laboratorijskih pokusa, ali i uobičajene industrijske prakse: u velikom broju mljekara mlijeko se po zaprimanju pasterizira i hladi te prebacuje u tankove gdje čeka daljnju preradu. Druga metoda hidrolize laktoze pri temperaturi +37 °C bila bi pogodnija za proizvodnju mliječnih napitaka koji sadrže probiotičke bakterije *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* sp., jer je ova temperatura optimalna za njihov rast, dok je za jogurtne kulture pogodnija temperatura iznad 40 °C. Zahtjev treće metode simultane hidrolize i fermentacije je da temperatura fermentacije ne prelazi +40 °C. To

Adresa autora:
 Martina Kutija, Sveučilište u Zagrebu,
 Prehrambeno-biotehnološki fakultet,
 Zavod za mljekarstvo, Pierottijeva 6,
 10 000 Zagreb, Republika Hrvatska

produljuje vrijeme fermentacije jogurta, a i dobiveni rezultat za stupanj hidrolize laktoze bio je manji nego u prethodna dva opisana postupka hidrolize.

Prema postupku hidrolize koji je odabran, dobiveno hidrolizirano mlijeko (prosječni % hidrolize = 95,49) dogrijano je na temperaturu inokulacije i fermentacije od 43 °C i inokulirano jogurtom starter kulturom. Fermentacija je trajala do postizanja pH-vrijednosti 4,55. Prosječno vrijeme fermentacije jogurta iz delaktoziranog mlijeka (4,5h) nije se bitno razlikovalo od trajanja fermentacije kontrolnih uzoraka (4h), koji su proizvedeni paralelno iz nehidroliziranog mlijeka. Nakon toga, proizvedeni uzorci jogurta su ohlađeni uz miješanje i pohranjeni na hladno skladištenje (+4 °C). Proizvedenim uzorcima jogurta određena je prihvatljivost i ocijenjena su im senzorska svojstva.

Senzorska svojstva uzoraka jogurta ocijenila je panel skupina od

5 senzorskih analitičara, sustavom bodovanja od ukupno 20 ponderiranih bodova. Ocjena pojedinog svojstva pomnožena je faktorom značajnosti tog svojstva.

Prema dobivenim rezultatima provedene senzorske procjene za oba uzorka jogurta dale su gotovo jednake ocjene za sve parametre senzorske procjene osim za svojstvo okusa. Ukupne prosječne ocjene senzorske procjene bile su visoke: za kontrolni uzorak jogurta iznosile su 19,5 bodova, a za uzorak jogurta od hidroliziranog mlijeka 17,4 od maksimalnih 20 bodova. Okus proizvedenih jogurta iz hidroliziranog mlijeka ocijenjen je nešto nižom ocjenom (8,4 od maksimalno 10,0 bodova) u odnosu na kontrolni uzorak, koji je dobio maksimalni broj bodova za okus. Jogurt od hidroliziranog mlijeka imao je slađi okus od kontrolnog radi većeg udjela monosaharida, glukoze i galaktoze, koji su slađi od laktoze.

Utvrđivanje prihvatljivosti uzorka proizvedenih jogurta provedeno je testiranjem skupina od po 50 potrošača životne dobi od 30-40 godina starosti, koristeći verbalnu hedonističku skalu po Periamu s devet mogućih odgovora. Testiranje prihvatljivosti uzoraka jogurta provedeno je u tri navrata sa svakim uzorkom jogurta, a rezultati su izraženi kao prosječne ocjene svih ocjenjivača. Kontrolni uzorci jogurta i uzorci jogurta proizvedeni iz delaktoziranog mlijeka pokazali su iznimno visoku prihvatljivost (100% odnosno 97,92% prihvatljivost).

Ključne riječi: hidroliza mlijeka • jogurt • senzorska procjena • prihvatljivost

SUMMARY

OPTIMIZATION OF MILK DELACTOSATION PROCESS AND PRODUCTION OF YOGHURT FROM HYDROLYZED MILK

¹Martina Kutija, ²Katarina Tonković, ¹Rajka Božanić, ²Ljerkica Gregurek

¹University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Croatia

²Probiotik d.o.o., Zagreb, Croatia

Lactose or milk sugar is present in all mammalian milk. In food industry, it is mostly used as an agent in various food products (as flavor carrier, browning agent in baking industry, in production of sweet syrups, as substrate in production of various fermented products), and at the same time, it functions as an important ingredient in many pharmaceuticals.

Enzyme lactase is essential for lactose digestion, and it is present in intestine mucus cells where it breaks down disaccharide lactose into monosaccharides glucose and galactose. Humans are born with certain definite lactase content in organism. However, it gradually decreases during childhood and adolescence, which may even result with complete inactivation of the gene that produces lactase in adult age. Adults with constant, high capacity of lactose digestion are found only in few populations. Low activity or absence of intestinal lactase is common for the majority of ethnic groups. Given that the interest for lactose-free or lactose-low products is considerable and continues to grow, milk industry meets with a challenge to make new functional products for numerous consumers. Moreover, lactose hydrolysis in milk has as its consequence a change of physical and chemical properties of substrate, which can be of great interest for milk industry (e.g. avoidance of lactose crystallization, increased sweetness, improved digestibility, etc). It is considered that fermented milk product, such as yoghurt, can effectively enhance lactose digestion in people with disturbed lactose digestion. Therefore, fermented milk products, made from hydrolyzed milk, can additionally facilitate milk products digestion, and at the same time, ensure the same protein, vitamin and calcium content, and give sweet product taste without adding extra sugar or sweeteners.

Key words: milk hydrolysis · yoghurt · sensory evaluation · acceptability

¹HUSEJIN KERAN
¹AMRA ODOBAŠIĆ
¹AMRA BRATOVČIĆ
¹INDIRA ŠESTAN
²EMIRA OMERAGIĆ

¹Univerzitet u Tuzli,
 Tehnološki fakultet, BiH
²PMG-VIP, BiH

NAUČNI RAD

UDK: 637.12:637.04:546.48+546.815

ODREĐIVANJE SADRŽAJA KADMIJA I OLOVA U MLIJEKU PRIMJENOM VOLTAMETRIJSKE TEHNIKE

Problem prisustva teških metala u hrani aktuelan je već dugi niz godina. Za razliku od organskih polutanata, teški metali nisu biorazgradivi i mogu biti prisutni u lancu ishrane više godina. Ovom problemu danas se pridaje sve veći značaj jer je razvoj sofisticiranih visokoosjetljivih tehnika, kao što je diferencijalna pulsna voltimetrija, omogućila precizno određivanje tragova teških metala. Teški metali su toksični čak i u tragovima, dok esencijalni metali postaju kobni za živi organizam kada pređu određenu koncentracijsku granicu. Zbog toga je vrlo važno poznavati prisutne i dozvoljene količine obje pomenute vrste elemenata, naročito u namirnicama koje su sastavni dio svakodnevnice ishrane. U ovom radu analizirani su sadržaji teških metala olova i kadmija u mlijeku primjenom diferencijalne pulsne anodne stripping voltimetrije.

Ključne riječi: teški metali • mlijeko • diferencijalna pulsna anodna stripping voltimetrija

UVOD

Mlijeko je kompleksna smjesa sastavljena od masti, proteina, ugljenih hidrata, minerala, vitamina i vode u odnosima koji najbolje odgovaraju ljudskom organizmu.

Po svom sastavu predstavlja najidealniju namirnicu, prirodna je hrana dojenčadi, upotrebljava se u normalnoj ishrani odraslih i važan je faktor u dijetoterapiji mnogih oboljenja.

Postoji interes i potreba za analizama teških metala u mlijeku, jer se ono smatra indikatorom okolišnog zagađenja i značajan je unosnik toksičnih elemenata ako je na bilo koji način kontaminirano. Nivo elemenata u tragovima koji se javljaju u kravljem mlijeku zavise od brojnih faktora kao što su genetika, stepen laktacije, okolišni uslovi, vrste pašnjaka i ishrana. Pored toga, grupa autora, Gambelli, Belloni i ostali (1999) istakli su da na konačan sadržaj metala utiče i tehnološki tretman odnosno postrojenja koja su načinjena od metala ili legura koja mogu unijeti određene koncentracije datih elemenata u mlijeko i mliječne proizvode.

Pavelka i Golijan (2000) određivali su sadržaj kadmija i olova u uzorcima mliječnih proizvoda kao što su jogurt i sir domaćeg i stranog porijekla. Prema WHO, Cadmium, Environmental Health Criteria (EHC, 134, 1992) kadmij je neesencijalan element u hrani i akumulira se pretežno u jetri i bubrezima, a najveći problem koji može biti prouzrokovan je trovanje bubrega. Specifičnost kadmija se ogleda u njegovoj toksičnosti u veoma malim količinama, Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2001) dugom biološkom poluzivotu (oko 30 godina u ljudskom tijelu) i težnje akumulacije u mekim tkivima. Kako je kadmij bioakumulativni metal njegova koncentracija raste u ljudskom organizmu srazmjerno životnoj dobi. Kadmij je klaificiran u prvu grupu elemenata kancerogenih uzročnika od strane International Agency for Research on Cancer, IRAC, (1993).

Poznat kao ozbiljan kumulativni metabolički otrov, olovo, čiji je štetni

uticaj na ljude poznat desetljećima, i dalje je značajno prisutan u okolišu zbog velike primjene u tehnici. Olovo štetno djeluje na sastav krvi, pri čemu može doći do olovne malokrvnosti, povišenja krvnog pritiska i drugih kardiovaskularnih smetnji. Olovo uzrokuje akutnu i hroničnu intoksikaciju. Akutno trovanje je rijetko, dok je hronično dosta ozbiljnije i evidentnije. Odrasli apsorbiraju oko 10-15% olova, dok djeca mogu apsorbirati i do 50 procenata ovog metala unešenog hranom. Apsorbirano olovo se koncentriše u kostima (95%), WHO, Lead, Environmental Health Criteria, EHC, 1998, krvi i mekom tkivu (jetra, bubrezi, mozak i mišići).

MATERIJAL I METODI

Za mjerenje koncentracije metalnih iona kadmija i olova u mlijeku primjenjena je elektroanalitička metoda, diferencijalna pulsna anodna stripping voltimetrija (DPASV). Analiza DPASV je izvedena u elektroanalitičkoj ćeliji (Princeton Applied Research model 303 A) sa radnom, referentnom i pomoćnom elektrodom. Kao radna elektroda korištena je živina kapajuća elektroda, a srebro-srebro hloridna kao referentna elektroda i platinska žica kao pomoćna elektroda. Zatim, potencijostat/ galvanostat, PAR, model 263 A i računar sa instaliranim programom Model 270/250 Research Electrochemistry Software, version 4.3, za kontrolu i praćenje voltametrijskih mjerenja. Proces analize je započeo u elektroanalitičkoj ćeliji (10 ml) sa uronjenim elektrodama u ispitivani medij (sa prethodno podešenim pH), provođenjem struje internog plina.

Adresa autora:

Dr.sc. Husejin Keran, docent, Univerzitet u Tuzli, Tehnološki fakultet, Univerzitetska 8, 75 000 Tuzla, BiH, tel.: + 387 61 423 562, fax: + 387 35 282 404

e-mail: hkeran@yahoo.com,
husejin.keran@untz.ba

Kao interni plin korišten je azot velikog stepena čistoće (99,999 %), čijim uvođenjem je omogućeno uklanjanje atmosferski otopljenog kisika koji može oslabiti koncentraciju elektrolizom izlučenih metala u živi i tako smanjiti osjetljivost i reproducibilnost određivanja. U procesu pripreme i analize uzoraka korištene su hemikalije visokog stepena čistoće (proizvođača Merck Co. Darmstadt). Kod pripreme uzoraka i standardnih rastvora koristila se redestilovana voda dobivena postupkom trostruke destilacije. Standardni rastvori metala kadmija i olova pripremani su u slijedećim koncentracijama:

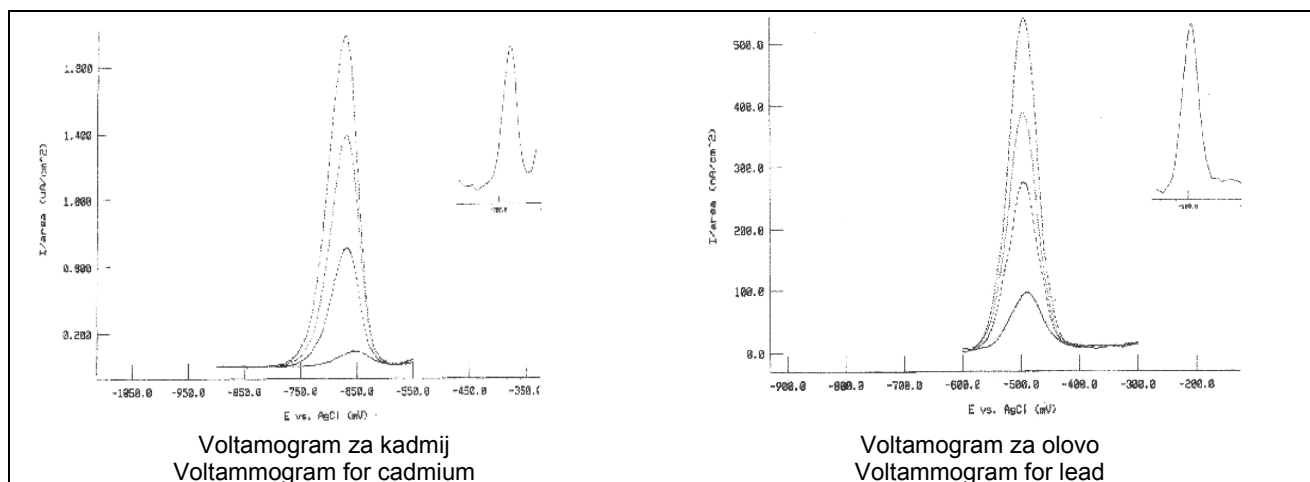
amalgam na HMDE. Pretkoncentracija metalnih iona se dešava tokom zadanog vremena depozicije pri konstantnom potencijalu uz kontrolirane hidrodinamičke uslove. Tokom ovog procesa rastvor u ćeliji se intenzivno miješa. Struja ćelije tokom depozicije je katodna. Nakon elektrodepozicije slijedi period mirovanja, a zatim proces anodnog otapanja depozita koji se odvija uz linearnu promjenu potencijala radne elektrode, odnosno dolazi do anodne oksidacije prethodno izlučenih metala nazad u ionski oblik i snimanja primjenjenog potencijala u pozitivnom smjeru. Tokom procesa anodnog otapanja mjeri se rezultujuća struja koja je proporcionalna koncentraciji istalo-

- vrijeme depozicije: 600 s
- vrijeme skeniranja: 2 mV/s
- vrijeme deaeracije: 300 s
- amplituda: 0,05 V
- potencijal.

Metal	Početni potencijal	Konačni potencijal
Cd	- 0,9 V	- 0,6 V
Pb	- 0,6 V	- 0,3 V

REZULTATI I DISKUSIJA

Na slici 1 dati su karakteristični voltamogrami dobiveni primjenom DPASV za određivanje kadmija i olova u mlijeku.



Slika 1. VOLTAMOGRAMI ZA KADMIJ I OLOVO DOBIJENI PRIMJENOM DPASV METODE
Figure 1. VOLTAMMOGRAMS OF CADMIUM AND LEAD OBTAINED BY APPLICATION OF DPASV METHOD

Tabela 1. PREGLED UKUPNIH PROSJEČNIH KONCENTRACIJA KADMIJA I OLOVA U MLIJEKU
Table 1. THE REVIEW OF AVERAGE CONCENTRATIONS OF CADMIUM AND LEAD IN MILK

Uzorak mlijeka Milk sample	Ukupna prosječna koncentracija kadmija Total average cadmium concentration, $\mu\text{g/L}$	Ukupna prosječna koncentracija olova Total average lead concentration, $\mu\text{g/L}$
I	7,06	21,9
II	12,9	15,0
III	9,14	33,5
IV	7,64	18,6

$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ u HNO_3 (0,5M),
 $c(\text{Cd}) = 1000 \text{ mg/L}$, (Merck)

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ u HNO_3 (0,5 M),
 $c(\text{Pb}) = 1000 \text{ mg/L}$, (Merck)

Nakon deaeracije izlučuje se živi na kap nakon čega slijedi proces elektrolize. Eksperiment anodne stripping voltametrije započinje procesom elektrodepozicije. Metalni ion iz rastvora se redukuje u metalni oblik gradeći

ženog metala iz ispitivanog medija. Adicijom standardnog rastvora ispitivanog metala, proces se ponavlja sa novoformiranom živinom kapi pod istim zadanim uslovima.

Za analizu kadmija i olova uzete su četiri reprezentativne vrste mlijeka, od kojih mlijeko I nije sa lokalnog područja.

Instrumentalni parametri za određivanje koncentracija ispitivanih teških metala:

Analizom rezultata dobivenih diferencijalnom pulsnom anodnom stripping voltametrijom i primjenom matematičke obrade metode standardnog dodatka u Mathcad programu dobijene su sljedeće koncentracije teških metala kadmija i olova u ispitivanim uzorcima mlijeka koji su dati u tabeli 1.

Od teških metala Evropska unija (2001) i International Dairy Federation (IDF) standard, dozvoljavaju maksi-

malnu koncentraciju olova do 20 µg/kg m.m u mlijeku. Međutim, prema starom pravilniku iz Službenog lista SFRJ dozvoljena količina olova u mlijeku je 0,1 mg/kg, što je pet puta veća koncentracija od dozvoljene koncentracije ovog metala od strane Evropske komisije. U tabeli 2 su predstavljene izračunate vrijednosti maksimalnog i prosječnog indeksa rizika kod odraslog čovjeka pod pretpostavkom da unosi najnižu količinu mlijeka odnosno 200 mL dnevno.

U mlijeku I zabilježena je najniža koncentracija kadmija od 7 µg/L. Koncentracija olova od 21,9 µg/L u mli-

odraslu osobu ove koncentracije olova ne pokazuju veliki indeks rizika. U mlijeku IV nađena je koncentracija olova od 18,6 µg/L koja se približava zakonom definisanoj maksimalno dozvoljenoj koncentraciji. Kadmij je nađen u nižoj koncentraciji kao i kod uzorka I.

ZAKLJUČAK

Neophodnost kontinuiranog praćenja sadržaja teških metala u namirnicama i unosa ovih elemenata nametnula je aktuelnost primjene savremenih polarografskih tehnika u kontroli hrane. S obzirom da se kadmij i olovo

Tabela 2. INDEKS RIZIKA KOD UNOSA KADMIJA I OLOVA MLIJEKOM
Table 2. INDEX OF RISKS OF CADMIUM AND LEAD BY MILK CONSUMPTION

Metal/ Metal	Kadmij / Cadmium	Olovo / Lead
Prosječna koncentracija ^(a) Average concentration	0,184	0,44
Maksimalna koncentracija ^(a) Maximum concentration	0,258	0,67
PTWI ^(b) Provisinoal Total Weekly Intake	7	25
Indeks rizika (prosjeak) ^(c) Risk Index (average)	2,63 %	1,8 %
Indeks rizika (maksimalno) ^(c) Risk Index (maximum)	3,7 %	2,8 %

^(a)sedmični unos metala mlijekom po kilogramu tjelesne težine (µg/kg t.t/sedmično)

^(b)PTWI – sedmična tolerirajuća doza unosa metala (µg/kg t.t/sedmično)

^(c)indeks rizika = (unos metala mlijekom/PTWI)·100

jeku I, vrlo malo prelazi maksimalno dozvoljenu koncentraciju olova od strane Evropske unije (2001), ali je niža gotovo pet puta od dozvoljene koncentracije ovog metala prema starom Pravilniku SFRJ (1983). U mlijeku II nađen je najveći sadržaj kadmija u iznosu od 12,9 µg/L i najmanja prosječna koncentracija olova od 15,00 µg/L. Mlijeko III sadrži najvišu prosječnu koncentraciju olova od 33 µg/L. Ovako visoka koncentracija olova je iznad maksimalne dozvoljene koncentracije olova od 20 µg/m.m od strane Evropske komisije (2001) a ispod dozvoljene koncentracije olova prema Pravilniku SFRJ (1983).

Prema pretpostavljenoj unesenoj količini mlijeka od 200 mL dnevno za

smatraju polutantima u hrani, njihovo prisustvo i u najmanjim količinama može biti štetno ako se zna da su to bioakumulativni metali i da samo jedan prekomjeran unos ovih metala može dovesti do trajnih neželjenih posljedica po zdravlje čovjeka. Nađene koncentracije kadmija i olova u mlijeku ne pokazuju velike indekse rizika ako se uzme u obzir podatak da odrasle osobe dnevno konzumiraju najmanje 200 mL mlijeka. Međutim, opterećenost organizma ili indeksi rizika bi se pokazali većim za djecu kada bi se u proračun uvrstile veće konzumirane količine mlijeka u odnosu na tjelesnu težinu.

LITERATURA

1. Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Discussion Paper on Cadmium. FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Committee on Food Additives and Contaminants., Thirty-first Session. The Hague The Netherlands, 2001.
2. Codex Alimentarius Commission, Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Draft Maximum Levels for Lead. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Thirty-first Session. The Hague The Netherlands, 1999WHO, Cadmium, Environmental Health Criteria (EHC) 134, International Programme on Chemical Safety (IPCS), World Health Organisation, Geneva 1992 European Commission, Annex I. Methods of Sampling for Official Control of the Levels of Lead, Cadmium, Mercury and 3-MCPD in Certain Foodsuffs. Official Journal of the European Communities L77:16-21, 2001.
3. Gambelli L., Belloni P., Ingraio G., Pizzoferrato L., Santaroni G. P.: Minerals and Trace Elements in Some Italian Dairy Products. 12, 27-35, 1999.
4. Nasr S. E., Moustafa K. M., Ibrahim Th. A., Seddek A. Sh., Laila M. El-Malt.: Lead in Milk and Milk Products and its Health Significance in Aussit Governorate. GEAR Symposium, Cairo Egypt. 1-11, 2001.
5. Službeni list SFRJ. Pravilnik o količinama pesticida i drugih otrovnih materija, hormona, antibiotika i mikotoksina koji se mogu nalaziti u životnim namirnicama. 1983.
6. Pavelka M., Golian J.: Occurrence of Cadmium and Lead in Dairy Products in the Slovak Republic. Acta Fitotechnica et Zootechnica. Vol. 4, Special Number, 225-227, 2000
7. WHO, Lead, Environmental Health Criteria (EHC) 3, International Programme on Chemical Safety (IPCS), World Health Organisation, Geneva 1998.

SUMMARY**LEAD AND CADMIUM CONTENT DETERMINATION IN MILK BY APPLYING THE VOLTAMMETRY METHOD**

¹Husejin Keran, ¹Amra Odobašić, ¹Amra Bratovčić, ¹Indira Šestan, ²Emira Omeragić

¹University of Tuzla, Faculty of Technology, Bosnia and Herzegovina, ²PMG-VIP, Bosnia and Herzegovina

The problem of heavy metal presence in food has been evident for many years. Contrary to organic pollutants, heavy metals are not biodegradable and can be present in food chain for a long period of time. Today, this problem has become very important, because the development of sophisticated methods, such as differential pulse voltammetry has enabled the determination of heavy metal's traces. Essential metals are dangerous for human beings; particularly if they are present in higher concentrations than it is allowed. However, heavy metals can have a significant influence on human organisms, even if their presence in food is only in traces. Therefore, it is important to know both present and allowed amounts of elements, particularly in food which is being consumed on daily basis. In this work, the content of heavy metals such as lead and cadmium is determined in milk by applying differential pulse anodic stripping voltammetry. Based on lead and cadmium content in milk and average weekly milk consumption, risk indexes are estimated as the measure of these elements' intake by milk.

Key words: heavy metals • milk • differential pulse anodic stripping voltammetry

RADE I. POPOVIĆ

Univerzitet u Novom Sadu,
Ekonomski fakultet Subotica

NAUČNI RAD

UDK: 637.1:339.13

Turbulentna dešavanja na međunarodnom tržištu mleka odrazila su se na promene u strukturi ponude i tražnje za mlečnim proizvodima. Nova kretanja u svetskoj proizvodnji i trgovini mlečnim proizvodima, kao i efekti ovih promena na tržište Srbije jesu predmet istraživanja u ovom radu. Kao izvori podataka poslužile su baze podataka Svetske prehrambene organizacije, nacionalnih statističkih službi i rezultati istraživanja ekonomskog stanja na uzorku komercijalnih porodičnih gazdinstava koja se bave proizvodnjom kravljeg mleka.

Ključne reči: mleko • tržište • cene • trendovi • porodično poljoprivredno gazdinstvo

UVOD

Svetsko tržište prehrambenih proizvoda otvorilo je tokom 2007. i 2008. godine novu eru ekstremnih varijacija cena. Nivo rasta cena proizvoda od mleka, meren indeksima, dominantno je bio viši od rasta cena žitarica, uljarica i mesnih prerađevina. Kolebanje cena poljoprivrednih proizvoda je pojava na koju utiče prvenstveno odnos ponude i tražnje. Na promene na svetskom tržištu mlečnih proizvoda uticao je čitav niz faktora, kako na strani ponude, tako i na strani tražnje.

TRENDVI NA SVETSKOM TRŽIŠTU MLEKA I UTICAJ NA TRŽIŠTE SRBIJE

Tržište mleka i mlečnih proizvoda u Srbiji, u posmatranom periodu, reagovalo je u skladu sa promenama na svetskom tržištu, ali sa izvesnim vremenskim zakašnjenjem.

MATERIJAL I METODI

Podaci u istraživanju su prikupljeni iz više izvora koji bi se mogli podeliti u dve grupe. U prvu grupu spadaju baze statističkih podataka o poljoprivrednoj proizvodnji u svetu i Srbiji, kao što su: Food and Agricultural Organization (FAO), International farm comparison network (IFCN), Zavod za statistiku Republike Srbije (RZS), Nacionalna statistička služba Ministarstva poljoprivrede SAD (NAAS; USDA) i druge nacionalne statističke službe. Drugoj grupi izvora podataka pripadaju sprovedene ankete, intervjui i na bazi njih izrađene kalkulacije za 24 poljoprivredna gazdinstva kod kojih su prihodi sa linije proizvodnje mleka dominantni u ukupnim prihodima gazdinstva.

REZULTATI I DISKUSIJA

Proizvodnja mleka u svetu

Ukupnu svetsku proizvodnju mleka čini pet vrsta mleka i to: kravlje, bivolje, kozje, ovčije i kamilje. Njihov udeo u ukupnoj svetskoj proizvodnji, prema FAO podacima za 2005. godinu, iznosio je: 83,89% kravlje, 12,22% bivolje, 2,23% kozje, 1,43% ovčije i 0,23% kamilje mleko. Svetska proizvodnja mleka je u 2005. godini iznosila 645 milijardi litara, a prema prosečnoj godišnjoj stopi rasta za period

1996-2005. godine, od 1,85% trebalo bi da premaši 700 milijardi litara do kraja prve dekade ovog veka. Najveći doprinos ukupnom rastu proizvodnje mleka u periodu 1996-2005. godine dala je proizvodnja kravljeg mleka, koja je porasla za 74 milijarde litara.

Procenjuje se da je proizvodnja mleka u 2007. godini porasla za 1,8% dostigavši obim proizvodnje od 676 miliona tona. Očekivani rast u 2008. godini je 2,5% (1), imajući u vidu reakcije proizvođača na visoke cene mleka u prethodnoj godini. Najveći rast proizvodnje očekuje se u zemljama u razvoju, pri čemu bi se njihov udeo u svetskoj proizvodnji povećao na 47,6%. Drugačiji trend se očekuje u zemljama koje su najveći svetski izvoznici mleka (Novi Zeland, EU, Australija, Belorusija, Argentina i USA), gde se očekuje skroman rast proizvodnje od 1%. Nakon pada proizvodnje od 0,7%, u 2008. godini ukupna proizvodnja u ovim zemljama će biti tek nešto viša u odnosu na 2006. godinu. Pomenute zemlje, najveće izvoznice mlečnih prerađevina, proizvode 40% svetske proizvodnje mleka i učestvuju sa oko 80% u ukupnom izvozu na međunarodnom tržištu.

Sedam zemalja (tabela 1), koje su najveći proizvođači mleka proizveli su u 2007. godini 51,08% od ukupne proizvodnje mleka u svetu. Prognoza FAO-a za 2008. godinu ukazuje da će njihov udeo porasti na 51,4%, prvenstveno pod uticajem rasta proizvodnje u Aziji.

Proizvodnja mleka u Srbiji se uz manje oscilacije održava u poslednjih deset godina na nivou od 1,75 (2) miliona tona. U strukturi proizvodnje dominantno je kravlje mleko, dok ovčije učestvuje sa svega 0,94% (4). U

Adresa autora:
Doc. dr Rade Popović, Univerzitet u Novom Sadu, Ekonomski fakultet Subotica,
Departman za agrarnu ekonomiju i agrobiznis
Segedinski put 9-11, Subotica 24 000
tel.: 024/628 064
e-mail: popovicr@eccf.su.ac.yu

Tabela 1. PROIZVODNJA MLEKA U ZEMLJAMA SA NAJVEĆOM SVETSKOM PROIZVODNOM U PERIODU 2005 – 2008. GODINE (u milionima tona)

Table 1. MILK PRODUCTION IN LEADING MILK PRODUCER COUNTRIES IN 2005 – 2008 (million tons)

	2005.	2006.	2007.	2008. (1)	Udeo u 2008.
Indija	95,6	100,0	102,9	106,0	15,29%
SAD	80,3	82,5	84,2	86,5	12,48%
Kina	32,0	37,5	41,1	44,5	6,42%
Rusija	31,1	31,4	32,2	32,8	4,73%
Pakistan	29,4	31,2	32,5	33,8	4,88%
Nemačka	28,5	28,0	27,9	28,1	4,05%
Francuska	25,7	25,0	24,5	24,7	3,56%
Srbija	1,8	1,7	1,7	1,7	0,25%
Svet ukupno:	645,0	664,1	676,3	693,2	100,00%

rusija. Međutim, rast izvoza ove dve zemlje kao i blagi oporavak izvoza Argentine nije dovoljno da nadoknadi pad proizvodnje zemalja Okeanije i EU.

Na strani tražnje, inicijalno visoka uvozna tražnja u nekoliko zemalja severne Afrike i južne Azije dovela je tokom 2007. godine do ekstremnog rasta cena mleka. Tome je doprinelo iscrpljivanje svetskih zaliha mlečnih prerađevina, a naročito zaliha EU, koje bi (da su postojale u većem obimu) u izvesnoj meri mogle amortizovati nagli rast cena. Kod velikih kupaca mlečnih prerađevina na međunarodnom tržištu, rast cena je izazvao paniku i potrebu da kupuju veće količine i prave zalihe, kako bi se zaštitili

Tabela 2. NAJZNAČAJNIJI UVOZNICI I IZVOZNICI MLEKA U PERIODU 2005 – 2008. GODINE (u milionima tona)

Table 2. LEADING IMPORT AND EXPORT COUNTRIES IN 2005 – 2008. (million tons)

	Neto uvoz				Neto izvoz				
	2005	2006	2007*	2008**	2005	2006	2007*	2008**	
Rusija	1,9	2,6	2,9	3,1	Novi Zeland	10,6	11,6	11,2	9,8
Meksiko	2,8	1,8	1,9	2,1	EU	11,6	7,7	7,0	6,9
Kina	2,9	1,8	1,5	1,4	Australija	4,3	3,8	3,0	2,8
Alžir	1,9	1,5	1,5	1,4	Belorusija	1,6	1,6	1,6	1,8
Saudijska Arabija	1,4	1,3	1,0	0,7	Argentina	1,7	2,1	1,1	1,2
Egipat	0,7	1,5	1,5	1,4	SAD	2,3	1,0	1,2	1,4
Svet ukupno:	42,7	39,3	37,8	36,5	Svet ukupno:	42,8	39,4	38,0	36,4

* Procenjene količine; ** Prognozirane količine

2007. godini u Srbiji je proizvedeno 1,71 milion tona mleka, što čini 0,25% od ukupne svetske proizvodnje. Zbog suše koja je dovela do nižih prinosa i rasta cena stočne hrane, proizvodnja mleka u Srbiji je opala u 2007. za 2,46% u odnosu na prethodnu proizvodnu godinu. Imajući u vidu višu cenu mleka, bolje prinose useva i pad cena stočne hrane, realno je očekivati oporavak proizvodnje mleka u 2008. godini.

Međunarodna trgovina mlečnim proizvodima

Značajne promene, koje su tokom 2007. godine nastale na svetskom tržištu mlečnih proizvoda, posledica su prilagođavanja smanjenim izvoznim mogućnostima i izuzetno visokim cenama. Ukupni izvoz mlečnih proizvoda u 2007. godini smanjio se na 38 miliona tona mleka (5), što čini 5,6% od ukupne proizvodnje mleka. To je ujedno i najmanja količina koja je ponuđena na svetskom tržištu u poslednjih deset godina. Prema prognozi za 2008. godinu nastaviće se smanjenje

obima trgovine mlečnim proizvodima za dodatnih 4,6% i ukupan obim trgovine će iznositi 36,4 miliona tona mleka. Među velikim brojem mlečnih prerađevina koje se nalaze u međunarodnoj trgovini, četiri proizvoda dominiraju po količinama. U pitanju su, prema obimu prometa: punomasno mleko u prahu, sir, obrano mleko u prahu i maslac.

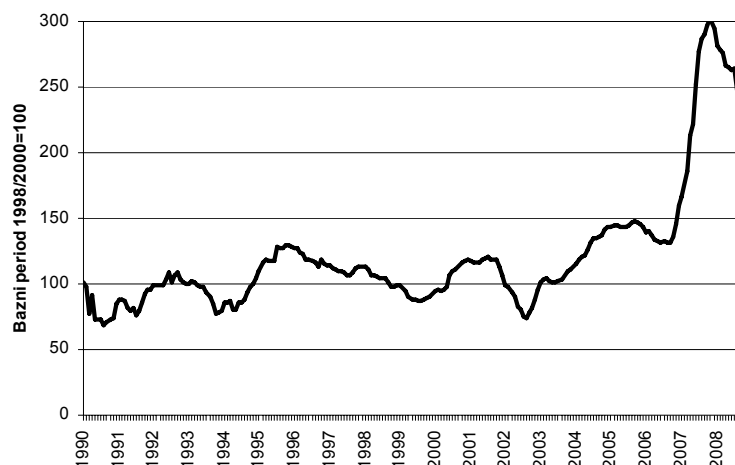
Od šest najznačajnijih izvoznika mlečnih proizvoda, četiri su zbog nepovoljnih klimatskih prilika imale pad izvoza u 2007. godini. Prognoza za 2008. godinu je da će doći do daljeg smanjenja izvoznih mogućnosti Novog Zelanda, Australije i EU. Pojedinačno, najveći svetski izvoznik mlečnih proizvoda je Novi Zeland koji učestvuje sa 30% u ukupnoj ponudi na međunarodnom tržištu. Suša koja je u 2007. godini zahvatila veći deo područja ove zemlje odrazila se na pad u proizvodnji mleka i smanjenje izvoznih mogućnosti. Loši klimatski uslovi u tekućoj proizvodnoj sezoni dovešće, prema procenama, do daljeg smanjenja izvoza mlečnih prerađevina. Od značajnijih izvoznika pozitivan trend u izvozu mleka ostvarili su SAD i Belo-

od daljeg rasta cena. Visoke svetske cene indukovale su rast cena mleka u zemljama uvoznicama šaljući signal poljoprivrednicima sa tih prostora da povećaju sopstvenu proizvodnju. Usled toga u zemljama uvoznicama, kao što su Kina, Alžir, Saudijska Arabija i Egipat, očekuje se pad uvozne tražnje za mlečnim prerađevinama u 2008. godini. U razvijenim zemljama, uprkos rastu cena mleka, tražnja za mlečnim prerađevinama iz inostranstva ostala je stabilna.

U strukturi tražnje za pojedinim vrstama mlečnih prerađevina došlo je do specifičnih promena. Tražnja za maslacem je opala za 22% u periodu 2006 – 2008. godine. Nasuprot tome, tražnja za raznim vrstama sireva blago je porasla za 3,6%. Tražnja za preostala dva značajna mlečna proizvoda, punomasnim i obranim mlekom u prahu, opala je redom za 6 i 4,6% u 2007. godini, sa tendencijom smanjenja u narednoj godini.

Cene mleka i mlečnih proizvoda

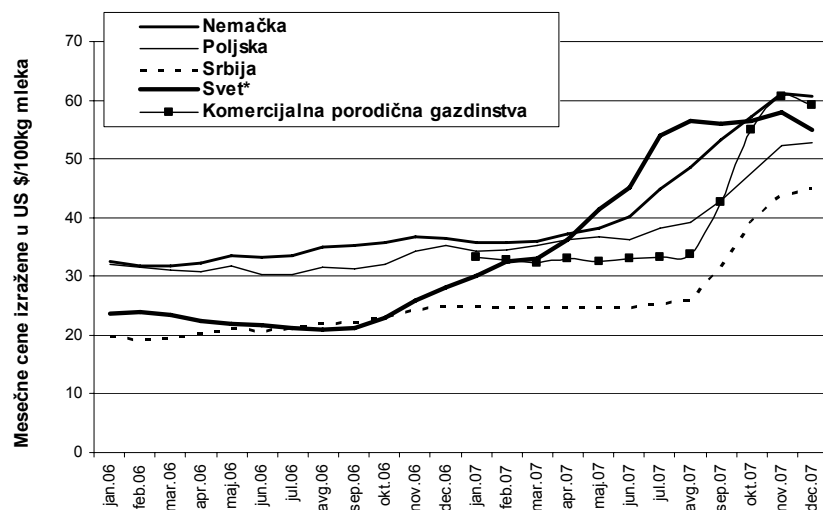
Rast svetskih cena mleka u periodu novembar 2006 – novembar 2007.



*Indeksi cena su obračunati na bazi pretvaranja ponderisanih količina mlečnih proizvoda iz međunarodne trgovine u mleko (mlečni ekvivalent).

Slika 1. MESEČNI INDEKSI SVETSKIH CENA ODABRANIH MLEČNIH PROIZVODA* (1998-2000=100)

Figure 1. MONTHLY INTERNATIONAL PRICE INDEXES OF SELECTED DAIRY PRODUCTS* (1998-2000=100)



Slika 2. PROSEČNE MESEČNE CENE MLEKA PLAĆENE POLJOPRIVREDNIM PROIZVOĐAČIMA U NEMAČKOJ, POLJSKOJ, SRBIJI I PROCENJENE CENE ZA GEO SVET

Figure 2. AVERAGE MONTHLY FARM GATE MILK PRICES IN GERMANY, POLAND, SERBIA AND ESTIMATE FOR WORLD

godine, otvorio je novu eru oscilacija cena kakve nisu viđene u poslednjih trideset godina.

Određeni trendovi na strani ponude i tražnje prisutni su u dužem periodu, ali oni nisu bili glavni razlozi rasta cena. Svetska tražnja za mlekom i mlečnim proizvodima je u konstantnom blagom porastu, prvenstveno pod uticajem rasta potrošnje mleka po glavi stanovnika u zemljama u razvoju, po godišnjoj stopi od 1,9%. Tražnja mleka u razvijenim zemljama

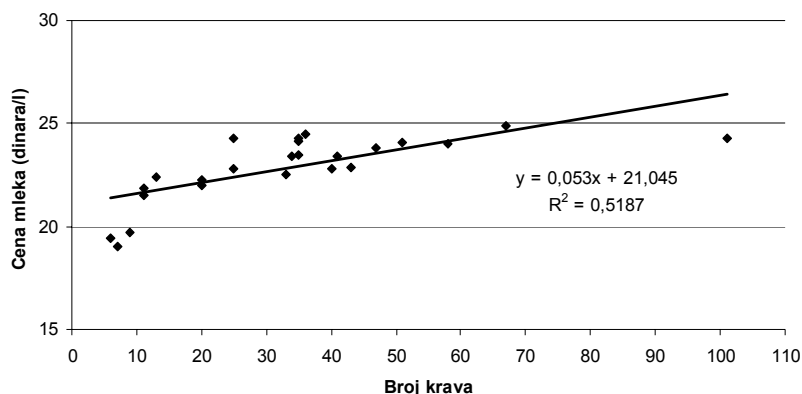
je stabilna i sa manjom stopom rasta od 0,9%. Prema procenama IFCN eksperata (6), ponuda mleka i mlečnih proizvoda u 2007. godini bila je niža od tražnje, za oko 2 miliona tona, što iznosi svega 0,3% od ukupne svetske proizvodnje.

Među tri osnovna faktora koja su izazvala rast cena mogu se ubrojati: iscrpljenost svetskih zaliha mlečnih proizvoda, panika kod najznačajnijih uvoznika i loši klimatski uslovi koji su doveli do smanjenja izvoznih moguć-

nosti najznačajnijih izvoznika. Svetske zalihe punomasnog mleka u prahu iscrpljene su u novembru 2006. godine, a zalihe maslaca su potrošene u proleće 2007. Rast nesigurnosti na tržištu mlečnih proizvoda izazvao je kod velikih uvoznika mleka panično ponašanje i težnju za stvaranjem zaliha. Nepovoljne klimatske prilike smanjile su prinose i uticale na rast cena stočne hrane u Novom Zelandu, Australiji i zemljama EU u dve uzastopne godine, što je dovelo do rasta troškova u proizvodnji mleka.

Najviši nivo svetskih cena dostignut je u decembru 2007. godine, kada je meren FAO indeksom cena (slika 1) dostigao vrednost od 302. Nakon tog najvišeg, ikada zabeleženog nivoa cena mleka, usledio je pad cena, koje su prema FAO indeksu cena u avgustu 2008. godine pale na vrednost od 247. Ovakav nivo cena je još uvek znatno iznad nivoa cena u periodu pre novembra 2006. godine. Dodatan razlog zadržavanja cena na višem nivou jesu i obnovljeni fjučers ugovori sa visokim cenama na periode do šest meseci (7), čime se prolongira pad cena. Teško je predvideti kakav će biti dalji pravac razvoja cena, mada se mogu identifikovati osnovni faktori koji utiču na pad cena. Visoke cene stimulišu rast proizvodnje, ali isto tako utiču i na smanjenje tražnje. Ponuda zemalja EU i SAD će rasti, prema prognozama, u narednom periodu što će pozitivno uticati na smanjenje cena. Rast proizvodnje mleka u zemljama u razvoju delimično će supstituisati uvozne potrebe. Visoke cene destimulišu potrošnju prvenstveno mlečnih prerađevina u zemljama sa nižom kupovnom moći stanovništva. Efekti visokih svetskih cena mleka različito su se odrazili na proizvođače i potrošače u raznim zemljama. Razvijene zemlje, koje imaju visoke nivoe subvencija i carinsku zaštitu, nisu osetile efekte rasta svetskih cena sve do momenta kada su one nadmašile nivo domaćih cena. Potrošači u zemljama velikim uvoznicama mlečnih proizvoda, kao što su Rusija, Alžir, Meksiko i Kina, najbrže i u najvećem obimu su trpeli posledice rasta cena. Najveće šanse u ovakvoj situaciji su imali proizvođači mleka u zemljama izvoznicama.

Kada su u pitanju cene mleka koje su postizali poljoprivredni proizvođači širom sveta, može se reći da je polje kretanja ovih cena omeđeno stanjem u dve grupe zemalja sa ekstremnim



Slika 3. MEĐUZAVISNOST PROSEČNE VELIČINE OSNOVNOG STADA I PROSEČNIH CENA MLEKA NA UZORKU OD 24 POLJOPRIVREDNA GAZDINSTVA

Figure 3. RELATIONSHIP BETWEEN AVERAGE HERD SIZE AND MILK PRICE (SAMPLE OF 24 FARMS)

rastom, odnosno sa stagnacijom proizvođačkih cena.

Ekstremni slučajevi rasta cena desili su se u zemljama poput Islanda, Norveške i Švajcarske gde su cene mleka prešle prag od 70 US dolara za 100 kg mleka u 2007. godini, uz prognoze eksperata da je u narednoj godini moguć dalji rast cena. Sa druge strane, poljoprivredni proizvođači sa slabom integrisanim tržišta, kao i tržišta sa niskim procentom tržišnosti (8) proizvedenog mleka poput Belorusije, Pakistana i Indonezije, gotovo da uopšte nisu osetili efekte rasta cena na svetskom tržištu. Cene u ovim zemljama su ostale na nivou nižem od 25 US dolara za 100 kg mleka, uz prognozu eksperata da u 2008. godini cene neće nadmašiti pomenuti nivo.

Do transmisije međunarodnih proizvođačkih cena sirovog mleka (slika 2) na tržište Srbije, došlo je tek nakon 11 meseci, a u odnosu na proizvođače u Nemačkoj i Poljskoj nakon 3, odnosno 2 meseca. Ovakav zakasneli rast cena ukazuje na niži nivo integrisanosti tržišta mleka Srbije u svetsko tržište. Takođe, zakasneli rast cena može biti signal o nepovoljnijem tržišnom položaju proizvođača mleka u Srbiji u odnosu na mlekarsku industriju. Da bi se proverila ovakva tvrdnja potrebno je analizirati položaj komercijalnih proizvođača mleka. Podaci dobijeni sa 24 komercijalna porodična poljoprivredna gazdinstva sa područja Vojvodine, koja raspolazu sa osnovnim stadima kapaciteta od 6 do 101 krave, upućuju na određene zaključke. Jasno je na osnovu podataka iz slike 2 da je i kod ovog tipa gazdinstava došlo do identičnog zakašnje-

nja, osim u slučaju svetskih cena gde je zakašnjenje u rastu cena mleka iznosilo 6 meseci. S obzirom na viši kvalitet mleka komercijalnih porodičnih gazdinstava, koji je sličan kvalitetu u razvijenim zemljama, razumljiva je razlika u odnosu na prosečni nivo cena u Srbiji. Jedina razlika je u tome da su cene mleka, koje su komercijalna gazdinstva ostvarila u periodu od dva meseca (septembar–oktobar), dostigle nivo svetskih cena. Nagli rast cena mleka komercijalnih gazdinstava, po stopi višoj od stope rasta u Nemačkoj i Poljskoj, pozitivno je uticao na rast prosečnog nivoa cena mleka u Srbiji. Rast troškova proizvodnje mleka usled rapidnog rasta cena stočne hrane koji je otpočeo u junu, uz dodatni rast cena energenata i usluga, značajno je ugrozio poslovanje poljoprivrednih gazdinstava u periodu jun – septembar 2007. godine. Imajući sve ovo u vidu, kao i činjenicu da su i komercijalni proizvođači mleka tek u septembru naplatili prodato mleko po višim cenama, može se zaključiti da su svi proizvođači mleka u Srbiji trpeli gubitke u periodu od juna do kraja avgusta zbog zadržavanja cena mleka na ranijem nivou. Ovakva situacija može se donekle objasniti i nepostojanjem zadruga proizvođača mleka koje bi omogućile snažnije i pravovremeno artikulisanje njihovih interesa i poboljšavanje tržišne pozicije.

Dostupnost i primenljivost različitih sistema proizvodnje utiču na to da se kvalitet mleka, kao osnovna odrednica cene, znatno razlikuje između komercijalnih poljoprivrednih gazdinstava i gazdinstava sa sitnim kapacitetima proizvodnje. Posedovanje opreme za

rashlađivanje mleka, kao i izmuzišta kod proizvođača sa većim osnovnim stadima, omogućava ovim gazdinstvima da proizvode mleko koje je daleko iznad prosečnog nivoa kvaliteta mleka na tržištu Srbije. Samim tim i nivo cena mleka koje komercijalna gazdinstva ostvaruju daleko je iznad nivoa cena koje postižu gazdinstva sa jednom ili nekoliko krava. Prema popisu poljoprivrede iz 2002. godine, 97,61% poljoprivrednih gazdinstava je raspolagalo sa 1 do 5 krava i pri tome su posedovali 87% od ukupnog broja krava u Srbiji. Podaci ukazuju na to da pretežni deo poljoprivrednih gazdinstava nema preduslove da proizvede kvalitetno mleko. Kao posledica takvog stanja prosečna cena mleka na tržištu Srbije je na znatno nižem nivou u odnosu na cene u razvijenim zemljama zbog nižeg kvaliteta mleka.

Podaci iz slike 3 ukazuju na pozitivnu zavisnost prosečnih cena mleka u 2007. godini u odnosu na veličinu osnovnog stada. Drugim rečima, poljoprivredna gazdinstva sa većim osnovnim stadima, koja proizvode kvalitetnije mleko po kriterijumima Pravilnika o kvalitetu mleka, ostvarivali su veće cene za svoje mleko tokom 2007. godine. Treba napomenuti i da su gazdinstva sa osnovnim stadima manjim od 10 krava ostvarivala značajno niže cene mleka u odnosu na veće proizvođače. Pojedini komercijalni proizvođači, sa osnovnim stadima od 20 i više krava postizali su visoke prosečne cene mleka, što ukazuje na značaj kvalitetnog menadžmenta u proizvodnji mleka.

ZAKLJUČAK

Svetska proizvodnja mleka raste po godišnjoj stopi od 1,85% i uskoro će nadmašiti 700 miliona tona. Najveći doprinos rastu svetske proizvodnje daje proizvodnja kravljeg mleka koja učestvuje sa 84% u ukupnoj strukturi proizvedenog mleka. Proizvodnja mleka u Srbiji je relativno stabilna već duži niz godina, zasnovana je gotovo u celosti na proizvodnji kravljeg mleka i iznosi 0,25% svetske proizvodnje mleka. Loši klimatski uslovi koji su izazvali smanjenje proizvodnje u ključnim zemljama izvoznicama u 2007. godini, procenjeni manjak ponude od 5% i panika na međunarodnom tržištu, pokrenuli su lavinu rasta cena mlečnih proizvoda kakva nije zabeležena u novijoj istoriji.

Međunarodna trgovina mlečnim prerađevinama ima trend smanjenja već nekoliko godina, a prema prognozama takav trend će se nastaviti i u 2008. godini. Pad proizvodnje u zemljama Okeanije (Novi Zeland i Australija) koje daju preko 35% međunarodne ponude mlečnih prerađevina, usled loših vremenskih prilika, imao je presudan efekat na smanjenje ukupne ponude. Smanjena ponuda i visoke cene mlečnih proizvoda usloveli su izvesne promene u strukturi tražnje na svetskom tržištu. Uvozna tražnja za mlečnim proizvodima u razvijenim zemljama je ostala stabilna, dok se u zemljama u razvoju smanjila, delimično i zbog rasta domaće proizvodnje.

Najveći nivo međunarodnih cena mlečnih proizvoda zabeležen je u decembru 2007. godine. Tri osnovna razloga su dovela do rasta cena: iscrpljenost svetskih zaliha mlečnih proizvoda, panika kod najvećih uvoznika i loši klimatski uslovi koji su značajno redukovali proizvodnju i smanjili izvozne mogućnosti kod većeg broja zemalja izvoznica mlečnih proizvoda.

Zakasnela transmisija međunarodnih cena mleka na tržište Srbije tokom 2007. godine ukazuje na niži stepen integrisanosti srpskog tržišta mleka u

međunarodno tržište. Rast troškova proizvodnje mleka koji je počeo već u junu i zadržavanje cena mleka na ranijem nivou sve do septembra 2007. godine, ugrozili su poslovanje svih proizvođača mleka u Srbiji u istom periodu. Nepovoljna tržišna pozicija u odnosu na mlekarsku industriju pojačana je sa dva faktora. Prvi je nepostojanje zadruga proizvođača mleka, a drugi, nedostatak vertikalnih integracija ili, drugim rečima, proizvođači mleka nisu vlasnici ni jedne mlekare u Srbiji (9).

ZAHVALNICA

Zahvaljujem Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije za finansiranje istraživanja prikazanih u ovom radu, a koja su izvedena u okviru projekta TR-20008, Funkcionalni fermentisani mlečni napitak – nova tehnologija.

LITERATURA

1. Fackler P, Goodwin B. (2001), „Spatial price analysis”, Handbook of agricultural economics, volume 1, edited by Gardner B, Rausser G, Elsevier Science, Amsterdam, ISBN 0-444-50729-9

2. FAO, Food Outlook global market analysis, 1 (2008), 42 – 94. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ai466e/ai466e00.pdf>
3. FAO, Trade and Markets, Dairy price index, (2008), http://www.fao.org/es/ESC/en/15/162/highlight_176.html
4. FAOSTAT, last update May 2008.
5. Hemme T, Burchardi H, Wesseling K, Alqaisi O. (2008), "Milk and feed prices", (Ed.) Hemme T, Deeken E, International Farm Comparison Network, 9th IFCN Dairy Conference 2008, page 38 – 46, Kiel, Germany, ISSN 1610-434X, <http://faostat.fao.org/site/569/default.aspx#anchor>
6. Karantininis K, Nilsson J. (Ed.), (2007), Vertical markets and cooperative hierarchies – the role of cooperatives in agri-food industry, Springer, Netherlands, ISBN-10 1-4020-4072-5
7. Popović R. (2006), "Profitabilnost proizvodnje kravljeg mleka u Vojvodini", Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Ekonomski fakultet u Subotici.
8. Popović R. (2008), "Analiza lanca snabdevanja mlekom na tržištu Srbije", Strategijski menadžment, vol. 13, broj 4, str. 63-67, ISSN 0354-8414
9. Popović R. (2008), "Milk production in Serbia", (Ed.) Hemme T, Deeken E, International Farm Comparison Network, 9th IFCN Dairy Conference 2008, page 9 – 14, Kiel, Germany, ISSN 1610-434X
10. Thiele H. (2008), "From dairy commodity prices to farmgate prices", (Ed.) Hemme T, Deeken E, International Farm Comparison Network, 9th IFCN Dairy Conference 2008, page 117 – 121, Kiel, Germany, ISSN 1610-434X

SUMMARY

WORLD MILK MARKET TRENDS AND THEIR EFFECTS ON SERBIAN MARKET

Rade I. Popović

University of Novi Sad, The Faculty of Economics Subotica

Turbulent happenings at the world milk market induced changes of dairy products' supply and demand structures. New trends in world dairy production and trade, and their effects on Serbian market are subjects of research in this paper. Data sources used for this research are: FAO Agriculture statistics database, various national statistics databases and results of research dairy farm economics conducted on sample of commercial family farms.

Key words: milk • market • price • trends • family farms

RADOMIR V. MALBAŠA
SOFIJA Đ. MINIĆ
EVA S. LONČAR
LJILJANA A. KOLAROV

Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 637.146.3:637.146.1:637.05

UTICAJ INOKULUMA KOMBUHE NA KVALITET FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA

Ispitan je kvalitet fermentisanih mlečnih proizvoda dobijenih primenom različitih inokuluma kombuhe, laboratorijski proizvedenih i komercijalnog. Kvalitet proizvoda je upoređen sa probiotskim jogurtom dobijenim od istog mleka.

Dobijeni proizvodi sa kombuhom su u potpunosti senzorno prihvatljivi u odnosu na probiotski jogurt. Sadrže znatno više L-mlečne kiseline, mnogo manje D-mlečne kiseline, veoma malo sirćetne kiseline, nešto više laktoze, a manje D-galaktoze. U svim proizvodima sadržaj D-fruktoze i etanola je neznatan, dok probiotski jogurt sadrži najviše D-glukoze.

Ključne reči: kombuha • fermentisani mlečni proizvodi • probioci • kvalitet proizvoda

UVOD

Smatra se da su fermentisani mlečni proizvodi pronađeni na Srednjem istoku, kao fermentisano mleko, mnogo pre nove ere. Pretpostavlja se da su fermentisane mlečne proizvode slučajno otkrila nomadska plemena, koja su mleko čuvala u vrećama od kozje kože. Visoke temperature, uticaj bakterija i stalno mešanje usled kretanja, doveli su do nastanka prvog jogurta (1).

Fermentisani mlečni napici danas se proizvode širom sveta pod raznim imenima. U Evropi se proizvode jogurt, kiselo mleko, acidofilno mleko, kefir; u Aziji kumis, dahi, karunga; u Africi leben, bongo, kamabele i dr.

Razvoj industrije mleka, kao i svakodnevni progres nauke i tehnološkog razvoja, doveli su do toga da se fermentisani mlečni napici, kao i jogurt, proizvode u strogo kontrolisanim i tehnološki definisanim uslovima, uz korišćenje termofilnih i mezofilnih bakterija mlečne kiseline, kao starter kultura. Jogurtne starter kulture pripadaju rodovima *Streptococcus* and *Lactobacillus*. Ova mikroflora za svoj metabolizam koristi laktozu, koja se preko niza jedinjenja transformiše do mlečne kiseline (2).

Novi prehrambeni proizvodi su koncipirani sa zahtevima o očuvanju i unapređenju zdravlja. Poslednjih godina je posebno značajna funkcionalna hrana. Proizvod se smatra funkcionalnom hranom ako osim nutritivne vrednosti sadrži komponente koje pozitivno deluju na zdravstveno, fizičko i psihičko stanje humanog organizma. Među najznačajnije primere funkcionalne hrane spadaju fermentisani mlečni proizvodi koji sadrže probiotske bakterije i probiote. Fermentisano mleko sadrži brojne mikronutritivne komponente koje, pojedinačno ili u kombinaciji, mogu da utiču na održavanje ili poboljšanje zdravlja čoveka (3).

Kombuha je dobro poznata simbiotska asocijacija kvasaca i bakterija sirćetnog vrenja, koja metaboličkom aktivnošću od crnog čaja zaslađenog saharozom stvara prijatan, blago gaziran nakiseo napitak, koji sadrži brojne nutritivne i farmakološki značajne komponente. Pozitivan uticaj tih kom-

ponenata na zdravlje ljudi su istraživali i u literaturi opisali brojni autori (4-6).

Aktivnost kombuhe na saharozu je prilično dobro istražena (4-6) i određene su glavne putanje konverzije saharoze u brojne produkte. Osim saharoze, moguća je primena i drugih šećera, kao što su laktoza, glukoza i fruktoza. To dovodi do manjeg uticaja na senzoriku fermentisanog proizvoda, dok je bitan uticaj na stvaranje etanola i mlečne kiseline (7). Iako je utvrđena mogućnost fermentacije kombuhe na laktozi (7), nije urađeno mnogo dodatnih istraživanja vezanih za ovaj izvor ugljenika. Lončar i sar. (8) su utvrdili metaboličku aktivnost kombuhe na mleku, dok su Bellos-Morales i Hernández-Sánchez (9) objavili rad o proizvodnji napitka od kombuhe iz surutke.

Osim što je utvrđena metabolička aktivnost kombuhe na mleku kada se ono inokulira fermentativnom tečnošću od prethodne fermentacije (8), utvrđeno je da se mleko može inokulisati i koncentrovanim inokulumom (10).

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj različitih inokuluma kombuhe, kako laboratorijski proizvedenih, tako i komercijalnog, na kvalitet fermentisanih mlečnih proizvoda. Radi poređenja, sa istim mlekom je proizveden probiotski jogurt. U dobijenim proizvodima su određivani sadržaj laktoze, D-galaktoze, D-glukoze, D-fruktoze, D- i L-mlečne i sirćetne kiseline, kao i etanola.

Adresa autora:
Doc. dr Radomir Malbaša, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet
Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad
tel: 021/485-3645; fax: 021/450-413
e-mail: bingula@yahoo.com

MATERIJAL I METOD RADA

Inokulumi

Za inokulaciju su korišćeni:

- Probiotska starter kultura – Delvo-Yog MY-721, proizvođača DSM FOOD SPECIALITES, Holandija.
- Koncentrovani inokulum kombuhe – kultivacija kombuhe na supstratu sa saharozom, koncentracije 70 g/L, uz dodatak crnog čaja, 1,5 g/L. U ohlađen čaj je dodato 10% (v/v) nativnog inokuluma, fermentativne tečnosti, iz prethodne fermentacije. Inkubacija na 29,5°C je trajala 7 dana. Nakon toga je fermentativna tečnost, suve materije 6,5%, koncentrisana uparavanjem pod vakuumom (40°C) do sadržaja suve materije od 64%. Tako dobijen koncentrat je korišćen kao inokulum.
- Kombucha kapsule – dijetetski dodatak ishrani obogaćen vitaminima C i E i β-karotenom, proizvođača Dr. Forster, GmbH, Neu Isenburg, Nemačka. Sadržaj kapsule, koja je sadržavala suvi ekstrakt kombuhe, korišćen je kao inokulum.

Proizvodnja fermentisanih mlečnih napitaka

Za proizvodnju fermentisanih mlečnih napitaka u laboratorijskim uslovima korišćeno je pasterizovano, homogenizovano mleko sa 0,9% mlečne masti, proizvođača Novosadska mlekar, Novi Sad.

Kontrolni jogurt, označen *Kontr.*, je proizveden uz korišćenje 0,005% starter kulture. Fermentacija je izvede-

na na 42°C do postizanja pH od 4,5. Gel je potom hlađen na temperaturu od 8°C i homogenizovan mešalicom. Tri fermentisana mlečna napitka od kombuhe proizvedena su po istom postupku kao i kontrolni jogurt, uz dodatak 1,5 i 3% (v/v) koncentrovanog inokuluma kombuhe (uzorci K-1,5% i K-3%, redom), odnosno 0,12% (v/v) kombuha kapsule (uzorak K-0,12%). Proizvodnja je ponovljena u dve serije.

Metode analize

Različiti sastojci fermentisanih mlečnih napitaka su određivani pomoću specifičnih enzimskih testova, Megazyme, Irska: D-mlečna i L-mlečna kiselina (K-DLATE 11/05), sirćetna kiselina (K-ACET 11/05), laktoza i D-galaktoza (K-LACGAR 12/05), D-fruktoza i D-glukoza (K-FRUGL 11/05) i etanol (K-ETOH 03/06). Analize se praktično izvedene prema uputstvu proizvođača, a sadržaj proizvoda reakcije je meren spektrofotometrijski.

REZULTATI I DISKUSIJA

Na osnovu ocene dva kvalifikovana i četiri nasumično odabrana ocenjivača, proizvedeni fermentisani mlečni napici su ocenjeni kao senzorno potpuno prihvatljivi, sa sličnim ili tek nešto nižim kvalitetom u odnosu na probiotski jogurt. U njima je određen sadržaj D- i L-mlečne i sirćetne kiseline, D-glukoze, D-fruktoze, laktoze, D-galaktoze i etanola. Rezultati su prikazani u tabelama od 1-3.

Prema rezultatima (tabele 1-3) može se uočiti da je ponovljivost dve

serije fermentacija prilično dobra. Postoje izvesna odstupanja, kao što je npr. sadržaj L-mlečne kiseline kod uzorka K-1,5%, druge serije, koji je nešto niži od očekivanog. Osim toga, niži je i sadržaj D-fruktoze kod istog uzorka, iste serije (tabela 2).

U probiotskom jogurtu (tabela 3) uočljiv je približno jednak sadržaj D- i L-mlečne kiseline. Kod uzoraka proizvedenih fermentacijom kombuhe (tabele 1 i 2), sadržaj L-mlečne kiseline je značajno viši u odnosu na sadržaj D-mlečne kiseline. U zbiru sadržaja D- i L-mlečne kiseline kod uzorka K-1,5% i K-3%, uočava se vrednost slična zbiru sadržaja D- i L-mlečne kiseline kao kod probiotskog jogurta. Kod uzorka K-0,12% je ovaj zbir i veći, i to zbog višeg sadržaja L-mlečne kiseline, koji u proseku iznosi 0,958 g/100g. Viši sadržaj L-mlečne kiseline u uzorcima proizvoda fermentisanih kombuhom je izuzetno bitan i veoma koristan za kvalitet ovako proizvedenih napitaka. L-mlečna kiselina je veoma važna za prevenciju kancera. Krv, mišići i želudac sadrže L-mlečnu kiselinu i ona je neophodna za regulaciju pH krvi u organizmu. Postoje dva oblika mlečne kiseline, "dobra" ili L-mlečna, odnosno "loša" ili D-mlečna kiselina. L-mlečna kiselina potpomaže cirkulaciju krvi, sprečava truljenje u crevima i konstipaciju, podstičući rad creva. Utiče na kiselinsko-baznu ravnotežu i podržava dejstvo vitamina C u organizmu, čime je ojačana prirodna rezistencija na infekcije. Takođe podstiče funkciju pankreasa, što stimuliše sekreciju svih digestivnih organa (11). Nedostatak L-mlečne kiseline u organizmu otežava respirira

Tabela 1. HEMIJSKI SASTAV FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA OD KOMBUHE (SERIJA 1)

Table 1. CHEMICAL COMPOSITION OF MILK-BASED BEVERAGES OBTAINED BY KOMBUCHA (SERIE 1)

Uzorak	Komponenta (g/100g)							
	D-mlečna kiselina	L-mlečna kiselina	Sirćetna kiselina	Laktoza	D-galaktoza	D-glukoza	D-fruktoza	Etanol
K-1,5%	0,025	0,604	0,004	3,42	0,47	0,119	0,046	0,0044
K-3%	0,006	0,680	0,014	3,31	0,37	0,390	0,319	0,0013
K-0,12%	0,035	1,007	0,003	3,02	0,82	0,025	0,032	0,0014

Tabela 2. HEMIJSKI SASTAV FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA OD KOMBUHE (SERIJA 2)

Table 2. CHEMICAL COMPOSITION OF MILK-BASED BEVERAGES OBTAINED BY KOMBUCHA (SERIE 2)

Uzorak	Komponenta (g/100g)							
	D-mlečna kiselina	L-mlečna kiselina	Sirćetna kiselina	Laktoza	D-galaktoza	D-glukoza	D-fruktoza	Etanol
K-1,5%	0,091	0,256	0,001	3,33	0,55	0,202	0,006	0,0040
K-3%	0,005	0,650	0,013	3,24	0,41	0,420	0,202	0,0046
K-0,12%	0,093	0,908	0,004	3,16	0,73	0,023	0,067	0,0020

Tabela 3. HEMIJSKI SASTAV PROBIOTSKOG JOGURTA (SERIJE 1 I 2)

Table 3. CHEMICAL COMPOSITION OF PROBIOTIC YOGHURT (SERIES 1 AND 2)

Uzorak	Komponenta (g/100g)							
	D-mlečna kiselina	L-mlečna kiselina	Sirćetna kiselina	Laktoza	D-galaktoza	D-glukoza	D-fruktoza	Etanol
Kontr. Serija 1	0,31	0,32	0,0076	2,40	0,82	0,55	0,056	0,0001
Kontr. Serija 2	0,29	0,28	0,0091	2,54	0,88	0,51	0,0063	0,0002

ciju ćelija, što dovodi do stvaranja racemske smeše L- i D-mlečne kiseline, a to su uslovi koji pogoduju stvaranju kancerogenih ćelija (12).

U fermentaciji kombuhe sirćetna kiselina nastaje iz etanola, koga u sirćetnu kiselinu prevode bakterije sirćetnog vrenja. Iako su u simbiozi kombuhe sirćetne bakterije veoma značajne, zapaža se da prilikom fermentacije kombuhe na mleku nastaje veoma mali sadržaj sirćetne kiseline (tabele 1 i 2). Verovatni razlozi leže u tome što je fermentacija na mleku mnogo kraća u odnosu na fermentaciju kombuhe na crnom čaju sa saharozom, a da je sirćetnim bakterijama potreban duži period za adaptaciju. Osim toga, uočava se da je, što se tiče kiselinske fermentacije, metabolizam kombuhe na laktozi kao primarnom šećeru u mleku, pomećen u pravcu nastajanja L-mlečne kiseline.

Sadržaj laktoze u odnosu na D-galaktozu u uzorcima probiotičkog jogurta je uobičajen (1), odnosno oko tri puta veći (tabela 3). U uzorcima fermentisanih mlečnih proizvoda proizvedenih kombuhom ovaj odnos je od 3,5 do 9 puta veći, naročito u uzorcima K-1,5% i K-3%. U uzorcima K-0,12% taj odnos je od 3,5 do 4 puta veći nego kod probiotičkog jogurta (tabele 1 i 2). Očigledno je da se fermentacijom kombuhe na mleku sa 0,9% mlečne masti sporije fermentiše laktoza u poređenju sa probiotičkom kulturom, pa otud i viši sadržaj, ali ta vrednost je svakako prihvatljiva, jer nije mnogo veća u odnosu na probiotički jogurt.

D-glukoza i D-fruktoza su monosaharidi koji uobičajeno nastaju fermentacijom kombuhe na crnom čaju zaslađenom saharozom (4-6). Takođe, tokom fermentacije probiotičke kulture na mleku nastaje izvesna količina D-glukoze i neznatna količina D-fruktoze, što se i vidi iz rezultata u tabeli 3. Najniži sadržaj ovih monosaharida je u uzorcima K-0,12%, nešto viši u K-1,5%, a najviši u K-3% uzorcima. Kod uzoraka K-3% je jasno da je znatno viši sadržaj D-glukoze i D-fruktoze posledica njihovog prisustva u samom

inokulumu, odnosno najviše se ovih šećera i unese u supstrat, a tokom fermentacije se ne razgrađuju u potpunosti. Najniži sadržaj u uzorcima K-0,12% ne može se sa sigurnošću objasniti. Moguće je da je tokom proizvodnje kombuha kapsula proizvođač želeo proizvod bez ovih šećera, jer na deklaraciji proizvoda nije naveden sastav ugljenih hidrata.

Za mikrobiološki nastanak etanola je karakteristična anaerobna fermentacija. Procesi fermentacije kombuhe i probiotičke kulture u mleku su, kako je i tipično, rađeni aerobno, pa se i nije očekivao neki veći sadržaj etanola. Za fermentaciju kombuhe je to još manje očekivano, jer kako je već navedeno, etanol stvaraju kvasci, a bakterije ga prevode u kiseline. Bez obzira na pomenute činjenice, dobro je prekontrolisati sadržaj ovog metabolita u gotovom proizvodu koji, uz odrasle, konzumiraju i deca. Rezultati (tabele 1-3) pokazali su da je u svim proizvodima sadržaj etanola neznatan, odnosno detektovan je samo zahvaljujući veoma osetljivoj enzimskoj analitičkoj metodi.

ZAKLJUČAK

Proizveden je niskoenergetski fermentisani mlečni proizvod od mleka sa 0,9% mlečne masti korišćenjem koncentrovanog inokuluma simbiotske kulture kombuhe i probiotičke jogurtne kulture.

Kod uzoraka proizvedenih fermentacijom kombuhe, sadržaj L-mlečne kiseline je značajno viši u odnosu na sadržaj D-mlečne kiseline, a najviši je u uzorcima proizvedenim kombuha kapsulama (K-0,12%) i prosečno iznosi 0,958 g/100g.

Metaboličkom aktivnošću kombuhe na mleku sporije se fermentiše laktoza u poređenju sa probiotičkom kulturom, ali je njen sadržaj svakako prihvatljiv, jer nije mnogo veći u odnosu na probiotički jogurt.

Fermentisani napici sadrže izvesne količine D-glukoze i D-fruktoze. Najniži sadržaj ovih šećera je u uzorcima K-0,12%, nešto viši u K-1,5%, a

najviši u K-3% uzorcima, i zavisi od porekla i količine inokuluma.

U senzornom potpuno kvalitetnim fermentisanim mlečnim proizvodima, proizvedenim fermentacijom kombuhe, sadržaj etanola je bio neznatan.

ZAHVALNICA

Zahvaljujemo Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije za finansiranje istraživanja prikazanih u ovom radu, a koja su izvedena u okviru projekta TR-20008, Funkcionalni fermentisani mlečni napitak – nova tehnologija.

LITERATURA

- Tamime, A. Y., Robinson, R. K. (2004): Yoghurt-Science and Technology, Pergamon Press, Oxford, England.
- Carić, M. (1997): Savremeni razvoj tehnologije fermentisanih mlečnih proizvoda u monografiji: Kvalitet mleka i fermentisanih proizvoda, Jugoslovenski mlečarski simpozijum, Zlatibor, 26-55.
- Obradović, D., Ristić, G., Karić, A. (2000): Bifidobakterije – značaj i uloga, Prehrambena industrija – Mleko i mlečni proizvodi 11 (3-4), 28-32.
- Dufresne, C., Farnworth, E. (2000): Tea, Kombucha and health: A review, Food Research International 33, 409-421.
- Greenwalt, C. J., Ledford, R.A., Steinkraus, K. H. (1998): Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombucha. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 31, 291-296.
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., Swaminathan, K. (2007): Changes in content of organic acids and tea polyphenols during Kombucha tea fermentation. Food Chemistry 102, 392-398.
- Reiss, J. (1994): Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus, Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung 198, 258-261.
- Lončar, E., Milanović, S., Carić, M., Malbaša, R., Panić, M. (2001): Metabolička aktivnost čajne gljive u mleku, Prehrambena industrija – Mleko i mlečni proizvodi 12 (1-2), 13-17.
- Belloso-Morales, G., Hernández-Sánchez, H. (2003): Manufacture of a beverage from cheese whey using "tea fungus" fermentation, Revista Latinoamericana de Microbiología 45 (1-2), 5-11.
- Milanović, S., Carić, M., Lončar, E., Panić, M., Malbaša, R., Dobrić, D. (2002): Primena koncentrata čajne gljive u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka, Prehrambena industrija – Mleko i mlečni proizvodi 13 (1-2), 8-13.
- Kaufmann, K. (1996): Kombucha Rediscovered, Alive Books, Canada.
- Frank, G. W. (1995): Das Teepilz-Getränk, Ennsthaler Verlag, A-4402 Steyr.

SUMMARY

INFLUENCE OF INOCULUM OF KOMBUCHA ON QUALITY OF FERMENTED DAIRY PRODUCTS

Radomir V. Malbaša, Sofija Đ. Minić, Eva S. Lončar, Ljiljana A. Kolarov

University of Novi Sad, Faculty of Technology

Quality of fermented dairy products obtained by different kombucha inoculums was researched. Quality of products was compared with probiotic yoghurt produced from the same milk.

Products obtained from kombucha were completely acceptable from the aspect of their sensory characteristics, in comparison with probiotic yoghurt. They contained significantly more L-lactic acid, and less D-lactic acid. Differences in lactose and D-galactose contents were minor. All products had insignificant amount of ethanol and D-fructose, while probiotic yoghurt contained the highest amount of D-glucose.

Key words: kombucha • fermented dairy products • probiotics • product quality

¹MILKA J. STIJEPIĆ
¹JOVANA R. GLUŠAČ
²DRAGICA M. MILOŠEVIĆ –
 ĐURĐEVIĆ

¹Visoka medicinska škola, Prijedor,

²Visoka tehnološka škola
 strukovnih studija, Šabac

NAUČNI RAD

UDK: 637.146:636.39:637.05:637.133

UTICAJ TEMPERATURE TERMIČKE OBRADJE SVJEŽEG KOZJEG MLIJEKA I DODATKA INULINA NA KVALITET PROBIOTIČKOG JOGURTA

U radu je ispitan uticaj temperature termičke obrade i dodatka inulina na neke fizičko-hemijske osobine dobijenog probiotičkog napitka. Fermentisani napitak je proizveden od punomasnog kozjeg mlijeka termički obrađenog na 85°C 10 minuta i 95°C 5 minuta s dodatkom 1,5 i 3% inulina. Proizvedeni su i kontrolni uzorci kome nije dodan inulin. Za inokulaciju upotrijebljena je miješana bakterijska kultura sastavljena od *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgarius*.

Tokom 28 dana skladištenja praćene su promjene pH vrijednosti, stepena kiselosti, viskoziteta, sinereze i senzorskih svojstava.

Ispitivanja su pokazala da dodatak inulina, kao i prethodni termički tretman mlijeka, imaju uticaja na fizičko-hemijske i organoleptičke osobine gotovog proizvoda.

Vidljiv je veći pad pH-vrijednosti prvih sedam dana čuvanja u svim ispitivanim uzorcima, dok se u kasnijem periodu pH nije bitnije mijenjala.

Titraciona kiselost pokazuje kontinuirani blagi porast vrijednosti tokom cjelokupnog vremena skladištenja.

Na povećanje viskoziteta proizvoda većeg uticaja je imao termički tretman mlijeka nego dodatak inulina.

Senzorska analiza je pokazala da dodatak inulina daje kremastu strukturu proizvodu, te kozjem jogurtu ublažava karakterističan ukus.

Gljučne riječi: kozje mlijeko • probiotik • inulin • termička obrada • viskoznost • sinereza • senzorska svojstva

UVOD

Upotreba bakterija u modifikovanju sastava i senzornih i reoloških karakteristika mlijeka traje već nekoliko vijekova. Fermentisani mliječni proizvodi imaju dugu tradiciju upotrebe, posebno u podnebljima gdje su kod stanovništva prisutni nedostatak enzima β -galaktozidaze i laktozna intolerancija. Međutim, tek u novije vrijeme, zahvaljujući intenzivnom razvoju mlijebarske industrije, otvorila se mogućnost za proizvodnju širokog asortimana i velike raznovrsnosti kiselomliječnih proizvoda kojima je produžena trajnost sa boljim fiziološkim svojstvima i poboljšanim kvalitetom.

Svojstva fermentisanih mliječnih proizvoda zavise od niza proizvodnih faktora: vrste i fizičkih osobina korištenog mlijeka, njegovog hemijskog sastava, upotrijebljene mikrobiološke kulture, primijenjenog termičkog tretmana, temperature fermentacije, sadržaja i sastava proteina itd.

Termička obrada mlijeka namijenjenog za proizvodnju kiselo-mliječnih napitaka jedan je od primarnih procesnih parametara koji utiču na stvaranje grušca i kvalitet samog proizvoda (Mulvihill & Grufferty, 1995; O'Kennedy & Kelly, 2000). Smatra se da nedovoljni termički tretman mlijeka rezultira nastajanjem mekanijeg grušca koji lako otpušta surutku (Kessler, 1998), dok prejaki termički tretmani imaju za posljedicu nastajanje grušca zrnaste strukture koji takođe otpušta surutku (Schmidt & Morris, 1984).

Primjena oštrijeg režima toplotne obrade mlijeka, na temperaturama višim od 70 °C u dužem vremenskom razdoblju, može uticati na hemizam i

stvaranje kompleksa između kazeina i serum proteina – koagregata proteina mlijeka (Mačej, Jovanović & Barać, 2007), što znatno može uticati na hidrofилna svojstva proteina i konzistenciju jogurta (Rašić & Kurmann, 1978; O'Kennedy & Kelly, 2000). Preporučuju se takvi termički tretmani koji će izazvati denaturaciju 70-95% serum proteina. Smatra se da je vrijednost temperature od 95°C u roku 5 minuta optimalna za toplotni tretman mlijeka i dobre osobine jogurta (Benezech & Maingonnat 1994), kao i termički tretmani na 80-85°C u trajanju 20-30 min. (Tamime & Deeth, 1980). Međutim, sam mehanizam termičkog tretmana na proizvodnju i svojstva jogurta još nije potpuno razjašnjen.

Fermentacija mlijeka provodi se pomoću bakterija mliječne kiseline *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* koje su sposobne da konvertuju laktozu u mliječnu kiselinu. U proizvodnji fermentisanih mliječnih proizvoda posebno se ističu prednosti upotrebe probiotičkih kultura koje pozitivno djeluju na zdravlje pojedinca, a koje sadrže bakterije *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* sp.

Dodatno, radi povećanja korisnih bakterija u probavnom sistemu uvode se prebiotici, od kojih je do sada najbolje istražen inulin - neprobavljivi šećer koji služi kao supstrat za razmnožavanje bifidobakterija.

Kombinovana primjena probiotičkih bakterija i prebiotičkih supstrata potiče aktivnost autohtonih i unesenih probiotičkih bakterija u intestinalnom sistemu (Frece, 2007).

Osim toga, iako bez dovoljno istraženih mogućnosti, u svijetu je zapa

Adresa autora:

Mr Milka J. Stijepić, Visoka medicinska škola
 Nikole Pašića 4a, 52 000 Prijedor tel.: 0038752/
 242 380; faks: 0038752/ 242 381

žen porast proizvodnje i ponude proizvoda od kozjeg mlijeka, zbog sastojaka veće nutritivne vrijednosti, bolje probavljivosti (Caponio, Gomes, Alloggio & Pasqualone, 2000), većeg puferkog kapaciteta kozjeg mlijeka u odnosu na kravlje, te jače izraženih baktericidnih, imunoloških i antialergijskih karakteristika (Park, 2000). Kozji jogurt ima znatno manju viskoznost, nježniji sastav i oštiri ukus, slabije otpušta surutku, a razvoj kiseline je brži i jači u poređenju s jogurtom od kravljeg mlijeka.

Iako se inulin već uveliko primjenjuje u proizvodnji svježeg sira, jogurta, fermentisanih mlijeka, mliječnih napitaka i dr. (Franck, 1998), u svijetu gotovo da i nema radova o njegovoj primjeni u proizvodnji fermentisanih napitaka od kozjeg mlijeka.

Svrha ovog rada bila je da se istraži uticaj različitih uslova termičkog tretmana i dodatog prebiotika inulina na neka fizičko-hemijska i senzorska svojstva probiotičkog kozjeg jogurta.

MATERIJAL I METODI

Od osnovnih parametara kvaliteta mlijeka određeni su osnovni sastojci, kiselost i gustina mlijeka. Sirovom kozjem mlijeku određen je hemijski sastav aparatom LactoScan (Micotronic LTD, Made in Europe), a gustina laktodenzimetrom. Određena je i aktivna i titraciona kiselost. Mlijeko je zatim podijeljeno u 6 dijelova po 1000 ml, te 3 uzorka pasteurizovana na 85°C/10 min i 3 na 95°C/5 minuta, a zatim djelimično ohlađeni na 55°C.

U uzorke je dodat inulin.

Na 85°C/10min dodato je:

- 3% inulina
- 1,5% inulina
- bez inulina (kontrolni uzorak)

Na 95°C/5 min dodato je:

- 3% inulina
- 1,5% inulina
- bez inulina (kontrolni uzorak)

Mlijeko sa dodatim i bez dodatog inulina dalje je ohlađeno do temperature fermentacije, te inokulisano sa 2% inokuluma. Svaki uzorak razdijeljen je u 5 sterilnih erlenmajer tikvica od 200 ml i fermentisan u inkubatoru na 37°C u roku 16 sati. Za inokulaciju kozjeg mlijeka upotrijebljena je kultura YO FAST 88, ABY3 (*Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*).

Nakon završene fermentacije, proizvedeni uzorci su ohlađeni u vrlo hladnoj vodi, te čuvani 28 dana u frižideru na +5°C u kontrolisanim uslovima. Dinamika izvođenja analiza je 0., 7., 14., 21. i 28. dana skladištenja, a uzimani uzorci su i temperisani na temperaturu od 20°C, odnosno na 25°C za mjerenja pH.

Mjerenje viskoziteta vršeno je pomoću BROOKFIELD Digital Viscometer, Model DV-E. Korišten je simetrični rotacijski mjerni sistem kod kojeg mjerno tijelo rotira, a posuda je fiksirana. Mjerene su promjene viskoziteta tokom definisanog vremena od 3 minute pri brzini rotacije spindla (Ø4) od 30 obrt/min. Vrijednosti su očitavane svakih 30s, a u radu su korištene srednje vrijednosti viskoziteta izmjerene u toku 3 minute.

Za određivanje intenziteta sinereze koristila se centrifuga SIGMA 2-6 Laboratory Centrifuges. Uzorci su podvrgnuti različitim brzinama obrtaja od 1500 i 3000 o/min u trajanju od 10 minuta.

pH vrijednost mjerena je pH-metrom (EUTECH pH 510/mV Meter).

Titraciona kiselost određivana je metodom po Soxhlet – Henkel-u (Carić, Milanović & Vucelja, 2000).

Senzorska svojstva su ocijenjena od strane četiri senzorska analitičara

prema sistemu bodovanja na bazi faktora vaganja sa ukupno 20 bodova (ISO, 1985). Rezultati senzorske analize su prikazani kao srednja vrijednost ispitivanih uzoraka. Rezultati su obrađeni u programu Microsoft® Excel 2003.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati analize fizičko-hemijskog sastava svježeg kozjeg mlijeka korištenog za proizvodnju probiotičkog napitka prikazani su u tabeli 1.

Na osnovu tabele 1, sadržaj bezmasne suve materije je nešto manji nego što je predviđeno „Pravilnikom o kvalitetu i drugim zahtevima za mleko, mlečne proizvode, kompozitne mlečne proizvode i starter kulture“ (Službeni list SRJ, Br.26/2002), vjerovatno kao posljedica manjeg sadržaja laktoze. Ostali fizičko-hemijski parametri svježeg mlijeka bili su u propisanim granicama.

Toplotna obrada mlijeka je jedan od najbitnijih faktora koji utiču na hemizam, stvaranje strukture koaguluma i konzistenciju fermentisanog proizvoda (Rašić & Kurmann, 1978; O’Kennedy & Kelly, 2000). Takođe, inulin, kao prebiotik, podstiče rast bifidobakterija (Roberfroid, Van Loo, Gibson & 1998) koje, za razliku od jogurtne kulture, vrlo sporo proizvode mliječnu kiselinu i sporo se adaptiraju za rast u mlijeku.

Praćenjem pH, titracione kiselosti, viskoziteta, intenziteta sinereze, te organoleptičkih svojstava, pokušala se utvrditi povezanost svih parametara kvaliteta s uticajem različitih uslova termičkog tretmana i učešća dodatog inulina.

Međutim, u procesu kiseljenja postoji odgovarajući odnos između titracione kiselosti i pH, jer produkti fermentacije, prije svega mliječna kiselina, uslovljavaju pad pH vrijednosti i porast stepena kiselosti (Kršev, 1989). pH vrijednost, tokom skladištenja, najviše je opala u kontrolnom uzorku bez dodatka inulina (mlijeko tretirano sa 85°C 10 minuta) za 0,24 pH jedinice, a uzorci sa 1,5% inulina uz termičke tretmane mlijeka na 95°C 5 min. i 85°C 10 min. pokazali su najmanje promjene i pad pH za 0,06, odnosno 0,08 pH jedinica (slika 1, a,b,c). Rezultati titracione kiselosti (slika 2, a,b,c) su u odgovarajućoj korelaciji s pH.

Tabela 1. FIZIČKOHEMIJSKI PARAMETRI SVJEŽEG KOZJEG MLIJEKA
Table 1. PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF RAW GOAT MILK

	Uzorak/Sample
pH vrijednost / pH value	6,7
Kiselost / Acidity (°SH)	6,2
Gustoća / Density (g/cm ³)	1,028
Mliječna mast / Milk fat (%)	3,64
Proteini / Proteins (%)	3,13
Laktoza/Lactose (%)	4,06
Suva materija / Total solids (%)	11,67
Bezmasna suva mat. / Solids not	8,03

Vrijednosti uzoraka sa dodatkom 3% inulina bile su nešto više za pH i niže za titracionu kiselost, u odnosu na ostale uzorke na oba termička tretmana mlijeka, što nije u skladu sa literaturnim podacima, s obzirom na stimulaciju inulina na rast probiotičkih kultura. Vidljiv je nešto veći pad aktivne i rast titracione kiselosti prvih 7 dana čuvanja kod svih uzoraka, što se može objasniti naknadnom aktivnošću bakterijskih kultura i nakon završene fermentacije. Najniže pH vrijednosti imali su kontrolni uzorak kome nije dodan inulin, a čije je ishodno mlijeko tretirano na 85°C 10 minuta (slika 1,a) i uzorak dobijen iz terminiziranog mlijeka na 95°C 5 minuta sa dodatkom 1,5% inulina (slika 1,b).

Prethodni termički tretman mlijeka imao je uticaja na kiselost uzoraka (slika 1,c,d, slika 2,c,d).

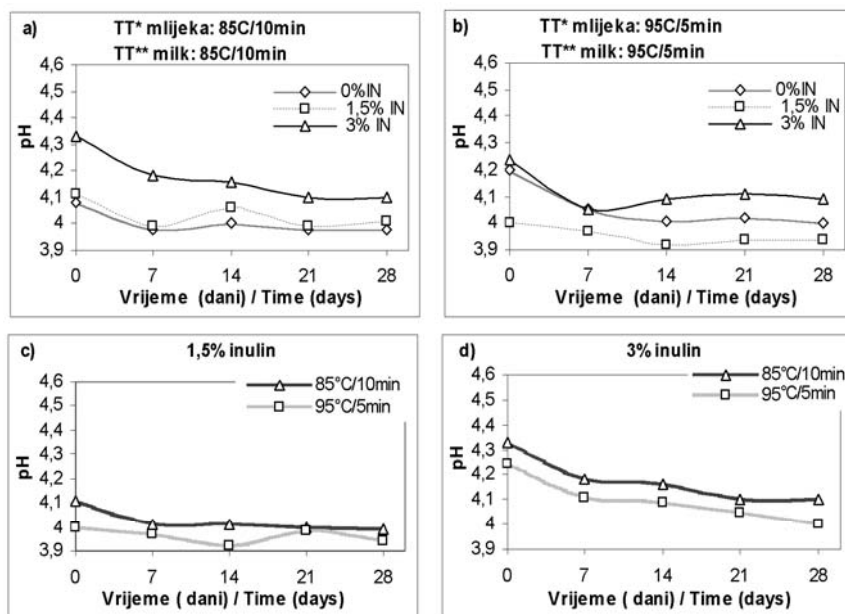
Tako, uzorci koji su dobijeni iz mlijeka koje je podvrgnuto temperaturi 85°C 10 minuta imali su više vrijednosti pH i nižu kiselost, bez obzira na procenat dodatog inulina.

U uzorcima sa 1,5% inulina (slika 1,c), čije mlijeko je tretirano sa 85°C 10 minuta, uočavaju se blaže oscilacije pH vrijednosti tokom skladištenja, dok u uzorku čiji je tretman mlijeka bio 95°C 5 minuta, od 7. dana čuvanja gotovo da i nije bilo promjena u pH vrijednosti. Titraciona kiselost (slika 2,c) prati ove vrijednosti pH. Uzorci sa 3% inulina (slika 1,d), u odnosu na termički tretman mlijeka, imaju međusobno gotovo proporcionalno opadanje pH vrijednosti i rasta kiselosti (slika 2,d).

Za određivanje intenziteta sinereze korištena je centrifuga SIGMA 2-6 Laboratory Centrifuges.

Stabilnost teksture fermentisanih mliječnih napitaka vezana je za sposobnost vezivanja i zadržavanje vode unutar rešetke Ca-kazeinata i može se izraziti stepenom sinereze.

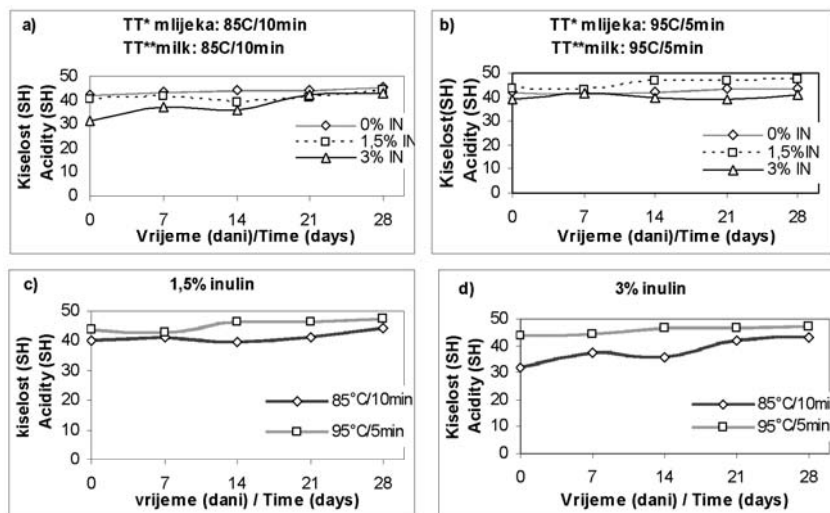
Promjene intenziteta sinereze u ovim ispitivanjima vršene su pri 1500 i 3000 o/min. u roku od 10 minuta. O djelovanje inulina na stabilnost gruša fermentisanih mliječnih proizvoda ima vrlo malo pisanih radova. Po nekim autorima (Božanić, Rogelj, & Tratnik, 2002), sa povećanim učešćem inulina smanjuje se intenzitet sinereze, dok Gueven, Yasara, Karaca and Hayaoglu (2005) smatraju da je 1–1,5% inulina optimalna vrijednost za dobre fizičko-hemijske i organoleptičke karakteristike proizvoda, a da veći dodatak ovog prebiotika uzrokuje izdvajanje surutke.



TT*-Termički tretman / TT**-Thermal treated

Slika 1: Promjene pH vrijednosti tokom čuvanja probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka u zavisnosti od termičkog tretmana mlijeka i dodatka inulina (IN)

Figure 1: Changes of pH value during storage of probiotic yoghurt made from goat's milk depending on thermal treatments of milk and inulin addition (IN)



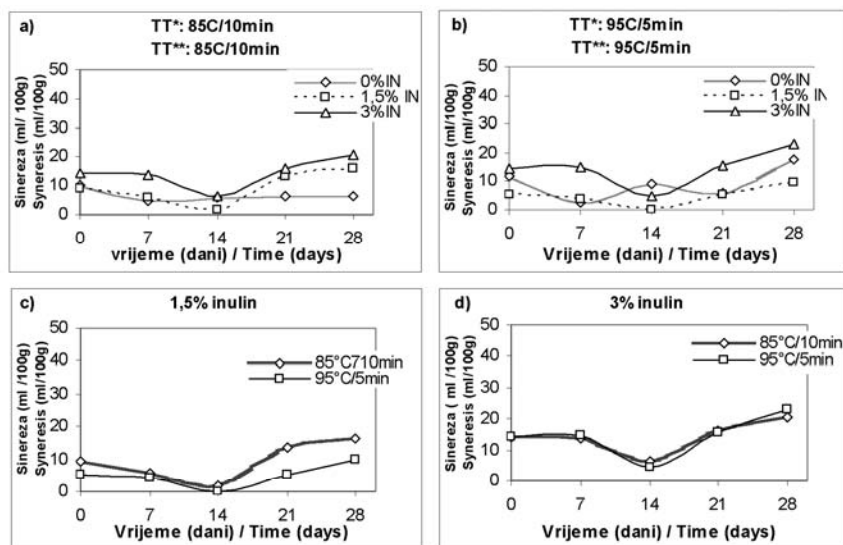
TT*-Termički tretman / TT**-Thermal treated

Slika 2: Promjene titracione kiselosti tokom skladištenja probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka u zavisnosti od termičkog tretmana mlijeka i dodatka inulina (IN)

Figure 2: Changes of titratable acidity during storage of probiotic yogurt made from goat's milk depending on thermal treatments of milk and inulin addition (IN)

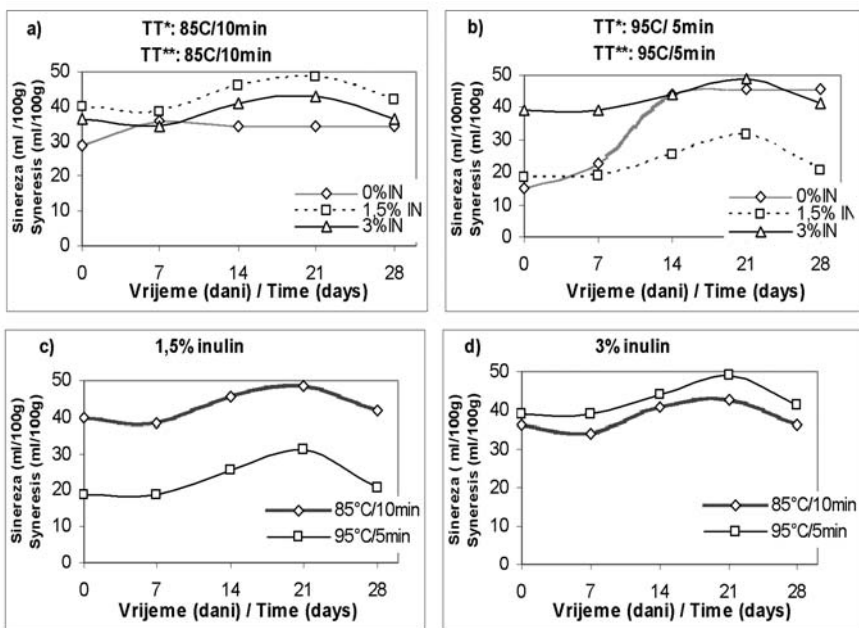
Iz podataka o intenzitetu sinereze pri 1500 o/min. (Slika 3,a,b), vidljivo je da uzorci sa dodatkom 3% inulina jače otpuštaju surutku, te imaju znatno veće promjene intenziteta sinereze u odnosu na ostale uzorke (bez inulina i sa 1,5% inulina). Na oba termička tretmana mlijeka (85°C /10 min, 95°C/5 min) zabilježeno je opadanje sinereze do 14. dana skladištenja, da bi se da-

lje do 28. dana pojačalo izdvajanje surutke. Jedan od razloga intenzivnijeg izdvajanja surutke u uzorku sa 3% inulina (termički tretman mlijeka 85°C /10 min) može biti zbog niže kiselosti tog uzoraka, u odnosu na kiselost ostalih uzoraka u momentu prekida fermentacije (slika 2).



TT*-Termički tretman / TT**-Thermal treated

Slika 3: Intenzitet sinereze probiotičkog kozjeg jogurta tokom čuvanja u zavisnosti od termičkog tretmana mlijeka i dodatka inulina (IN) pri centrifugiranju na 1500 obrtaja u minuti
 Figure 3: Intensity of syneresis of probiotic yoghurt made from goat's milk depending on thermal treatments of milk and inulin addition (IN) centrifuged on 1500 speed in 10 minutes, during storage



TT*-Termički tretman / TT**-Thermal treated

Slika 4: Intenzitet sinereze probiotičkog kozjeg jogurta tokom čuvanja u zavisnosti od termičkog tretmana mlijeka i dodatka inulina (IN) pri centrifugiranju na 3000 obrtaja u minuti
 Figure 4: Intensity of syneresis of probiotic yoghurt made from goat's milk depending on thermal treatments of milk and inulin addition (IN) centrifuged on 3000 speed in 10 minutes, during storage

Najniži intenzitet sinereze pokazali su uzorci sa dodatkom 1,5% inulina, bez obzira na termički tretman mlijeka. Tokom skladištenja uzoraka zapaža se, takođe, pad vrijednosti intenziteta sinereze gdje 14. dana gotovo i

nije bilo izdvajanja surutke (slika 3a i 3b). U daljem periodu praćenja vrijednosti, do kraja skladištenja bilježi se povećanje intenziteta sinereze. Zanimljivo je da je tokom cjelokupnog vremena čuvanja proizvoda, najstabil-

niji gruša i najmanje oscilacije u sinerezi pokazao kontrolni uzorak, bez dodatka inulina, čije je ishodno mlijeko tretirano na 85°C 10 minuta (slika 3,a).

Za fermentisani proizvod, sa najboljim karakteristikama, neophodno je odabrati odgovarajuću kombinaciju visine temperature i vremena njenog delovanja. Smatra se da je vrijednost temperature od 95°C u roku 5 minuta optimalna za toplotni tretman mlijeka i dobre osobine jogurta (Dannenberg & Kessler 1988; Benezech & Maingonnat 1993), kao i termički tretmani na 80–85°C u trajanju 20 do 30 min (Tamime & Deeth, 1980).

Analizirajući rezultate uzoraka koji su termički različito tretirani (slika 3,c,d), uočljive su gotovo identične vrijednosti intenziteta sinereze u uzorku sa 3% inulina, na oba termička tretmana obrade mlijeka. Međutim, rezultati sa dodatkom 1,5% inulina kazuju da je temperatura od 95°C u roku 5 minuta povoljnije djelovala na stabilnost gruša, sa slabijom sinerezom.

Izdvajanje surutke se povećava sa povećanjem primijenjene centrifugalne sile (Guinee, Mullins, Reville, & Cotter, 1995).

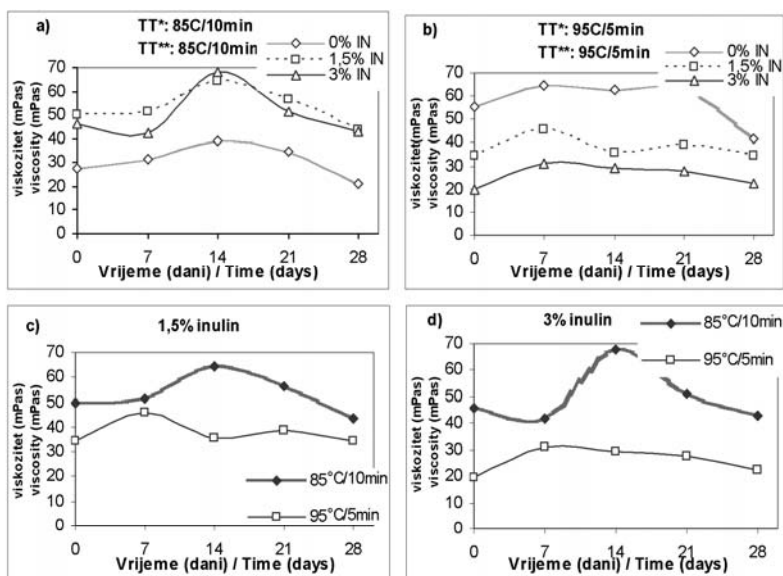
Naši rezultati, takođe, pokazuju znatno više vrijednosti sinereze pri 3000 o/min. (slika 4).

Tokom skladištenja dolazi do povećanja vrijednosti izdvojene surutke, kod svih uzoraka, s tim da kod uzorka sa dodatim 1,5% inulina povoljnije na sinerezu djeluje prethodno podvrgavanje mlijeka na 95°C/5 min., dok kod dodatka 3% inulina nešto niže vrijednosti uzorka su bile na tretiranom mlijeku 85°C 10 minuta.

Vrijednosti za viskozitet probiotičkog kozjeg jogurta (slika 5) utvrđene su 0, 7, 14, 21. i 28. dana skladištenja rotacijskim viskozimetrom tipa Brookfield, Model DV-E.

Na teksturalna svojstva fermentisanog mliječnog proizvoda utiče, između ostalih, i prethodni termički tretman mlijeka kao i vrsta dodatka mlijeku.

Uzorci termički tretirani na 85°C/10min pokazuju nešto više vrijednosti viskoziteta u odnosu na uzorke termički tretirane na 95°C/5min, izuzev kontrolnog uzorka (95°C/5min) koji ima veće vrijednosti (slika 5a,b). Vidljivo je da veći uticaj na povećanje viskoziteta ima termički tretman mlijeka nego dodatak inulina.



TT*- Termički tretman / TT** - Thermal treated

Slika 5: Promjene vrijednosti viskoziteta probiotičkog kozjeg jogurta tokom čuvanja u zavisnosti od termičkog tretmana mlijeka i dodatka inulina (IN) pri brzini rotacije spindla (\varnothing) od 30 obrt/min

Figure 5: Changes of viscosity value probiotic yoghurt made from goat's milk depending on thermal treatments of milk and inulin addition (IN) at rotational speed of spindle (\varnothing) 30 rotation/min

Termičkim tretmanom mlijeka na 82°C/10min dolazi do denaturacije serum proteina (Pudja & Obradović, 1993), što uzrokuje poboljšanje konzistencije jogurta, dok prejaki termički tretmani imaju za posljedicu nastajanje gela zrnaste strukture, koji lako otpušta surutku a samim tim ima i niže vrijednosti viskoziteta što se vidi kod uzoraka sa dodatkom inulina tretiranih na 95°C/5min. Odstupanje od literarnih podataka i veće vrijednosti viskoziteta pri termičkom tretmanu na 95°C/5min ima kontrolni uzorak tretiran na toj temperaturi. Uzorci tretirani na 95°C/5min imali su izraženu stabilnost i relativno male oscilacije vrijednosti viskoziteta tokom skladištenja (slika 5b).

Poznato je da dodatak inulina ima pozitivno djelovanje na konzistenciju gruša i kvalitet teksture fermentisanih napitaka (Lučan, 2003). Naši rezultati pokazuju izvjesno odstupanje od literarnih podataka, tako da veći viskozitet pokazuju uzorci sa 1,5% inulina nego uzorci sa 3% inulina (slika 5c,d).

Uočljiva je i povišena vrijednost viskoziteta 14. dana skladištenja kod uzoraka sa dodatkom 1,5% i 3% inulina (85°C/10min), što se može objasniti kasnijom stabilizacijom strukture gruša, nakon čega dolazi do blagog opadanja viskoziteta jogurta do zadnjeg dana čuvanja. Uzorci sa 1,5% i 3% inulina (95°C/10min) pokazuju sta-

bilnost od početka do kraja skladištenja sa malim promjenama vrijednosti viskoziteta.

Ocijenjivanje senzorskih svojstava proizvedenih uzoraka kozjeg probiotičkog jogurta provela je panel grupa od 4 člana. Senzorski kvalitet probiotičkih napitaka tokom skladištenja nije značajno opadao niti se mijenjao, što ukazuje na stabilnost ovih proizvoda. Opšti izgled kod gotovo svih uzoraka je bio homogen, ujednačen, bez grudica, glatke površine i bez izdvojene surutke. Boja proizvoda se nije mijenjala i svi uzorci su zadržali postojanu bijelu boju.

Miris i ukus su okarakterisani kao ugodni i osvježavajući tokom cijelog skladištenja, bez obzira na dodatak inulina i termički tretman. Inulin je blagog, neutralnog ukusa, bez ikakvog suokusa i daje kremastu teksturu (Salminen, Roberfroid, Ramos & Fonden, 1998).

U uzorcima kozjeg mlijeka s dodatkom inulina slabije je izražen suok na kozu, dok su kontrolni uzorci termički tretirani na 85°C/10min i 95°C/5min imali blag ukus i intenzivniju aromu karakterističnu za kozje mlijeko (tabela 2).

Ukus je bio ugodan i specifično kiseo kod uzoraka termički tretiranih na 95°C/5min sa dodatkom 1,5% i 3% inulina (tabela 2). Konzistencija kod uzoraka termički tretiranih na

95°C/5min sa dodatkom 1,5% i 3% inulina, dobila je najniže ocjene jer je tokom čuvanja bilo primjetno zadržavanje grudica, odvajanje tečne faze od krute i nehomogen gruša.

Najprijetnu aromu, umjereno kiselkastu i osvježavajuću sa kremastom konzistencijom, homogenom, sjajnom i glatkom gruši, imali su uzorci koji su bili podvrgnuti termičkom tretmanu na 85°C/10min sa dodatkom 1,5% i 3% inulina i koji su najbolje ocijenjeni za sve parametre kvaliteta tokom skladištenja (tabela 2). Ovi uzorci su pokazali i veliku elastičnost.

Nakon 28. dana čuvanja zadržane su relativno visoke prosječne ocjene u svim uzorcima, s tim da su proizvodi sa 3% inulina i 1,5% termički tretirani na 85°C/10min najbolje ocijenjeni i dobili su najviše ocjene za sve parametre kvaliteta što je odraz stabilnosti ovih probiotičkih napitaka (tabela 2).

Uzorak sa 3% inulina termički tretiran na 95°C/5min najlošije je ocijenjen, tokom skladištenja, na osnovu konzistencije i izgleda površine.

Tokom 28. dana čuvanja uzoraka u frižideru nije bilo znakova kvarenja ni u jednom uzorku.

ZAKLJUČAK

Termička obrada mlijeka i dodatak inulina, imali su uticaja na fizičko-hemijske i organoleptičke osobine probiotičkog kozjeg jogurta. Vidljiv je porast kiselosti do 7. dana čuvanja kod svih uzoraka, nakon čega dolazi do stabilizacije i ne javljaju se bitnije promjene do kraja skladištenja. Mjerenjem viskoznosti, uzorci sa 1,5% i 3% inulina, uz prethodni tretman mlijeka na 85°C/10min, pokazali su najbolju konzistenciju i najstabilniju strukturu gruša. Uzorak koji je najmanje otpuštao surutku tokom centrifugiranja bio je sa dodatkom 1,5% inulina na oba termička tretmana mlijeka. Pri toplotnoj obradi mlijeka na 85°C 10 minuta, senzorski je najbolje ocijenjen uzorak sa 3% inulina, a na 95°C 5 minuta uzorak sa 1,5% inulina. Dodatak inulina dobro je pokrio karakterističan kozji ukus i miris. S obzirom na sve analize, naši eksperimenti pokazuju da su uzorci 14. dana skladištenja imali najbolje fizičko-hemijske karakteristike i senzorske ocjene. Tokom cjelokupnog vremena skladištenja u frižideru, ni u jednom uzorku nije bilo znakova kvarenja.

Međutim, treba naglasiti da je u ovom radu proveden samo mali dio istraživanja uticaja termičkog tretma-

na mlijeka i dodatka inulina na promjene tokom čuvanja probiotičkog kozjeg jogurta i da je ovo, nadamo se, mali doprinos za buduća potpuniya i opsežnija istraživanja.

LITERATURA

1. Benezech, T., Maingonnat, J.F.: Characterisation of Rheological Properties of Yoghurt – A Review. *Journal of Food Engineering*, 21 (1994) 447-472.
2. Božanić, R., Rogelj, I., Tratnik, L.J.: Fermentacija i čuvanje probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka. *Mljekarstvo* 52 (2), (2002) 93-111.
3. Caponio, F., Gomes, T., Alloggio, V., Pasqualone, A.: An effort to improve the organoleptic properties of a soft cheese from rustic goat milk. *European Food Research Technology Journal*, 211 (2000) 305-309.
4. Carić, M., Milovanović, S., Vučelja, D.: Standardne metode analize mleka i mlečnih proizvoda, "Prometej", Novi Sad (2000) str. 91.
5. Dannenberg, F., Kessler, H.G.: Reaction kinetics of the denaturation of whey proteins. *Journal of Food Science*, 53 (1988) 258-263.
6. Franck, A.: Prebiotic stimulate calcium absorption: a review; *Milchwissenschaft*, 53 (8) (1998) 427-429.
7. Frece, J.: Sinbiotički učinak bakterija: *Lactobacillus acidophilus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4 i *Enterococcus faecium* L3, Disertacija, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu (2007).
8. Gueven, M., Yasar, K., Karaca, O.B., Hayaoglu, A.A.: The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yoghurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 58 (3) (2005) 180-184.
9. Guinee, T.P., Mullins, C.G., Reville, W.J. and Cotter, M.P. (1995): "Physical properties of stirred-curd unsweetened yoghurts stabilised with different dairy ingredients", *Milchwissenschaft* 50 (4) (1995) 196-200.
10. ISO (TC34) SC 12 (Secretariat – 139) E „Sensory analysis“ DC., 185-02-05.
11. Kršev, L.J.: Mikrobne kulture u proizvodnji mliječnih proizvoda. Udruženje mljekarskih radnika SR Hrvatske, Zagreb (1989).
12. Mačej, O., Jovanović, S., Barać, M.: Proteini mleka: Uticaj visokih temperatura na proteine mleka: Obrazovanje hemijskog kompleksa između kazeina i serum proteina, Monografija, Beograd, (2007) p 135.
13. Mulvihill, D. M., Grufferty, M. B.: Effect of thermal processing on the coagulability of milk by acid, in: Heat-induced Changes in Milk. Ed. by P.F. Fox. *International Dairy Federation Special Issue Nr. 9501*. (1995) pp. 188-205.
14. O'Kennedy, B.T., Kelly, P.M.: Evaluation of milk protein interactions during acid gelation using a simulated yoghurt model. *Milchwissenschaft*, 55 (2000) 187-190.
15. Park, O.: Comparison of mineral and cholesterol composition of different commercial goat milk products manufactured in USA,

Tabela 2: SENZORSKA PROCJENA (BODOVI) UZORAKA PROBIOTIČKOG NAPITKA OD KOZJEG MLIJEKA TOKOM SKLADIŠTENJA :

- Kontrolni uzorci termički tretirani na 85°C(A2) i 95°C(B2),
- Uzorci sa dodatkom 1,5% inulina termički tretirani na 85°C(A1) i 95°C(B1) i
- Uzorci sa dodatkom 3% inulina termički tretirani na 85°C(A) i 95°C(B)

Table 2: SENSORY EVALUATION (SCORES) OF PROBIOTIC BEVERAGES MADE FROM GOAT MILK DURING STORAGE:

- Control samples thermal treated on 85°C(A2) and 95°C(B2),
- Samples with 1,5% inulin addition thermal treated on 85°C(A1) and 95°C(B1) and
- Samples with 3% inulin addition thermal treated on 85°C(A) and 95°C(B)

Vrijeme čuvanja (dani) Time of storage (days)	A2	A1	A	B2	B1	B
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,8
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
0 Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	4,0	4,0	4,0	3,6	4,0	3,2
Ukus / Flavour	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Σ	20,0	20,0	20,0	19,6	20,0	19,0
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
7 Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,6	4,0	4,0	3,6	4,0	3,6
Ukus / Flavour	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Σ	19,6	20,0	20,0	19,6	20,0	19,6
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,8
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
14 Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,4	4,0	4,0	4,0	4,0	3,2
Ukus / Flavour	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	10,8
Σ	19,4	20,0	20,0	20,0	20,0	17,8
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	1,0	0,8	1,0
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
21 Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,6	4,0	4,0	4,0	3,2	3,2
Ukus / Flavour	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Σ	19,6	20,0	20,0	20,0	19,0	19,2
Izgled / Appearance	1,0	0,4	1,0	0,8	0,8	1,0
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
28 Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	4,0	4,0	4,0	4,0	3,2	3,2
Ukus / Flavour	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Σ	20,0	19,6	20,0	19,2	19,0	19,2

Small Ruminant Reserch 37, (2000) 115-124.

16. Pudja, P.D. i Obradović, D.B.: Uticaj termičkog i mehaničkog tretmana na prividnu viskoznoznost kiselog kazeinskog gela. *Preh. Ind.*, Vol. 4 (1-2) (1993) 10-14.
17. Rašić, J. Lj., Kurmann, J. A.: *Yoghurt – Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations*. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen (1978) pp. 56-59.
18. Roberfroid M. B., Van Loo J. A. G., Gibson, G. R.: A review on the bifidogenic nature of chickory inulin and its hydrolysis products. *Journal of Nutrition*, 128 (1) (1998) 11-19.
19. Salminen, S., Roberfroid M., Ramos, P & Fonden, R.: Prebiotic Supstrates and Lactic Acid Bacteria, in: *Lactic Acid Bacteria microbiology and functional aspects*, Second Edition Marcel Dekker Inc. New York (1998).
20. Schmidt, R.H. and Morris, H.A.: Gelation properties of milk proteins, soy proteins and

blended protein systems. *Food Techn.* May, (1984) 85-96.

21. Tamime, A.Y. and Deeth, H.C.: Yoghurt: Technology and Biochemistry. *J. of Food Protection*, 43 (12) (1980) 939-977.

SUMMARY**THE INFLUENCE OF THERMAL TREATMENTS TEMPERATURE OF RAW GOAT MILK WITH INULIN ADDITION ON THE QUALITY OF PROBIOTIC YOGHURT**

¹Milka J. Stijepić, ¹Jovana R. Glušac, ²Dragica M. Milošević – Đurđević

¹Visoka medicinska škola, Prijedor, ²Visoka tehnološka škola strukovnih studija, Šabac

In this paper, the influence of thermal treatments temperature and inulin addition on certain physico-chemical properties of the produced probiotic drink, was investigated. Fermented drink was produced from whole goat milk thermally treated on 85°C for 10 minute and on 95°C for 5 minute with 1,5 and 3% addition of inulin, respectively. A control sample without inulin addition was made. Inoculum of mixed bacteria culture : *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* was added to milk.

During 28 days of storage the change of pH, titratable acidity, viscosity, syneresis and sensory properties were observed.

Research indicates that inulin addition as well as thermal treatment of raw milk have influence on physico-chemical properties and organoleptic characteristics of finished product. All samples show decreasing pH value during first 7 days of storage, while later during the storage period no significantly change of pH value was detected.

Titratable acidity shows mild, but continuous increase in value during all days of storage. Thermal treatment of milk had higher influence on increasing viscosity of probiotic yoghurt than inulin addition. Sensory analysis showed that inulin addition improved textural properties and partly masked the goat flavour of produced yoghurt.

Key words: goat milk • probiotic • inulin • thermal treatment • viscosity • syneresis • sensory properties

EMILIJA V. STOJANOVIĆ

S.E.Ver kd, Novi Sad

STRUČNI RAD

UDK: 579.64:637.115

HIGIJENA MUZNIH UREĐAJA

Da bi se dobio kvalitetan mlečni proizvod, mora se raspolagati kvalitetnim mlekom. Kvalitet mleka, ukoliko su ispunjeni ostali uslovi kao što je rasni sastav, ishrana i adekvatni uslovi čuvanja muznih grla, zavisi i od higijene muže. Muža se obavlja ručno i mašinski. U novije vreme se najčešće obavlja mašinski i veoma je važno adekvatno održavanje aparata za mužu. Kuće koje nude uređaje za mužu obično preporučuju i sredstva za njihovo održavanje, ili ih i sami nude. Postoji veoma veliki problem kod održavanja higijene uređaja za mužu kao npr. Kvalitet vode za ispiranje, temperatura vode za pranje, adekvatna koncentracija sredstva za pranje, vreme delovanja sredstva za pranje i niz drugih parametara koji mogu uticati na higijenski kvalitet sirovog mleka na mestu proizvodnje. Pored uslova u proizvodnji, kasnije ima uticaj i skladištenje i njegov transport do mesta proizvodnje.

Tako zbir svih ovih parametara utiče na higijenski kvalitet sirovog mleka, a time i na kvalitet proizvoda od mleka.

Sve to ukazuje na potrebu za brzom i jednostavnom kontrolom uređaja za mužu. U ovom radu su korišćeni brzi proteinski testovi, metoda bioluminiscencije, ATP total i dipslajdovi, u skladu sa zahtevima HCCP-a. Sve to je neophodno da bi se dobilo kvalitetno sirovo mleko, a time i kvalitetan mlečni proizvod.

Ključne reči: higijena • sredstva za pranje i čišćenje mlekarske opreme • sirovo mleko • proteinski test • ATP • dipslajd

UVOD

Veoma veliku ulogu u životu sisara, znači i čoveka, igra mleko. Naime, to je jedina hrana u početnom periodu života (1). U kasnijim fazama života mleko se takođe koristi kao važan sastojak u ishrani, kao i mlečni proizvod. Zbog svega toga je veoma važno da se dobije kvalitetno mleko po svojim hemijskim karakteristikama, što najčešće zavisi od rase, ishrane i sl. Zdravstvena ispravnost mleka zavisi od veterinarske službe i brige vlasnika o zdravstvenom stanju muznih grla i načinu njihovog uzgoja. Pored ova dva elementa kvaliteta sirovog mleka, a time i mlečnih proizvoda, je mikrobiološki kvalitet koji zavisi od načina muže i tretmana mleka u početnoj fazi njegovog dobijanja, načina čuvanja i transporta i skladištenja do momenta prerade. Muža se obavlja ručno i mašinski. Kod oba načina je veoma važno održavanje higijene vimena i posuda u koje se mleko skladišti, a kod mašinske muže i održavanje uređaja za mužu. Mašinska muža, koja je sve češća zbog ukupnjavanja stada i pogodnosti koje taj način pruža, u isto vreme dodaje još jedan segment koji utiče na higijenski kvalitet mleka. Zbog toga je veoma važno održavanje higijene muznih uređaja, jer ona ima uticaja i na suzbijanje mastita (3). Naime, adekvatno održavanje higijene vimena, poda i prostirke takođe utiče na mikrobiološki kvalitet i zdravstvenu ispravnost mleka, u stadijumu proizvodnje, transportu, na prijemnoj rampi, tokom proizvodnje – ukazuje niz autora, a da se termičkom obradom često ne može ispraviti ono što je neefikasno do tada urađeno (3, 4, 5, 6).

MATERIJAL I METODI

Rad je rezultat kontrole sirovog mleka sa mini farme koja proizvodi sir, a koja je sa ručne muže, zbog proširenja stada počela da koristi mašinsku mužu. Posle prelaska na mašinsku mužu suočila se sa problemom kvaliteta sira koji je do tada uspešno proizvodila.

Prelaskom na mašinsku mužu i dalje su proizvodili sir, koji je do tada kontrolisan i čiji je kvalitet odgovarao propisanim parametrima mikrobiološkog kvaliteta (6). Rezultati nalaza su ukazivali na povećan broj stafilokoka i koliformnih mikroorganizama.

S obzirom da je bio povećan broj stafilokoka prvo se posumnjalo na mastite. Veterinar je odmah kontrolom pojedinačnih grla na mastite konstatovao da to nije uzrok.

S obzirom da nisu koristili specijalne dezinficijense za negu vimena nabavili su i sredstva za negu vimena i koristili ih prema preporuci prodavca. Inače, preporuka je bila da je to sredstvo tako dobro da se jednom krpicom mogu obraditi sva vimena. Ni nakon uvođenja nege dezinfekcije vimena stanje se nije popravljalo.

Sredstva za pranje muznih uređaja koristili su prema preporuci prodavca i očekivali da će to rešiti problem. Treba napomenuti da su prvih nekoliko muža obavili bez sredstava za pranje jer su drugi korisnici uređaja za mužu rekli da je dovoljno oprati vodom!

Posle njihovog zaključka da je problem u uvođenju muznog uređaja, tražili su pomoć i došli do toga da je jedna od sisaljki neispravna, ali problem sa kontaminacijom nije rešen. Sir koji

Adresa autora:
Dr. sci.vet Emilija Stojanović, S.E.Ver kd
Rumenački put 58, 21000 Novi Sad
e-mail: emica@eunet.yu

su proizveli i dalje nije odgovarao parametrima kvaliteta.

Posle toga su se ponovo obratili za pomoć. Izabrane su brze metode da bi se što pre rešio problem.

Kontrolisani su sir, mleko, voda, kao i oprema za proizvodnju sira, uređaji za mužu i dodatna oprema, krpe, kante i sl.

Kao brze metode su izabrane metoda bioluminiscencije i proteinskog testa za brzu detekciju problema, a za mikrobiološku procenu su korišćeni dipslajdovi (7, 8, 9).

3M Cleane-Trace Surface Protein-Plus test se koristio da bi se procenila higijena površina opreme za proizvodnju sira, kao i kanti i sl. Test je izabran da bi kasnije sami mogli da ga koriste u proceni higijene pranja opreme kojom se služe. Osetljivost testa je 32 µg proteina i u roku od 10 minuta je dostupan rezultat koji je u slučaju da je viši registruje promenom zelene boje u sivu ili neku od ljubičastih nijansi.

Uzorci metodom bioluminiscencije su uzimani sa 3M Cleane-race Surface, testom za kontrolu površina, dok su voda i vodeni ispirci uzimani 3M Cleane-Trace Water total i merenja su izvršena u instrumentu UNI LITE NG 2 istog proizvođača 3M Biotrace.

Rezultati su tumačeni na osnovu uputstava (6), odnosno nalaza ATP-a u vodi koja služi za ispiranje.

Za procenu mikrobiološkog stanja opreme, vode, mleka, sira, pribora korišćeni su dipslajdovi proizvođača 3M i to dve vrste sa kombinacijom podloga za stafiloške i enterobakterije BV i RBS na kojem je kombinacija podloga za ukupan broj mikroorganizama sa indikatorom pa se lako uočavaju kolonije, dok je na drugoj strani nanosena podloga za plesni i kvasce Rose-Bengal (7). Inkubacija dipslajdova BV je vršena na 37°C a očitavanje na 24 i 48 h. Dipslajdovi za ukupan broj i plesni i kvasce je inkubiran na 30°C a očitavanje je vršeno na 24 i 48 h. Rezultati su tumačeni prema priloženom etalonu u pakovanju.



Slika 1. TEST ZA KONTROLU PROTEINSKIH OSTATAKA U SAMO TRI KORAKA

Photo 1. 3M CLEANE-TRACE SURFACE PROTEIN-PLUS TEST



Slika 2. UNI LITE NG I BRISEVI ZA TOTALAN ATP ZA POVRŠINE I VODENE ISPIRKE

Photo 2. 3M CLEANE-TRACE SURFACE AND WATER TOTAL



Slika 3. 3M DIPSLAJDOVI

Photo 3. 3M DIPSLIDES

REZULTATI I DISKUSIJA

a) Rezultati brze i jednostavne kontrole

Zbog svega navedenog kod prve posete i dogovora su uzeti uzorci briseva sa opreme u proizvodnji sira, kante muzlice i kante za prenos mleka testom Protein-plus (7). Rezultati kontrole površina opreme za proizvodnju sira, kao i kanti muzlice i kanti za prenos mleka, ukazivali su da na njima postoje ostaci proteina, jer se bris obojio u sivo što ukazuje na neadekvatno opranu površinu i rezultati su prikazani u tabeli 1.

Rezultati kontrole testom za određivanje proteinskih ostataka su ukazivali da postoje ostaci i da održavanje higijene nije adekvatno.

Sutradan su uzeti uzorci mleka iz kante muzlice, kao i uzorak mleka iz jedne sise ručno pomužene u sterilnu posudu, da bi se odmah eliminisale neke moguće dileme i da ne bi dovele do pogrešnog zaključka. Takođe su uzeti i uzorci vode za ispiranje. S obzirom da je na rezultat trebalo čekati 24, odnosno 48 h, uzeti su uzorci posle pranja alkalnim i kiselim sredstvom i sa poklopca kante i sisaljki posle alkalnog i kiselog pranja ATP metodom. Rezultati su prikazani u tabeli 2.

Ukoliko je pranje bilo efikasno očekuju se rezultati koji bi trebalo da se kreću u okvirima rezultata dobijenog za vodu koja se koristi za ispiranje. U ovom slučaju i više od toga jer se voda prenosi kantama do mesta gde se vrši muža i pranje uređaja za mužu, jer i higijenski status vode zavisi od higijenskog stanja posuda kojima je voda donošena. Rezultati koji su dobijeni su znatno viši nego dobijeni u sličnim uslovima, gde nisu obezbeđeni svi uslovi za adekvatno pranje i kretali su se od 187-3120. Inače u svim ispitivanim pogonima se rezultat kretao od 1-3.580 ATP jedinica (8). I ako ovi rezultati imaju svoje opravdanje jer se radi o mestu proizvodnje sirovog mleka, a zna se da somatske ćelije sadrže 300.000 ATP jedinica, međutim oni ukazuju na neefikasnost primenjenih mera pranja u datim uslovima. U ovom slučaju veoma visok nivo ATP, odnosno svetlosnih jedinica, rezultat je neadekvatnog održavanja higijene uređaja, bez obzira na primenjena sredstva za pranje što je rezultiralo stvaranjem biofilma. Biofilmovi na opremi mogu uticati na kvalitet proizvoda, jer biofilm može sadržati i žive i nežive mikroor-

Tabela 1. REZULTATI KONTROLE OPREME PROTEINSKIM TESTOM PROTEIN-PLUS

Table 1. RESULTS OF SWABS FROM SOME EQUIPMENT WITH PROTEIN-PLUS

Uzorak / Samples	Protein-plus test	Komentar Comment
Posude za sir / Equipment for cheese	Sivo	OPREZ
Kanta muzlice / Can from milking equipment	Sivo	OPREZ
Kanta za mleko / Can for milk	Sivo	OPREZ

Tabela 2. KONTROLA KVALITETA METODOM ATP POSLE PRANJA ALKALNIM I KISELIM SREDSTVOM

Table 2. QUALITY CONTROL WITH ATP METHODS AFTER USING ALCALIC AND ACIDIC DETERGENT

Uzorak Samples	RLU (ATP)	Komentar Comment
Poklopac kante posle pranja alkalnim sredstvom Cover can after alcaic detergent	474.582	NE odgovara Fall
Sisaljke posle alkalnog pranja Ejector after alcaic detergent	2.564	NE odgovara Fall
Poklopac kante posle kiselog pranja Cover can after acid detergent	170.087	NE odgovara Fall
Sisaljke posle kiselog pranja Ejector after acidic detergent	1.421	NE odgovara Fall
Kanta muzlice Can of milking equipment	3.236	NE odgovara Fall
Vodovodna voda Waterpiping	225	
*Voda u kanti *Water from can	430	NE odgovara Fall

Tabela 3. REZULTATI POSLE PRANJA POVEĆANOM KONCENTRACIJOM SREDSTAVA ZA PRANJA

Table 3. RESULTS AFTER CLEANING WITH HIGHER CONCENTRATION OF CLEANING AGENT

Uzorak Samples	RLU (ATP)	Komentar Comment
Poklopac kante posle pranja alkalnim i kiselim sredstvom Cover can after clining whit alcaic and acid detergent	22127	NE odgovara Fall
Sisaljke posle pranja alkalnim i kiselim sredstvom Ejector after clining whit alcaic and acid detergent	415	NE odgovara Fall

Tabela 4. REZULTATI SA PROPISANOM KONCENTRACIJOM I MENJANJEM KRPE KOD SVAKOG MUZNOG GRILA

Table 4. RESULTS AFTER USING PRESCRIBE CONTENTRATION AND CONVERT CLOUTH AFTER EVERY MILKING

Uzorak Samples	RLU (ATP)	Komentar Comment
Poklopac kante posle alkalnog i kiselog pranja Cover can after cleaning with alcaic and acid detergent	1404	NE odgovara Fall
Sisaljke posle alkalnog i kiselog pranja Ejector after cleaning with alcaic and acid detergent	358	Oprez Caution
Vodovodna voda Waterpiping	277	

Tabela 5. RUTINSKA KONTROLA POSLE 45 DANA

Table 5. ROUTINE CONTROL AFTER 45 DAYS

Oznaka	RLU (ATP)	Komentar
Poklopac kante	925	Oprez
Kanta muzlice	205	Odgovara

Tabela 6. REZULTATI KONTROLE SIRA KOD PRVOG DOLASKA

Table 6. RESULTS OF CHEESE WITH DIPLSLIDES, FIRST VISIT

Uzorak Samples	Enterobakterije Enterobacteriaceae		Stafilokoke Staphylococcus.		Kvasci i plesni Yeast & Molds		Ukupan broj Total aerobic count	
	10 ⁵	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁷	0	0	10 ⁶	10 ⁷
Sir Cheese								
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h

ganizme i ostatke hrane a da ujedno i pravi zaštitu za sadržaj u kome se mogu naći i patogeni mikroorganizmi kao i oni koji dovode do kvarenja proizvoda (10).

Na osnovu dobijenih rezultata i dobijenih podataka kako i kojim koncentracijama peru, kao i prisustvovanjem tokom pranja, uočeno je nekoliko mogućih nedostataka koji utiču i mogu uticati na povećanu kontaminaciju:

1. Vreme trajanja pranja je kratko, jer ni količine vode sa kojom se raspolaze nisu dovoljne (voda se donosi u kantama), odnosno ne postoji mogućnost kružnog pranja.

PREDLOŽENO: okrenuti kantu da bi se simuliralo kružno pranje, da bi vakuum bio opran nakon tog pranja, jer je odmah uočen nivo higijene tog dela muznog uređaja.

2. Koncentracija deterdženata je takođe bila nedovoljna – preporuka prodavaca je bila da je dovoljna rakijaska čaša.

PREDLOŽENO: pranje povećanom koncentracijom.

3. Korišćenje jedne krpe za nanošenje sredstva za dezinfekciju i negu vimena.

PREDLOŽENO: Promena krpe za negu vimena kod svakog muznog grla.

4. Korišćenje istih kanti za donošenje vode za potrebe pranja i ispiranje i za prenošenje mleka u laktofriz.

PREDLOŽENO: korisiti kante za vodu, jedne boje, a kante za prenos mleka u drugoj boji, ili pak kupiti specijalne kante za mleko.

5. PREDLOŽENO: korišćenje sredstava za dezinfekciju uređaja za mužu, pribora koji se koristi i kod muže i kod proizvodnje sira, kao i vazduha i podova u prostorijama gde se odvija muža i proizvodi sir.

Dogovoreno je da se kod sledećeg pranja poveća koncentracija sredstava za pranje i da se nekoliko puta proputi kroz uređaj za mužu, kao i da se obavezno okrene kanta sa poklopcem naopako, tako da sredstvo za pranje zahvati i poklopac i opere i deo opreme koji omogućava vakuum. Dobijeni

Tabela 7. REZULTATI KONTROLE VODE, SIROVOG MLEKA, SREDSTVO ZA NEGU VIMENA, KRPA
Table 7. RESULTS OF WATER CONTROL, RAW MILK, WATER, WATER FROM CAN, MEANS FOR CARE MAMMA

Uzorak Samples	Enterobakterije Enterobacteriaceae		Stafilokoke Staphylococcus		Kvasci i plesni Yeast & Molds		Ukupan broj Total aerobic count	
Vodovodna voda Waterpiping	0	0	0	0	0	0	0	1x10 ²
Mleko – kanta Milk –can	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	0	0	10 ⁴	10 ⁵
Mleko – vime Milk – mamma	0	10 ³	0	10 ³	0	0	10 ³	10 ³
Krpa za negu vimena Clout for care mamma	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶				
Sredstvo za negu vimena Means for care mamma	0	0	0	0				
Voda iz kante Water from can	10 ³	10 ³	10 ²	10 ²	0	0	10 ³	10 ³
*Kanta za vodu Can for water	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵				
* bris kante za vodu je uzet NEPLANIRANO, kada je zapaženo da se u iste kante sipalo mleko * swabs from can for water not planned								

Tabela 8. REZULTATI KONTROLE SIROVOG MLEKA POSLE PRVIH KOREKCIJA U PRANJU
Table 8. RESULTS OF RAW MILK AFTER FIRST CORRECTION OF CLEANING EQUIPMENT

Uzorak Samples	Enterobakterije Enterobacteriaceae		Stafilokoke Staphylococcus.		Kvasci i plesni Yeast & Molds		Ukupan broj Total aerobic count	
Mleko – kanta Milk –can	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	0	0	10 ⁴	10 ⁴

Tabela 9. REZULTATI KONROLE SIROVOG MLEKA POSLE PRIMENJENIH KOREKCIJA
Table 9. RESULTS OF RAW MILK AFTER CORRECTION OF CLEANING

Uzorak Samples	Enterobakterije Enterobacteriaceae		Stafilokoke Staphyloc.		Kvasci i plesni Yeast & Molds		Ukupan broj Total aerobic count	
Mleko – kanta Milk – can	0	10 ³	0	10 ³	0	0	0	10 ³

rezultati kontrole prikazani su u tabeli 3.

Tokom sledeće muže menjane su krpe za nanošenje sredstava za negu i dezinfekciju vimena kod svakog pojedinačnog muznog grla. Prilikom pranja primenjene su koncentracije kao što je navedeno na originalnim posudama u kojima je bilo sredstvo za pranje i dobijeni rezultati kontrole su prikazani u tabeli 4.

S obzirom na postignute rezultate PREDLOŽENO je da se nastavi pranje propisanim koncentracijama sa svim drugim navedenim predlozima, kao i nedeljno pranje pojačanim koncentracijama.

Posle 45 dana urađena je kontrola bez najave i ti rezultati su prikazani u tabeli 5.

Rutinska kontrola koja je urađena bez najave ukazuje da je serija pranja posle datih predloga donela rezultate, što je u međuvremenu i potvrđeno serijama partija sireva, koji su odgovarali

Pravilniku o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu.

b) Rezultati kontrole dobijeni dip-slajdovima

Rezultati dobijeni kontrolom sa dip-slajdovima prikazani su u tabeli 6 sira i brisa sa opreme za proizvodnju sira i tabeli 4 mleka i opreme korišćene kod muže. Sa površina sira je dip-slajdom uzet uzorak za kontrolu za stafilokoke/enterobakterije.

Kontrola dip-slajdovima je potvrdila da proizveden sir i dalje ima visok nivo kontaminacije stafilokokama i enterobakterijama. Da bi se uočili mogući uzroci tako visoke kontaminacije moralo se prisustvovati kompletnoj muži, pranju uređaja i pribora. Na osnovu rezultata koji su izneseni u prethodnom poglavlju dobijenim metodom bioluminiscencije i rezultatima dobijenim mikrobiološkom kontrolom ukazalo se na nedostatke u dotadaš-

njem načinu održavanja higijene i mogućim korekcijama. Rezultati te kontrole prikazani su u tabeli 6.

U sledećoj poseti je praćena kako kontrola metodom bioluminiscencije, tako i dip-slajdovima, i ti rezultati su prikazani u tabeli 7.

Rezultati ukazuju na visoke kontaminacije mleka, sira i pribora koji je korišćen i kod pripreme sira i prilikom muže. Potvrđeni su nalazi koji su već dobijeni kroz kontrolu sira, ali i novi koji su dali smernice kod napred postavljanih predloga da bi se poboljšalo održavanje uređaja za mužu i pribora.

U tabelama 8 i 9 su prikazani rezultati posle korekcija, kada se dobio sirovo mleko nivoa kontaminacija 10³ i 10⁴, koji su česti kao nalaz za sirovo mleko sa mesta proizvodnje (3, 4, 5).

ZAKLJUČAK

Redovnom kontrolom i brzim metodama može se poboljšati higijenski kvalitet sirovog mleka (11, 12, 13, 14, 15, 16). Takođe je neophodno prilagoditi savete za održavanje higijene uslovima u kojima se muža odvija.

LITERATURA

1. Dairy Handbook, 1990 Alfa-Laval, Sweden, Priručnik za mlekarstvo, 1994, MDD PKB IMLEK
2. Urošević M., Boboš S., Gagrčin M., Bugarski D.: Uticaj načina držanja muznih krava na higijensku ispravnost, Simpozijum „Savremeni trendovi u mlekarstvu“, Zbornik radova, Vrnjačka Banja 17-21.04.2002., str 134-139
3. Kalab V.: Ukupan broj mikroorganizama u sirovom mlijeku, Simpozijum „Savremeni trendovi u mlekarstvu“, Zbornik radova, Vrnjačka Banja 17-21.04.2002., str.70-71
4. Mijačević Z., Bulajić S.: Sirovo mleko kao izvor BACILLUS vrsta odgovornih za kvar mleka, Simpozijum „Savremeni trendovi u mlekarstvu“, Zbornik radova, Kladovo 9-13.05., Kladovo str.42-50
5. Stojanović E.: Uticaj termičke obrade na higijenski kvalitet mleka, Univerzitet u Novom Sadu, 1989
6. Pravilnik o mikrobiološkoj ispravnosti namirnica u prometu, Službeni list SRJ 26/93.
7. Uputstva 3M Biotrace, zastupnik NOACK – S.E.Ver
8. Stojanović E., Raič J., Knežević P. Bugarski D.: Kontrola higijene klasičnom metodom i metodom bioluminiscencije, Prehrambena industrija, vol. 12, br.1-2, Beograd, 2007, str.75-78
9. Bulajić S., Mijačević Z.: Primena Hygicult-a u kontroli higijenskih uslova proizvodnje sira. Mlekarstvo (8) 230-233 Beograd, 2002
10. Obradović D.: Biofilmovi – veliki problem prehrambene industrije, Prehrambena industrija, vol. 18, br.1-2, Beograd, 2007, str.18
11. Stojanović E.: Značaj kontrole u dobijanju higijenski ispravnog sirovog mleka, Veterinarski glasnik, vol. 50, broj 5-6, Beograd 1996. str. 371-375
12. Stojanović E.: Kvalitet sirovog mleka, II Jugoslovenski simpozijum prehrambene tehnologije, Zbornik radova, sveska IV, 4-6. 1998. str.14-19
13. Mijačević Z.: Obezbeđenje kvaliteta sirovog mleka uočavanjem faktora rizika i utvrđivanjem kritičnih kontrolnih tačaka, jugoslovenski mlekarSKI simpozijum, Kvalitet mleka i mlečnih proizvoda, Monografija, Beograd 1997., str 9-16
14. Mijačević Z.: Uticaj primarne obrade mleka na održivost proizvoda, Prehrambena industrija, vol. 10, broj 1-2, Beograd 1999., str. 39-43
15. Katić V., Stojanović L.: Broj mikroorganizama i broj somatskih ćelija u funkciji ocene kvaliteta mleka, Simpozijum „Savremeni trendovi u mlekarstvu“, Zbornik radova, Vrnjačka Banja 17-21.04, 2002. str.11-17.
16. Mirecki S., Nikolić N., Blagojević M.: Kvalitet sirovog mljeka u Crnoj Gori, Simpozijum „Savremeni trendovi u mlekarstvu“, Zbornik radova, Vrnjačka Banja 17-21.04, 2002. str.55-60.

SUMMARY

HYGIENE OF MILKING EQUIPMENT

Emilija V. Stojanović

S.E.Ver kd, Novi Sad

In order to get a high-quality milk product, the quality of raw milk is of outmost importance. The quality of milk, if all other requirements, including the composition of cow breeds, feeding and adequate conditions of raising milk cows are met, depends on the hygiene of milking. Milking is performed by hand or by milking machines. Nowadays it is most frequently done by milking machines, which particularly underlines the importance of the maintenance of adequate hygiene of milking equipment. Companies which sell such equipment usually either recommend cleaning material for its maintenance, or have it as a part of their offer. There are numerous problems related to the maintenance of the equipment, such as the quality of water used for rinsing, temperature of water used for washing, adequate concentration of cleaning material, operating time and many other parameters which can affect the level of hygiene of raw milk in its production site. Apart from the production conditions, storing and transport conditions have a large impact on the quality of milk products, as well. Thus, all of these parameters together have their impact on the quality of hygiene of raw milk as well as milk products. Therefore, there is a need to have quick and easy control over milking equipment. In this paper quick protein tests, method of bioluminescence ATP total and dipslides have been used, all in accordance with HCCP. All of these are necessary in order to have high-quality raw milk as well as high-quality milk products.

Key words: hygiene • means lavatory and purificating for milking equipment • raw milk • protein-plus • ATP • dipslides

SVETLANA S. POPOVIĆ
NATAŠA LJ. LUKIĆ
ZORICA I. JARAMAZOVIĆ
IVANA M. ŠIJAČKI

Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 542.816:637.344:66.013.8

ČIŠĆENJE MEMBRANA U INDUSTRIJI MLEKA PRIMENOM ULTRAZVUKA*

Membranski separacioni procesi imaju široku primenu u industriji mleka. Negativan aspekt primene membranske filtracije predstavlja opadanje fluksa permeata tokom vremena usled formiranja naslaga na površini i/ili u porama membrane. Ova pojava naročito je izražena u slučaju filtracije proteina uopšte, a posebno proteina surutke. Kako bi se fluks permeata regenerisao, membrane se u industriji mleka čiste veoma često. U ovom radu opisana je procedura čišćenja keramičkih cevni membrana (srednji prečnik pora 50 i 200 nm) zaprljanih proteinima surutke pomoću ultrazvuka. Izvršeno je ispitivanje efikasnosti čišćenja ultrazvukom kao i uticaj izabranog hemijskog agensa i njegove koncentracije na regeneraciju fluksa. Korišćeni su rastvor NaOH i komercijalni deterdženti Ultrasil P3 67 i Ultrasil P3 69 kao agensi za čišćenje. Za čišćenje u ultrazvučnom kupatilu upotrebljavani su ultrazvučni frekvencije 35 kHz. U slučaju membrane od 50 nm, regeneracija fluksa nije poboljšana upotrebom ultrazvuka. Čišćenje ultrazvukom je u slučaju membrane od 200 nm doprinelo poboljšanju regeneracije fluksa, naročito upotrebom rastvora deterdženta.

Optimalna koncentracija deterdženta je kombinacija 0,25% (mas) Ultrasil P3 67 i 0,4% Ultrasil P3 69 koja obezbeđuje efikasnost od 91% nakon 15 min. čišćenja i 15 min. ispiranja destilovanom vodom.

Ključne reči: keramičke membrane • proteini surutke • ispiranje • hemijsko čišćenje • ultrazvuk

Rad je deo istraživanja u okviru projekta koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (broj projekta 142045).

Adresa autora:
Svetlana Popović, asistent pripravnika,
Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet
Bulevar cara Lazara 1, 21 000 Novi Sad
tel.: 021/485-3675
e-mail: popovics@tehno.ns.ac.yu

UVOD

Membranski separacioni procesi se sve češće koriste u industriji mleka zahvaljujući tome što obezbeđuju visoku efikasnost i praktično ne utiču na smanjenje kvaliteta proizvoda. Primena ultrafiltracije i mikrofiltracije je veoma rasprostranjena, kako u predtretmanu mleka tako i u proizvodnji mlečnih proizvoda. Poslednjih nekoliko godina je sve aktuelnija njihova primena u dobijanju koncentrata proteina surutke zbog njegove velike hranljive vrednosti.

Međutim, primena membranske filtracije donekle je uslovljena prljanjem membrane koje vodi ka smanjenju vrednosti fluksa kroz membranu. Prljanje membrana, tokom ultra- i mikrofiltracije surutke, prvenstveno nastaje postepenom adsorpcijom i taloženjem proteina surutke na površini membrane i blokiranjem pora membrane (Ramachandra Rao, 2000). Pošto fluks u većini slučajeva opada na neprihvatljivo niske vrednosti, čišćenje membrana je neophodno radi regeneracije fluksa. Izbor metode čišćenja zavisi od konfiguracije modula, hemijske i fizičke izdržljivosti membrane i pomoćne opreme i u najvećoj meri prirode prljanja (Bartlett et al., 1995). Hemijske metode čišćenja su najčešće korišćene metode, a najefikasniji agensi za čišćenje su: alkalni rastvor NaOH (Väisänen et al., 2002, Nigam et al., 2008) i razni komercijalni deterdženti (Argüello et al. 2005, Muñoz-Aguado et al., 1996). U novije vreme istražuje se mogućnost korišćenja ultrazvuka, frekvencije iznad 18 kHz, kao pomoćnog sredstva u membranskoj filtraciji. (Lamminen et al., 2004, Li et al. 2002, Muthukumaran et al., 2004,

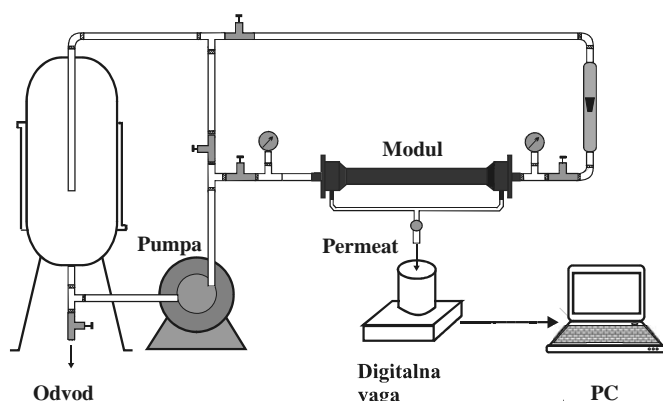
2005, 2007). Ultrazvukom se uspešno raskidaju veze između čestica naslaga i površine membrane (Lamminen et al., 2004) čime je olakšano uklanjanje naslaga sa površine zaprljane membrane. Mehaničko dejstvo ultrazvuka pomaže dejstvo hemijskih sredstava za čišćenje tako da se njihova potrošnja može znatno umanjiti. Naime, Muthukumaran et al. (2004) su pokazali da dodatak površinski aktivnih materija (PAM), natrijum dodecil sulfata, povećava sposobnost čišćenja ultrazvukom pošto se povećava kavitaciona sposobnost površinski aktivnih rastvora. Međutim, efekat korišćenja ultrazvuka i PAM-a je sličan, pošto oba raskidaju veze između proteina i površine membrane. Utvrđeno je da i NaOH ima sinergičko dejstvo sa ultrazvukom u slučaju čišćenja cevni membrana, zaprljanih otpadnom vodom industrije stakla (Kang & Choo, 2006) jer je dodatkom NaOH povećana regeneracija fluksa na 96 % sa 92% u slučaju čiste vode.

Cilj ovog rada je ispitivanje mogućnosti primene ultrazvuka pri čišćenju keramičkih membrana sa srednjim prečnikom pora od 50 i 200 nm zaprljanih proteinima surutke. Istraživanja će obuhvatiti i ispitivanje uticaja koncentracije natrijum hidroksida i komercijalnog deterdženta na efikasnost čišćenja ultrazvukom.

MATERIJAL I METODI

Opis aparature

Eksperimentalna ispitivanja su izvršena na laboratorijskoj ultrafiltraciono-mikrofiltracionoj aparaturi izrađenoj od nerđajućeg čelika (slika 1).



Slika 1. ŠEMATSKI PRIKAZ LABORATORIJSKE APARATURE
Figure 1. EXPERIMENTAL SET-UP

Tabela 1. OPERATIVNI USLOVI
Table 1. OPERATING CONDITIONS

Korak	v (m/s)	TMP (kPa)	t (min)	T (°C)	Napojna struja
Merenje fluksa čiste vode	1,73	30	30	25	Voda
Prljanje	0,43	30	60	25	Surutka (10g/L)
Ispiranje	1,73	30	30	25	Voda
Čišćenje u kupatilu	/	/	/	50	NaOH / Ultrasil P3
Ispiranje	1,73	30	30	25	Voda
Merenje fluksa čiste vode	1,73	30	30	25	Voda

Glavni deo aparature predstavlja modul sa keramičkom membranom u obliku cevi. Procesni fluid je iz napojnog suda transportovan pomoću rotacione pumpe (Cmf, Italija). Protok retentata i transmembranski pritisak su istovremeno podešavani pomoću ventila glavnog toka i bajpas ventila. Transmembranski pritisak je meren pomoću manometara dok je protok retentata meren rotametrom. Temperatura procesnog fluida održavana je konstantnom i merena digitalnim termometrom. Eksperimenti su izvođeni u uslovima potpune recirkulacije i permeata i retentata u napojni sud da bi se izbeglo koncentrisanje napoja. Masa permeata je merena kontinualno, u određenim vremenskim intervalima, pomoću digitalne vage (EW 1500-2M, Kern, Nemačka) sa direktnim prenosom podataka na personalni računar (PC).

Membrane

Eksperimenti su izvođeni na dve cevne keramičke membrane Membranolox™ (Pall Exekia, Francuska), dužine

250 mm i unutrašnjeg prečnika 6,8 mm. Aktivna površina obe membrane iznosila je 46,2 cm². Jedina razlika između membrana bila je u materijalu aktivnog sloja i veličini pora membrane. Prva membrana, M200, sa srednjim prečnikom pora 200 nm, napravljena je od α -Al₂O₃ aktivnog sloja na α -Al₂O₃ nosaču, dok druga membrana, M50, sa srednjim prečnikom pora 50 nm, ima nosač napravljen od α -Al₂O₃ a aktivni sloj od ZrO₂.

Prljanje

Prljanje membrana izvođeno je filtracijom rekonstituisanog rastvora surutke u prahu sledećeg sastava: 11,8% mas. proteina, 75,0% mas. Laktose, 3,3% mas. masti, 9,5% mas. pepela i 2,3% mas. vode (donatora Novosadske mlekare, Srbija). Pripreman je rastvor koncentracije 10g/L i pH vrednost dobijenog rastvora je iznosila 6,0.

Agensi za čišćenje

Destilovana voda je korišćena za ispiranje kako pre tako i posle čiš-

ćenja u ultrazvučnom kupatilu. Za čišćenje membrana korišćena su dva hemijska agensa: natrijum hidroksid (NaOH) i komercijalni deterdžent (Dtg.). Korišćeni su rastvori NaOH koncentracije 0,2 i 1,0% (mas.). Za eksperimente u ovom radu odabrana su dva tečna deterdženta, P3 Ultrasil 67 i P3 Ultrasil 69 (Henkel, Nemačka). Ultrasil P3 67 je neutralni deterdžent koji sadrži alkilamin oksid (15-30%) i proteolitički enzim (<5%), dok je Ultrasil P3 69 blago alkalni deterdžent koji sadrži fosfonate (5-15%) i soli organskih kiselina (5-15%). Rastvor deterdženta je pripreman tako da se oba deterdženta koriste zajedno pri odnosu koncentracija P3 Ultrasil 69/P3 Ultrasil 67 jednakom 1,6. Ispitivanja su vršena koristeći sledeće koncentracije deterdženta (% mas.): 0,125 + 0,2; 0,25 + 0,4; 0,375 + 0,6; 0,5 + 0,8 i 0,75 + 1,2 P3 Ultrasil 67 + 69, respektivno.

Ultrazvučno kupatilo

Ultrazvučno kupatilo (Sonorex RK 255, Bandelin, Nemačka), unutrašnjih dimenzija 300×150×150 mm, korišćeno je za čišćenje keramičkih membrana (slika 2).

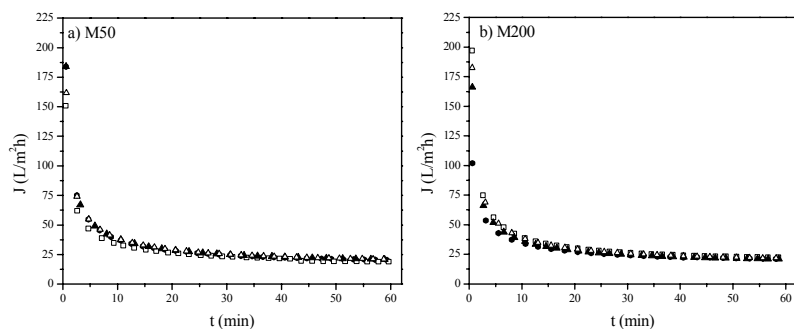


Slika 1. ULTRAZVUČNO KUPATILO
Figure 2. ULTRASOUND BATHROOM

Kupatilo proizvodi ultrazvuke frekvencije 35 kHz, pomoću tri izvora sa velikom površinom oscilovanja. Izlazna snaga kupatila iznosi 280 W.

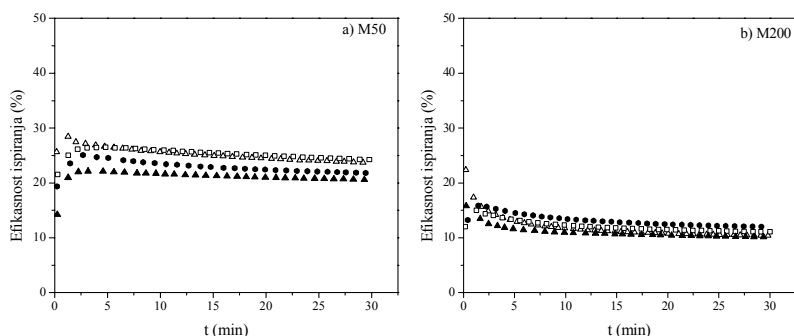
Operativni uslovi

Svaki eksperiment se sastojao od sledećih koraka: merenje fluksa čiste vode (FČV), prljanje membrane (filtracija), ispiranje, hemijsko čišćenje ultrazvukom, ispiranje i merenje fluksa čiste vode (tabela 1). Prilikom čišćenja ultrazvukom membrane su vađene iz modula, nakon ispiranja destilovanom vodom posle filtracije, i potapanje u rastvor za čišćenje u kupatilu gde su bile izložene ultrazvucima.



Slika 3. FLUKS PERMEATA TOKOM PRLJANJA ZA MEMBRANU A) M50 I B) M200. Simboli su povezani sa procedurom pranja koja je primenjena: (●) 0,2% mas. NaOH (□) 1,0% mas. NaOH (▲) 0,5-0,8% mas. deterdženta i (Δ) 0,75-1,2% mas. deterdženta.

Figure 3. PERMEATE FLUX DURING FOULING FOR THE A) M50 AND B) M200 MEMBRANE. Symbols are related to the employed cleaning procedure: (●) 0.2% (w/w) NaOH (□) 1.0% (w/w) NaOH (▲) 0.5-0.8% (w/w) Dtg. and (Δ) 0.75-1.2% (w/w) Dtg.



Slika 4. EFIKASNOST ISPIRANJA ZA MEMBRANU A) M50 I B) M200. Simboli su povezani sa procedurom pranja koja je primenjena: (●) 0,2% mas. NaOH (□) 1,0% mas. NaOH (▲) 0,5-0,8% mas. deterdženta i (Δ) 0,75-1,2% mas. deterdženta.

Figure 4. RINSING EFFICIENCY FOR THE A) M50 AND B) M200 MEMBRANE.

Symbols are related to the applied cleaning procedure: (●) 0.2% (w/w) NaOH (□) 1.0% (w/w) NaOH (▲) 0.5-0.8% (w/w) Dtg. and (Δ) 0.75-1.2% (w/w) Dtg.

Nakon čišćenja u kupatilu membrane su vraćene u modul gde je izvedeno ispiranje i merenje FČV.

Jednačine korišćene za obradu rezultata

Fluks permeata kroz membranu, $J = V/(at)$ definiše se kao količina permeata po jedinici aktivne površine membrane u jedinici vremena ($Lm^{-2}h^{-1}$), gde su V ukupna zapremina dobijenog permeata, t ukupno vreme trajanja, a a aktivna površina membrane. Radi poređenja dobijenih rezultata iz računavanja je efikasnost ispiranja i čišćenja. Efikasnost ispiranja, $E_{fi} = (J_i/J_{FCV}) \times 100\%$, gde J_i i J_{FCV} pred-

stavljaju fluks pri ispiranju tokom vremena i fluks čiste vode, respektivno. Efikasnost čišćenja, $E_{fc} = (J_c/J_{FCV}) \times 100\%$ računata je u odnosu na krajnju vrednost fluksa nakon čišćenja membrane gde je J_c krajnji fluks očišćene membrane.

REZULTATI I DISKUSIJA

Prljanje membrana rastvorom surutke

Na slici 3 prikazane su vrednosti fluksa permeata dobijenog prilikom prljanja rastvorom surutke za membrane M50 i M200. Kao što se moglo

očekivati, za obe membrane fluks permeata značajno opada tokom filtracije rastvora surutke dok se ne uspostavi pseudostacionarno stanje. Nakon perioda prljanja od 1 sata, membrana M200 ima veći pad fluksa u poređenju sa M50, iako su apsolutne vrednosti dobijenog fluksa približno iste, pošto membrana M200 ima veći početni fluks čiste vode (oko $580 Lm^{-2}h^{-1}$ naspram $250 Lm^{-2}h^{-1}$). Veći pad fluksa za membranu M200 može se pripisati značajnijoj adsorpciji proteina unutar pora većih dimenzija, što je u skladu sa rezultatima Krstića i sar. (2000).

Efikasnost ispiranja

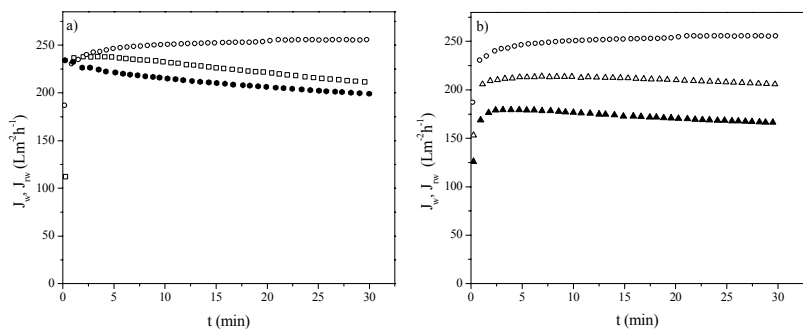
Ispiranje destilovanom vodom je primenjeno odmah po završetku prljanja da bi se uklonile slabije vezane naslage nataloženih proteina sa površine membrane. Postignute su male efikasnosti ispiranja (slika 4) jer su naslage proteina slabo rastvorljive u destilovanoj vodi. Pored toga, prisutne su veoma čvrste veze između proteina i površine membrane koje nije lako raskinuti mehaničkim dejstvom vode.

Krajnja efikasnost ispiranja membrane M50 je u opsegu 19-24%, dok je efikasnost ispiranja membrane M200 niža i iznosi oko 11%. Zaključak je da se ispiranjem uklanjaju uglavnom površinske naslage dok je uklanjanje naslaga iz unutrašnjosti pora daleko složenije. S tim u skladu dobijena je veoma niska efikasnost ispiranja, naročito membrane M200 koja ima izraženije prljanje unutar pora usled adsorpcije proteina. Stoga je neophodno primeniti hemijsko čišćenje radi regeneracije fluksa.

Ispitivanje uticaja koncentracije NaOH i deterdženta na čišćenje M50

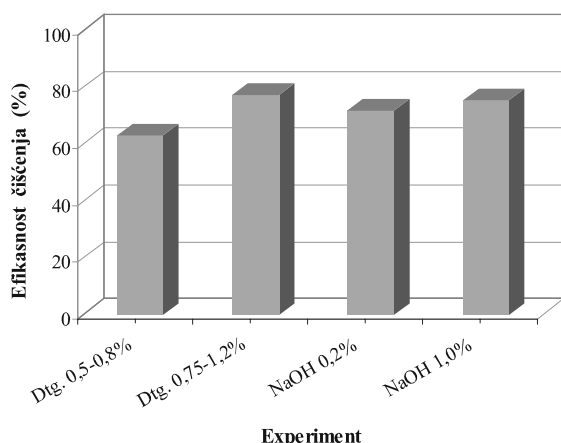
Na slikama 5a i 5b prikazan je fluks permeata nakon čišćenja membrane M50 rastvorima NaOH-a i deterdženta uz primenu ultrazvuka, meren tokom ispiranja neposredno nakon čišćenja. Može se primetiti da fluks na samom početku procesa gotovo dostiže vrednost FČV a zatim i blago opada tokom 30 minuta ispiranja u slučaju čišćenja rastvorom NaOH (slika 5a). Opadanje fluksa mo

Međutim, tokom procesa ispiranja dolazi do ponovnog delimičnog prljanja membrane i sabijanja prethodno razbijenih naslaga koje su zaostale na površini membrane.



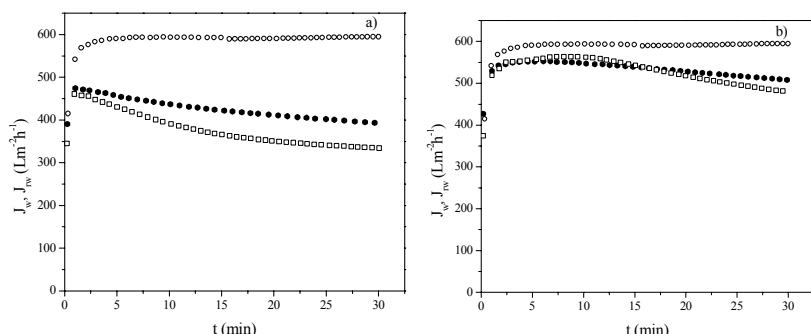
Slika 5. KRIVE FLUKSA DESTILOVANE VODE, TOKOM ISPIRANJA NAKON ČIŠĆENJA U ULTRAZVUKU 30 MIN. RASTVOROM: a) NaOH: (●) 0,2 % (mas) (□) 1,0% (mas); b) deterdženta: (▲) 0,5-0,8 % (mas) (Δ) 0,75-1,2 % (mas); (○) FČV pre eksperimenta.

Figure 5. FLUX CURVES OF DISTILLED WATER DURING THE RINSING AFTER THE ULTRASOUND CLEANING FOR 30 MIN. WITH: a) NaOH: (●) 0,2 % (w/w) (□) 1,0% (w/w); b) Dtg.: (▲) 0,5-0,8 % (w/w) (Δ) 0,75-1,2 % (w/w); (○) Initial Water Flux.



Slika 6. EFIKASNOST ČIŠĆENJA SA NaOH-OM I DETERDŽENTOM NAKON ČIŠĆENJA U ULTRAZVUKU 30 MIN.

Figure 6. CLEANING EFFICIENCY AFTER THE ULTRASOUND CLEANING WITH NaOH AND DETERGENT FOR 30 MIN.



Slika 7. KRIVE FLUKSEVA TOKOM ISPIRANJA NAKON a) PRVOG; b) PONOVLJENOG ČIŠĆENJA ULTRAZVUKOM I NaOH-OM: (●) 0,2 % (mas); (□) 1,0% (mas); (○) FČV pre eksperimenta.

Figure 7. FLUX CURVES DURING THE RINSING AFTER a) THE FIRST; b) REPEATED ULTRASOUND CLEANING WITH NaOH: (●) 0,2 % (w/w); (□) 1,0% (w/w); (○) Initial Water Flux.

Tokom ispiranja nakon čišćenja ultrazvukom i rastvorom deterdženta (slika 5b) nije primećeno opadanje fluksa permeata tokom vremena kao u slučaju čišćenja sa rastvorom NaOH-a.

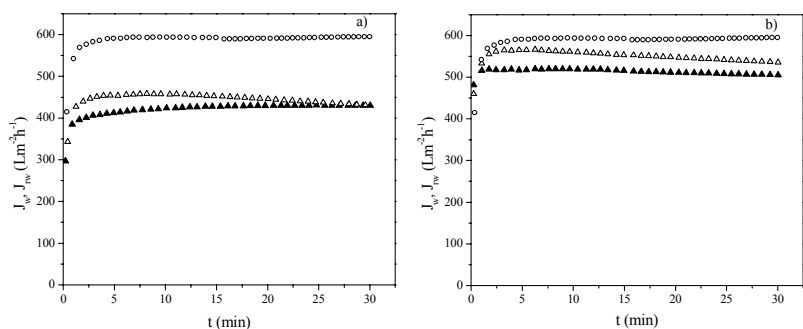
Nakon ispiranja izvršeno je merenje fluksa čiste vode. Da bi se uporedilo hemijsko čišćenje rastvorom natrijum hidroksida i komercijalnog deterdženta, izračunavane su vrednosti efikasnosti čišćenja (slika 6). Čišćenje rastvorom deterdženta veće koncentracije obezbeđuje regeneraciju fluksa od 77%, dok je regeneracija postignuta čišćenjem 1,0 % (mas) rastvorom NaOH 75%.

Poređenjem sa prethodnim istraživanjem autora uočeno je da je efikasnost čišćenja ultrazvukom niža od efikasnosti čišćenja u toku (bez upotrebe ultrazvuka) za rastvore NaOH, dok je u slučaju deterdženta na istom nivou. Stoga je zaključeno da u slučaju membrane M50 nema potrebe primenjivati ultrazvuk.

Ispitivanje uticaja koncentracije NaOH i deterdženta na čišćenje M200

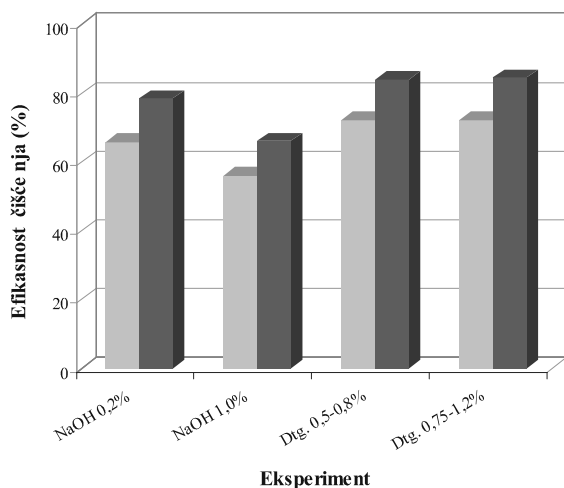
Preliminarnim istraživanjima je utvrđeno da se dužim čišćenjem ultrazvukom ne ostvaruje automatski i najveća efikasnost. Naime, primećeno je da bolje rezultate daje čišćenje ispiranjem destilovanom vodom u periodu između dva čišćenja ultrazvukom. Stoga je nakon prvog ispiranja čišćenje u kupatilu ponovljeno u istom rastvoru a zatim je membrana ispirana destilovanom vodom. Fluks dobijen tokom ispiranja, nakon prvog i ponovljenog čišćenja ultrazvukom i rastvorom NaOH prikazan je na slici 7. Evidentno je da je ostvareno poboljšanje fluksa ponovljenim čišćenjem. Poređenjem slika 5a i 7a uočava se oštiri pad vrednosti fluksa kod membrane M200, što bi se moglo objasniti time da u porama većih dimenzija dolazi do izraženijeg ponovnog prljanja naslagama koje su prethodno razbijene tokom prvog čišćenja u kupatilu.

Nakon prvog i ponovljenog čišćenja membrane M200 rastvorom deterdženta fluks permeata, prikazan na slici 8, ne opada tokom ispiranja kao što je to bio slučaj sa rastvorom NaOH-a. Jedno od objašnjenja bi moglo da bude da je tokom čišćenja u ultrazvuku došlo do raskidanja određених veza između samih proteina i membrane, ali i da je, u poređenju sa rastvorom NaOH-a, rastvor deterdženta u značajnijoj meri, dodatno, hidrolizovao proteine.



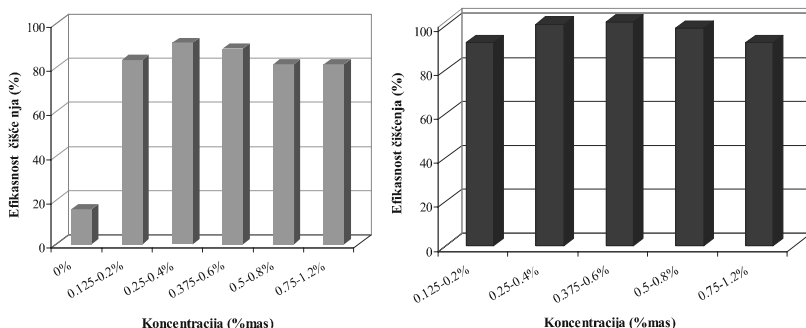
Slika 8. KRIVE FLUKSEVA TOKOM ISPIRANJA NAKON a) PRVOG; b) PONOVLJENOG ČIŠĆENJA ULTRAZVUKOM I RASTVOROM DETERDŽENTA: (▲) 0,5-0,8 % (mas) (Δ) 0,75-1,2 % (mas); (○) FČV pre eksperimenta.

Figure 8. FLUX CURVES DURING THE RINSING AFTER a) THE FIRST; b) REPEATED ULTRASOUND CLEANING WITH DETERGENT: (▲) 0,5-0,8 % (w/w); (Δ) 0,75-1,2 % (w/w); (○) Initial Water Flux.



Slika 9. EFIKASNOST ČIŠĆENJA NAKON PRVOG (■) I PONOVLJENOG (■) ČIŠĆENJA ULTRAZVUKOM 30 MIN.

Figure 9. CLEANING EFFICIENCY AFTER THE FIRST (■) AND REPEATED (■) ULTRASOUND CLEANING FOR 30 MINUTES.



Slika 10. EFIKASNOST ČIŠĆENJA NAKON: a) PRVOG I b) PONOVLJENOG ČIŠĆENJA ULTRAZVUKOM 15 MIN I ISPIRANJA DESTILOVANOM VODOM 15 MIN.

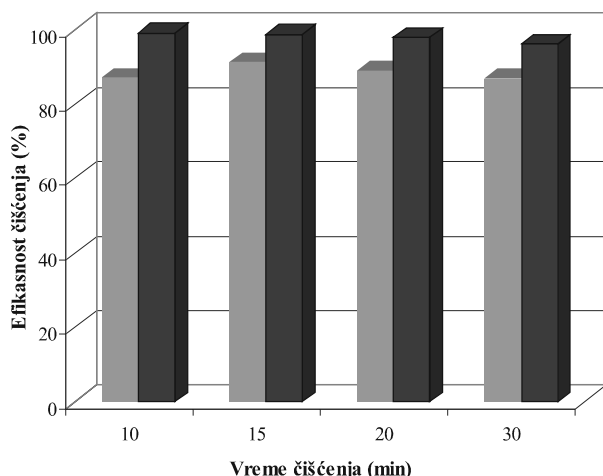
Figure 10. CLEANING EFFICIENCY AFTER: a) THE FIRST AND b) REPEATED ULTRASOUND CLEANING FOR 15 MINUTES AND RINSING WITH DISTILLED WATER FOR 15 MIN

Na osnovu analize efikasnosti čišćenja nakon prvog i ponovljenog čišćenja ultrazvukom može se zaključiti da je efikasnije membranu M200 čistiti u kupatilu rastvorom deterdženta (slika 9). Ostatak naslaga proteina koje nisu izreagovale tokom prvog čišćenja i uklonjene tokom ispiranja, delimično se uklanjaju ponavljanjem procedure čišćenja. Tako se efikasnost povećava u slučaju ponovljenog čišćenja pomoću oba hemijska agensa.

U sledećem koraku izvođeni su eksperimenti optimizacije vremena čišćenja rastvorom deterdženta optimalne koncentracije (Dtg. 0,25 - 0,4% mas.) i ultrazvukom, a dobijeni rezultati prikazani su na slici 10. Na slici se može uočiti da je optimalno vreme prvog čišćenja upravo 15 min. iako razlika između efikasnosti nije značajna i kada su u pitanju druga vremena čišćenja. Praktično, potpunu regeneraciju fluksa, nakon ponovljenog čišćenja, obezbeđuje vreme čišćenja od 15 min. kao i vreme čišćenja od 10 min. (slika 10b).

Optimizacija koncentracije deterdženta i vremena čišćenja za M200

U cilju optimizacije procedure čišćenja membrane M200 u ultrazvučnom kupatilu, a na osnovu prethodne analize efikasnosti, izabran je deterdžent kao efikasnije sredstvo za čišćenje. U preliminarnim istraživanjima je utvrđeno da je veća efikasnost postignuta smanjenjem vremena čišćenja sa 30 na 15 min., dok smanjenje vremena ispiranja sa 30 na 15 min. ne utiče na vrednosti fluksa. Eksperimenti su dalje izvođeni sa još nekoliko rastvora deterdženta različitih koncentracija sa ciljem smanjenja utroška deterdženta odnosno optimizacije koncentracije deterdženta. Na slikama 9a i 9b prikazana je efikasnost čišćenja nakon prvog i ponovljenog čišćenja ultrazvukom. Može se uočiti da nakon prvog čišćenja ultrazvukom u periodu od 15 min. i pri ispiranju od 15 min. Najveću regeneraciju fluksa (91%) obezbeđuje rastvor deterdženta koncentracije 0,25-0,4% (mas) i 0,375-0,6% (mas) ostvarena efikasnost od 100%.



Slika 11: EFIKASNOST ČIŠĆENJA NAKON PRVOG (■) I PONOVLJENOG (■) ČIŠĆENJA RASTVOROM DETERDŽENTA KONCENTRACIJE 0,25-0,4% (mas) U ZAVISNOSTI OD VREMENA ČIŠĆENJA U ULTRAZVUČNOM KUPATILU, BAZIRANA NA MERENJU FLUKSA TOKOM ISPIRANJA ČISTOM VODOM 15 MIN.

Figure 11. CLEANING EFFICIENCY AFTER THE FIRST (■) AND REPEATED (■) CLEANING WITH 0.25-0.4% (w/w) DETERGENT CONCENTRATION DEPENDING ON THE TIME OF ULTRASOUND CLEANING, BASED ON MEASURED FLUX DURING THE RINSING FOR 15 MINUTES

ZAKLJUČAK

Ovaj rad obuhvata ispitivanje mogućnosti čišćenja keramičkih membrana sa srednjim prečnikom pora od 50 i 200 nm zaprljanih proteinima surutke ultrazvukom. Dobijeni eksperimentalni rezultati omogućili su preporuku unapređene procedure čišćenja membrana.

Ispiranje obe membrane je doprinelo određenom stepenu regeneracije fluksa. Međutim, fluks permeata nakon ispiranja je i dalje neprihvatljivo nizak. Čišćenje membrane od 50 nm ultrazvučnim talasima nije se pokazalo efikasnim najverovatnije zbog toga što su pore membrane relativno male da bi ultrazvuk mogao da deluje. S druge strane, u slučaju membrane od 200 nm ultrazvuk se pokazao po-

godnim. Optimalna koncentracija deterdženta je 0,25 %(mas) P3-Ultrasil 67 i 0,4 %(mas) P3-Ultrasil 69 koja obezbeđuje efikasnost od 91% nakon 15 min čišćenja i 15 min ispiranja destilovanom vodom. Ponavljanjem čišćenja ultrazvukom i ponovnim iskorišćavanjem rastvora postiže se potpuna regeneracija fluksa. To se, takođe, postiže i ponovnim čišćenjem u rastvoru deterdženta optimalne koncentracije u periodu 10 min.

LITERATURA

1. Argüello, M.A., Alvarez, S., Riera, F.A., Alvarez, R.: Utilization of enzymatic detergents to clean inorganic membranes fouled by whey proteins. *Separation and Purification Technology*, 41 (2005) 147-154.
2. Bartlett, M., Bird, M.R., Howell, J.A.: An experimental study for the development of a

qualitative membrane cleaning model. *Journal of Membrane Science*, 105 (1995) 147-157.

3. Kang, S., Choo, K.: Use of submerged microfiltration membranes for glass industry wastewater reclamation: pilot-scale testing on membrane cleaning. *Desalination*, 189 (2006) 170-180.
4. Lamminen, M.O., Walker, H.W., Weavers, L.K.: Mechanisms and factors influencing the ultrasonic cleaning of particle-fouled ceramic membranes. *Journal of Membrane Science*, 237 (2004) 213-223.
5. Li, J., Sanderson, R.D., Jacobs, E.P.: Ultrasonic cleaning of nylon microfiltration membranes fouled by Kraft paper mill effluent. *J. of Membrane Science*, 205 (2002) 247-257.
6. Muñoz-Aguado, M.J., Wiley, D.E., Fane, A.G.: Enzymatic and detergent cleaning of a polysulfone ultrafiltration membrane fouled with BSA and whey. *Journal of Membrane Science*, 117 (1996) 175-187.
7. Muthukumar, S., Kentish, S., Lalchandani, S., Ashokkumar, M., Mawson, R., Stevens, G.W., Grieser, F.: The optimisation of ultrasonic cleaning procedures for dairy fouled ultrafiltration membranes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 12 (2005) 29-35.
8. Muthukumar, S., Kentish, S., Stevens, G.W., Ashokkumar, M., Mawson, R.: The application of ultrasound to dairy ultrafiltration: The influence of operating conditions. *Journal of Food Engineering*, 81 (2007) 364-373.
9. Muthukumar, S., Yang, K., Seuren, A., Kentish, S., Ashokkumar, M., Stevens, G.W., Grieser, F.: The use of ultrasonic cleaning for ultrafiltration membranes in the dairy industry. *Separation and Purification Technology*, 39 (2004) 99-107.
10. Nigam, M.O., Bansal, B., Chen, X.D.: Fouling and cleaning of whey protein concentrate fouled ultrafiltration membranes. *Desalination*, 218 (2008) 313-322.
11. Ramachandra Rao, H.G.: Mechanisms of flux decline during ultrafiltration of dairy products and influence of pH on flux rates of whey and buttermilk. *Desalination*, 144 (2002) 319-324.
12. Väisänen, P., Bird, M.R., Nyström, M.: Treatment of UF membranes with simple and formulated cleaning agents. *Trans IChemE, Vol 80, Part C, June 2002*.

SUMMARY

THE APPLICATION OF ULTRASOUND FOR CLEANING OF MEMBRANES EMPLOYED IN THE DIARY INDUSTRY

Svetlana S. Popović, Nataša Lj. Lukić, Zorica I. Jaramazović, Ivana M. Šijački

University of Novi Sad, Faculty of Technology

Membrane separation processes are widely employed in the dairy industry. Negative aspect of membrane filtration application is flux reduction due to the deposits formation on the surface and/or in membrane pores. This is apparent in the case of protein filtration in general, especially in whey proteins filtration. Membranes used in the dairy industry are cleaned frequently in order to regenerate the permeate flux. This paper describes cleaning procedure of ceramic tubular membranes (50 and 200 nm mean pore size) fouled with whey proteins employing combination of chemical agents and ultrasound. Ultrasound cleaning efficiency and influence of concentration of different cleaning agents on flux recovery were investigated. The caustic solution and the commercial detergents P3-Ultrasil 67 and P3-Ultrasil 69 were used as chemical cleaning agents. The ultrasound had frequency of 35 kHz. In the case of 50 nm membrane, flux recovery was not improved by ultrasound application. In the case of 200 nm membrane, the ultrasound cleaning improved flux recovery, especially if detergent was used. The optimal detergent concentration was combination of 0,25% (w/w) Ultrasil P3 67 and 0,4% (w/w) Ultrasil P3 69. Namely, the forementioned combination produced efficiency of 91% after 15 min of cleaning and 15 min of rinsing with distilled water.

Key words: ceramic membranes • whey proteins • rinsing • chemical cleaning • ultrasound

KATARINA G. DURAKOVIĆ
 SPASENIJA D. MILANOVIĆ
 MARIJANA Đ. ČARIĆ
 MIRELA D. ILIČIĆ
 MIRJANA S. ĐURIĆ
 MIODRAG N. TEKIĆ
 JASMINA LENDEL

Univerzitet u Novom Sadu,
 Tehnološki fakultet

NAUČNI RAD

UDK:637.146.3:637.146.1:637.05

FUNKCIONALNI NISKOENERGETSKI FERMENTISANI MLEČNI NAPITAK PROIZVEDEN UZ PRIMENU KOMBUHE*

U radu ispitana je mogućnost proizvodnje funkcionalnih niskoenergetskih fermentisanih mlečnih napitaka primenom čajne gljive – kombuhe, koja predstavlja simbiotsku kulturu više vrsta kvasaca i bakterija sirćetne kiseline. Funkcionalni niskoenergetski fermentisani mlečni napici dobijeni su iz mleka sa 0,9% mlečne masti dodatkom 1,5% i 3,0% koncentrovanog inokuluma čajne gljive i 0,12% kombuha kapsule. Hemijski sastav, fizičko–hemijske i teksturalne karakteristike, kao i senzorni kvalitet funkcionalnih niskoenergetskih fermentisanih mlečnih napitaka, ispitan je nakon proizvodnje i tokom 10 dana skladištenja.

Primenom čajne gljive proizvedeni su funkcionalni niskoenergetski fermentisani mlečni napici visoke nutritivne vrednosti, prijatnog, blagog i osvežavajućeg ukusa i mirisa.

Ključne reči: čajna gljiva • fermentisani mlečni napici • fizičko – hemijske karakteristike • teksturalne karakteristike

UVOD

Savremeni trend u industriji prerađevine mleka je proizvodnja fermentisanih mlečnih napitaka koji doprinose poboljšanju zdravlja zahvaljujući prisutnim funkcionalnim sastojcima (probiotici, prebiotici i dr.). Tehnologija fermentisanih mlečnih napitaka je veoma kompleksna i primarno zavisi od sastava supstrata, izbora starter kulture i parametara procesa.

Pored primene probiotika i prebiotika u proizvodnji fermentisanih mlečnih proizvoda, na tržištu sve više raste potražnja i za funkcionalnim mlečnim proizvodima sa niskim sadržajem masti (Mattila–Sandholm et al., 2002). Složena struktura masne globule, tj. sastav mlečne masti unutar globule, bitno utiče na senzorne karakteristike (boja, ukus, miris, tekstura, konzistencija), kao i na sadržaj mikrokomponenta (liposolubilni vitamini – pre svega vitamin A, holesterol, proteini, itd.) u finalnom proizvodu (Tamime, 2006).

Kombuha je simbiotska kultura više vrsta kvasaca (iz rodova *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Saccharomyces*, *Torulaspora* i *Candida*) i bakterija sirćetne kiseline (rodovi bakterija *Acetobacter* i *Gluconobacter*). Primarna bakterija u ovoj simbiozi je *Acetobacter xylinum*. Ova simbioza sposobna je da, u inkubacionom periodu od 7 do 10 dana, prevede veoma jednostavan supstrat (saharozu i crni čaj), pod aerobnim uslovima, u blago gazirani, blago kiseo, osvežavajući napitak, koji sadrži šećere, glukonsku, glukuronsku, L–mlečnu, sirćetnu, jabučnu, vinsku, li-

munsku i oksalnu kiselinu, etanol, 14 aminokiselina, u vodi rastvorljive vitamine, antibiotski aktivne materije, neke hidrolitičke enzime i dr.

Čajna gljiva se obično kultiviše na zaslađenom crnom i zelenom čaju, mada raste i na drugim supstratima, kao što su pivo, koka – kola, vino, razni aromatični napici i dr. (Lončar et al., 2001; Lončar et al., 2006; Malbaša et al., 2008). Na površini fermentacione tečnosti čajna gljiva obrazuje belo–braonkasto višeslojnu želatinoznu skramu lamelarne strukture, koja pluta usled prisustva ugljenik–(IV)–oksida, koji je metabolički produkt. Osnovna komponenta membrane je celuloza.

Pored osvežavajućeg efekta, napitak od čajne gljive pokazuje i terapeutsko dejstvo. Smatra se da deluje povoljno kod upale krajnika, glavobolje, arterioskleroze, reumatizma, otežanog varenja, jačanja imuno sistema i dr. Celulozna skrama čajne gljive se koristi za tretman opekotina i povreda kože (Malbaša et al., 2001; Dufresne and Farnworth, 1999).

Novija istraživanja dokazala su antibiotsku aktivnost kombuhe prema *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Agrobacterium tumefaciens*, uglavnom zahvaljujući produkciji sirćetne kiseline tokom fermentacije (Sreeramulu et al., 2000).

Poslednjih godina su se na inostranom tržištu, u Nemačkoj, Austriji, Mađarskoj, Hrvatskoj, Australiji i SAD, pojavili i različiti komercijalni proizvodi od kombuhe, uz intenzivnu ekonomsku propagandu. Medijski je najviše promovisana u SAD, uz preporuke da

*Rad je deo istraživanja u okviru projekta TR–20008 „Funkcionalni fermentisani mlečni napitak – nova tehnologija”, koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Adresa autora:
 Katarina Duraković, dipl. inž.,
 Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet,
 Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad
 tel: 021/485-3712; fax: 021/450-413
 e–mail: stay@uns.ns.ac.yu

snižava krvni pritisak, suzbija artritis, ojačava imuno sistem i leči karcinom. Ovi zdravstveni efekti izazvali su povećan interes za kombuhu, ali ipak treba naglasiti da do sada nisu detaljno naučno dokazani (Greenwalt et al., 2000).

MATERIJAL I METODI

Za proizvodnju fermentisanih mlečnih napitaka u laboratorijskim uslovima korišćeno je pasterizovano, homogenizovano mleko sa 0,9% mlečne masti proizvođača AD IMLEK ogranak Novosadska mlekara, Novi Sad.

Za inokulaciju je korišćena:

1) PROBIOTSKA STARTER KULTURA – Delvo–Yog MY–721 proizvođača DSM FOOD SPECIALITES, Holandija u količini od 0,005%.

2) KONCENTROVANI INOKULUM ČAJNE GLJIVE – kultivacija čajne gljive na supstratu sa saharozom koncentracije 70 g/l kao izvoru C–atoma uz dodatak crnog čaja 1,5 g/l.

Priprema supstrata: u 1 litar prokuvane vode dodato je 70 grama saharoze, 1,5 gram crnog čaja i ostavljeno je da kluča 5 minuta. Čaj je ohlađen na sobnu temperaturu, proceden, a zatim je dodato 100 ml inokuluma iz prethodne fermentacije. Čaša je prekrivena tkaninom propusnom za vazduh. Inkubacija je vršena na temperaturi 29,5°C tokom 7 dana. 700 ml pripremljenog inokuluma (suve materije 6,5%) koncentrisano je uparavanjem pod vakumom (40°C) do zapremine od 70 ml (suve materije 64%).

3) KOMBUCHA KAPSULE – dijetetski dodatak ishrani obogaćen vitaminom C+E i β-karotenom. (Proizvođač: Dr. Forster, GmbH, Dornhofstrasse 14, D–63263 Neu Isenburg, Nemačka).

Kontrolni jogurt je proizveden iz pasterizovanog, homogenizovanog mleka sa 0,9% mlečne masti uz korišćenje 0,005% starter kulture. Fermentacija je vršena na 42°C do postizanja pH od 4,5. Gel je potom hlađen

na temperaturu 8 °C i homogenizovan, tj. razbijen mešalicom.

Tri fermentisana mlečna napitka proizvedena su po istom tehnološkom postupku kao kontrolni jogurt uz dodatak 1,5% i 3% koncentrovanog inokuluma čajne gljive (uzorci 2 i 3, respektivno), odnosno 0,12% kombuha kapsule (uzorak 4). Fermentacija je takođe vršena na 42°C do postizanja pH od 4,5. Gruš je potom hlađen na temperaturu 8°C i homogenizovan.

Proizvedeni su sledeći uzorci:

- 1) fermentisani mlečni napitak uz primenu probiotske starter kulture – kontrolni jogurt;
- 2) fermentisani mlečni napitak dodatkom 13,5 ml koncentrovanog inokuluma čajne gljive u 900 ml mleka – napitak sa 1,5 % kombuhe;
- 3) fermentisani mlečni napitak dodatkom 27,0 ml koncentrovanog inokuluma čajne gljive u 900 ml mleka – napitak sa 3,0 % kombuhe;
- 4) fermentisani mlečni napitak sa 0,12% sadržaja kombuha kapsule – napitak sa 0,12% kombuha kapsule.

Hemijski i fizički kvalitet proizvedenih varijanti fermentisanog mlečnog napitka, ispitan je nakon proizvodnje i 10 dana skladištenja metodama (Carić i sar., 2000):

- **suva materija**

sadržaj suve materije određen je direktnom metodom sušenja na temperaturi 102 ± 1°C;

- **mlečna mast**

sadržaj mlečne masti određen je metodom po Gerberu (Carić i sar., 2000);

- **ukupni proteini**

sadržaj proteina određen je metodom po Kjeldahlu-u (Carić i sar., 2000);

- **pH**

aktivna kiselost određena je elektrohemijski pomoću pH-metra (pH Spear, Eutech Instruments Oakton);

- **ukupna kiselost**

ukupna kiselost određena je titracijom metodom po Soxhlet–Henkelu (°SH) (Carić i sar., 2000);

- **pepeo**

sadržaj pepela određen je metodom žarenja na temperaturi 550°C (Carić i sar., 2000);

Sinerezis surutke (izražen u ml) određen je nakon 3 sata filtracije 50g uzorka probiotskog jogurta na sobnoj temperaturi (Atamer i sar., 1996);

Sposobnost vezivanja vode (SVV) po metodi Guzman – Gonzalez et al., 1999. predstavlja količinu surutke (%) izdvojene nakon centrifugiranja 20 g uzorka u trajanju od 30 min. na sobnoj temperaturi;

Teksturane karakteristike varijanti fermentisanih mlečnih napitaka ispitane su primenom uređaja Texture Analyser TA.HD^{plus} (Micro Stable System, Engleska) na temperaturi +4°C. Sila kompresije je merena korišćenjem diska A/BE prečnika 35 mm i ekstenzionog tega čije je opterećenje 5 kg. Korišćena je opcija "Return to Start". Brzina pomeranja diska pre i tokom testa je iznosila 1,0 mm/s. Disk je prelazio rastojanje od 30 mm.

Senzornu analizu fermentisanih mlečnih napitaka izvršila je stručna komisija prema utvrđenom bodovnom sistemu.

- **energetska vrednost**

energetska vrednost fermentisanih mlečnih napitaka u 100 grama proizvoda izračunata je na sledeći način:

$$EV = (\% \text{ proteina} \times 4,4 + \% \text{ mlečne masti} \times 9,3 + \% \text{ ukupni šećeri} \times 4,1) \times 4,186 \text{ (Kcal/100g)}.$$

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni.

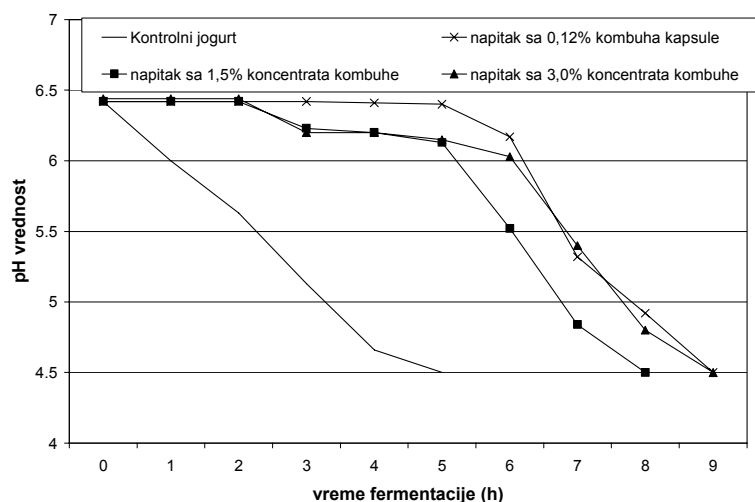
REZULTATI I DISKUSIJA

Promena pH tokom fermentacije mleka

Tok fermentacije mleka u procesu proizvodnje fermentisanih mlečnih napitaka prikazan je na slici 1.

Fermentacija je zaustavljena u svim uzorcima nakon postizanja pH=4,5. Vreme potrebno da se u procesu proizvodnje uzorka postigne pH vrednost od 4,5 kreće se od 5 sati (kontrolni jogurt) do maksimalno 9 sati (uzorak 4 – napitak sa 0,12% kombuha kapsule). Vreme fermentacije u fermentisanom napitku proizvedenom sa 1,5% koncentrata kombuhe kraće je (uzorak 2, prosečno 8,3h) nego u uzorku sa 3% koncentrata kombuhe (uzorak 3).

Na slici 1 uočava se različit trend pada pH vrednosti u uzorcima tokom fermentacije.



Slika 1. PROMENA pH VREDNOSTI U UZORCIMA FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA TOKOM FERMENTACIJE

Figure 1. CHANGE OF pH VALUE IN FERMENTED MILK BEVERAGES DURING FERMENTATION

Dok u kontrolnom uzorku proizvedenom uz primenu probiotske starter kulture pH vrednost konstantno opada od početne 6,5 do željene vrednosti (pH=4,5), u uzorcima sa dodatkom koncentrata čajne gljive (uzorci 2 i 3) i kombuha kapsule (uzorak 4) trend pada pH vrednosti je potpuno drugačiji. Krive pada pH vrednosti u uzorku 2 i uzorku 3 poklapaju se u toku 5,45h, a potom dolazi do bržeg pada pH vrednosti u uzorku sa dodatkom 1,5% koncentrata kombuhe (uzorak 3). Konstantna, nepromenjena pH vrednost u uzorku 4 (dodato 0,12% kombuha kapsule) zadržala se 5,5h, da bi potom nakon 6,5h tok fermentacije imao isti trend kao u uzorku 3 u kojem je dodato 3,0% koncentrata čajne gljive. Dobijeni rezultati u saglasnosti su sa prethodnim istraživanjima autora Lončar i sar., (2001) i Milanović i sar., (2002).

Tabela 1. HEMIJSKI SASTAV, FIZIČKO–HEMIJSKE KARAKTERISTIKE I ENERGETSKA VREDNOST FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA NAKON PROIZVODNJE

Table 1. CHEMICAL COMPOSITION, PHYSICO–CHEMICAL CHARACTERISTICS AND ENERGY VALUE OF FERMENTED MILK BEVERAGES AFTER PRODUCTION

Komponenta (%) /Parametar kvaliteta	Statistička vrednost	UZORAK			
		Kontrolni jogurt	Napitak sa 0,12% kombuha kapsule	Napitak sa 1,5% koncentrata kombuhe	Napitak sa 3,0% koncentrata kombuhe
Suva materija	SV	10,10	10,16	11,10	12,11
	SD	0,08	0,08	0,10	0,12
	CV	0,80	0,85	0,92	1,05
Mlečna mast	SV	0,88	0,88	0,88	0,88
	SD	0,00	0,00	0,00	0,00
	CV	0,00	0,00	0,00	0,00
Ukupni proteini	SV	3,37	3,27	3,20	3,10
	SD	0,10	0,07	0,05	0,10
	CV	3,08	2,14	1,56	3,35
Pepeo	SV	0,78	0,78	0,76	0,75
	SD	0,00	0,01	0,00	0,01
	CV	0,73	1,47	0,00	2,02
Laktoza	SV	5,07	5,23	6,26	7,38
	SD	0,17	0,07	0,15	0,12
	CV	3,41	1,34	2,42	1,72
Ukupna kiselost, gCH ₃ COOH/L	SV	4,64	4,81	4,52	4,65
	SD	0,07	0,12	0,13	0,24
	CV	1,61	2,49	2,93	5,37
Kiselost, °SH	SV	32,66	31,46	32,13	30,73
	SD	1,84	3,60	2,31	2,13
	CV	5,65	11,44	7,21	6,95
SVV,%	SV	29,33	43,33	42,5	43,16
	SD	0,57	0,76	0,86	2,30
	CV	1,96	1,76	2,03	5,34
Sinerezis,mL	SV	31,66	31,16	31,83	31,33
	SD	0,57	0,28	1,04	0,76
	CV	1,82	0,92	3,26	2,43
Energetska vrednost, (Kcal/100g)		183,34	184,25	200,63	218,00

Hemijski sastav, fizičko–hemijske karakteristike i energetska vrednost fermentisanih mlečnih napitaka nakon proizvodnje

U tabeli 1 prikazan je hemijski sastav, fizičko–hemijske karakteristike (ukupna kiselost, kiselost /°SH/, sposobnost vezivanja vode i sinerezis surutke) i energetska vrednost uzoraka fermentisanih mlečnih napitaka nakon proizvodnje.

Iz tabele 1 uočljiv je porast sadržaja suve materije sa porastom količine dodatog koncentrata kombuhe. U napitku sa 0,12% kombuha kapsule sadržaj suve materije približan je kao u kontrolnom jogurtu.

Sadržaj proteina u uzorcima kreće se od 3,10% (napitak sa 3% kombuhe) do 3,37% (kontrolni jogurt) i prosečno iznosi 3,23%.

Sadržaj pepela u uzorcima prosečno iznosi 0,77%.

Prosečan hemijski sastav uzoraka fermentisanih mlečnih napitaka odgovara dobijenim tokom ranijih istraživanja mogućnosti korišćenja kombuhe u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka (Lončar i sar., 2001; Milanovać i sar., 2002).

Sinerezis surutke približno je isti u svim uzorcima i prosečno iznosi 31,5 ml.

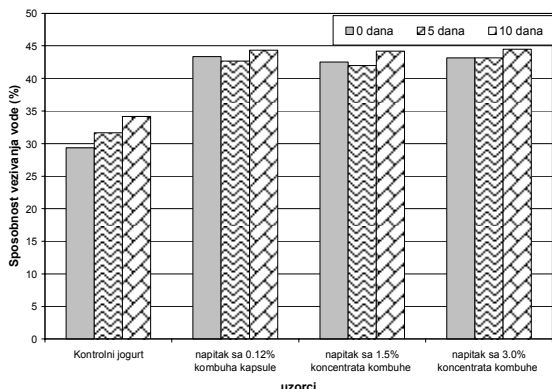
Vrednosti sposobnosti vezivanja vode pokazuju da kontrolni jogurt ima

najmanju sposobnost vezivanja vode koja iznosi 29,33 %, dok najveću imaju napici sa 1,5% i 3,0% koncentrata kombuhe (uzorci 2 i 3, respektivno).

Fizičko–hemijske karakteristike fermentisanih mlečnih napitaka tokom skladištenja

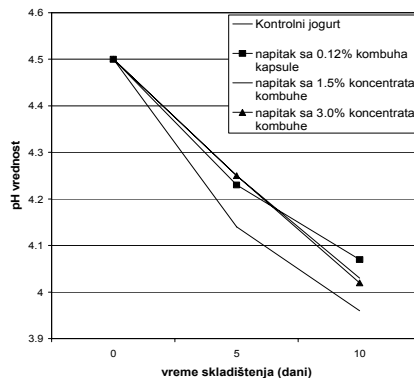
Nakon 10 dana skladištenja u svim uzorcima proizvedenih mlečnih napitaka povećava se sposobnost vezivanja vode (slika 2).

Na slici 3 prikazana je promena pH vrednosti tokom 10 dana skladištenja.



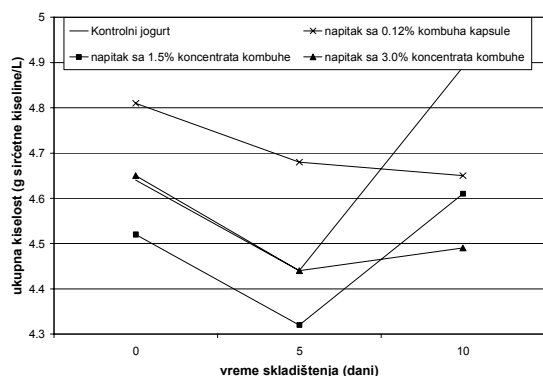
Slika 2. PROMENA SPOSOBNOSTI VEZIVANJA VODE U FERMENTISANIM MLEČNIM NAPICIMA TOKOM 10 DANA SKLADIŠTENJA

Figure 2. CHANGE OF WATER-HOLDING CAPACITY IN FERMENTED MILK BEVERAGES DURING 10 DAYS OF STORAGE



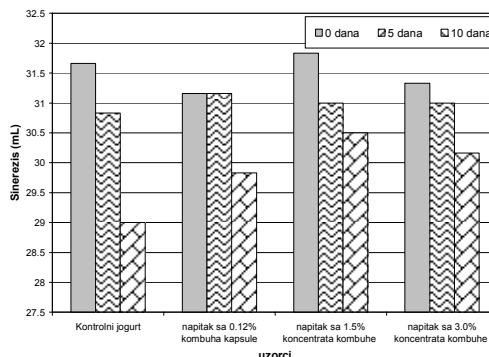
Slika 3. PROMENA pH VREDNOSTI U FERMENTISANIM MLEČNIM NAPICIMA TOKOM 10 DANA SKLADIŠTENJA

Figure 3. CHANGE OF pH VALUE IN FERMENTED MILK BEVERAGES DURING 10 DAYS OF STORAGE



Slika 4. PROMENA UKUPNE KISELOSTI U FERMENTISANIM MLEČNIM NAPICIMA TOKOM 10 DANA SKLADIŠTENJA

Figure 4. CHANGE OF TOTAL ACIDITY IN FERMENTED MILK BEVERAGES DURING 10 DAYS OF STORAGE



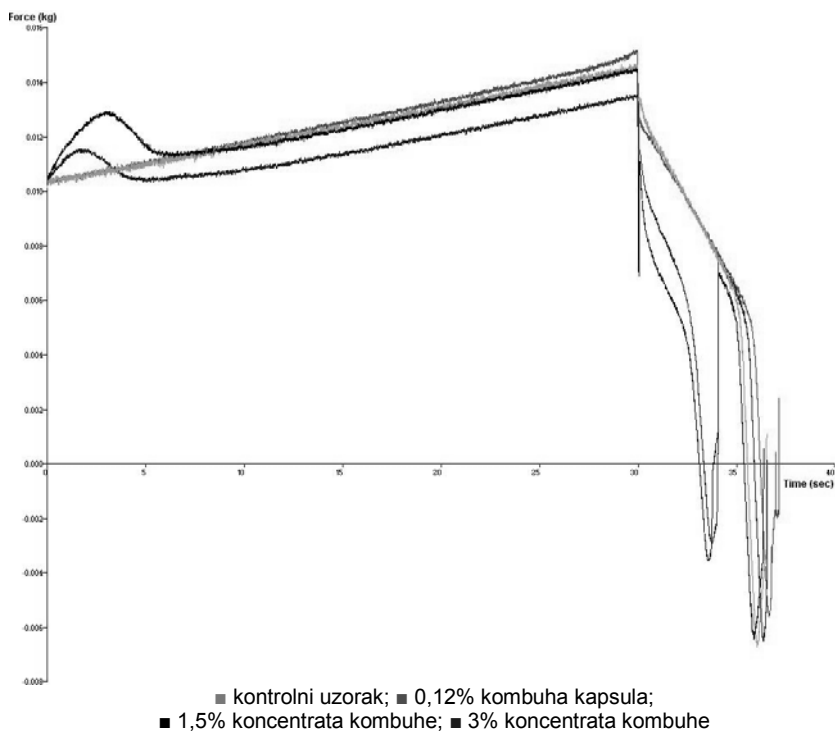
Slika 5. PROMENA SINEREZISA SURUTKE U FERMENTISANIM MLEČNIM NAPICIMA TOKOM 10 DANA SKLADIŠTENJA

Figure 5. CHANGE OF WHEY SYNERESIS IN FERMENTED MILK BEVERAGES DURING 10 DAYS OF STORAGE

Tabela 2. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA NAKON PROIZVODNJE

Table 2. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED MILK BEVERAGES AFTER PRODUCTION

Uzorak		Čvrstoća	Konzistencija	Kohezivnost	Indeks viskoziteta
		(g)	(gs)	(g)	(gs)
Kontrolni jogurt	sv	15,155	293,070	-7,245	-2,172
	sd	0,637	184,615	0,733	0,318
	cv	4,204	62,994	-10,115	-14,630
Napitak sa 0,12% kombuha kapsule	sv	15,305	432,281	-6,163	-1,490
	sd	0,279	3,035	0,153	0,190
	cv	1,823	0,702	-2,485	-12,770
Napitak sa 1,5% koncentrata kombuhe	sv	14,641	404,057	-8,466	-4,024
	sd	0,605	16,708	1,887	2,231
	cv	4,132	4,135	-22,292	-55,434
Napitak sa 3,0% koncentrata kombuhe	sv	13,671	380,719	-7,809	-2,932
	sd	0,906	32,571	1,040	1,249
	cv	6,627	8,555	-13,317	-42,592



Slika 6. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA NAKON PROIZVODNJE

Figure 6. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED MILK BEVERAGES AFTER PRODUCTION

Promena ukupne kiselosti tokom 10 dana skladištenja prikazana je na slici 4.

Ukupna kiselost proizvedenih napitaka kreće se od minimalno 4,52 (gCH₃COOH/L) za napitak sa 1,5% koncentrata kombuhe, do maksimalne vrednosti 4,81(gCH₃COOH/L) za napitak sa 0,12% kombuha kapsule.

Promena sinerezisa surutke u fermentisanim mlečnim napicima tokom 10 dana skladištenja prikazana je na slici 5. U kontrolnom uzorku, kao i u

uzorcima proizvedenim sa kapsulom i koncentratom kombuhe, sinerezis se smanjuje tokom skladištenja, što ukazuje prisutnu slabije izraženu aktivnost dodatog kombuha startera, koji pozitivno utiče na kvalitet i trajnost proizvoda.

Teksturalne karakteristike fermentisanih mlečnih napitaka

U tabeli 2 i na slici 6 prikazane su teksturalne karakteristike (čvrstoća,

konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta) fermentisanih mlečnih napitaka merenih na aparatu Texture Analyser TA.HD^{plus} nakon proizvodnje.

Iz tabele 2 vidi se da najveću čvrstoću ima napitak proizveden sa 0,12% kombuha kapsule (15,305g), dok napitak sa 3,0% kombuhe ima najmanju čvrstoću koja iznosi 13,671 g. Čvrstoća napitaka na slici 6 predstavlja pik ili maksimalnu vrednost sile.

Konzistencija napitaka predstavlja je u vidu površine ispod krive zavisnosti sile od vremena (na slici 6 pozitivan deo krive). Veća vrednost konzistencije ukazuje na gušći proizvod. Konzistencija napitka sa 0,12% kombuha kapsule je najveća i iznosi 432,28 gs. Najmanja vrednost konzistencije je u kontrolnom jogurtu 290,070 gs.

Kohezivnost napitaka predstavlja najnegativniju vrednost na krivi zavisnosti (slika 6). Što je vrednost negativnija, to je uzorak kohezivniji. Maksimalna vrednost kohezije iznosi -8,466 g (napitak sa 1,5% koncentrata kombuhe), dok je najniža u napitku sa 0,12% kombuha kapsule -6,163 g.

Indeks viskoziteta prikazan je u vidu površine ispod apscise (slika 6).

Evidentno je da napitak sa 1,5% koncentrata kombuhe ima najveći indeks viskoziteta i iznosi -4,024 gs, dok je najniži indeks viskoziteta u napitku sa 0,12% kombuha kapsule i iznosi -1,490 gs.

Nakon deset dana skladištenja (tabela 3) najveću čvrstoću ima kontrolni jogurt i ona iznosi 15,144 g, dok napitak sa 3,0% kombuhe ima najmanju čvrstoću i iznosi 14,284 g. Čvrstoća napitaka tokom deset dana skladištenja prikazana je na slikama 7 i 8a.

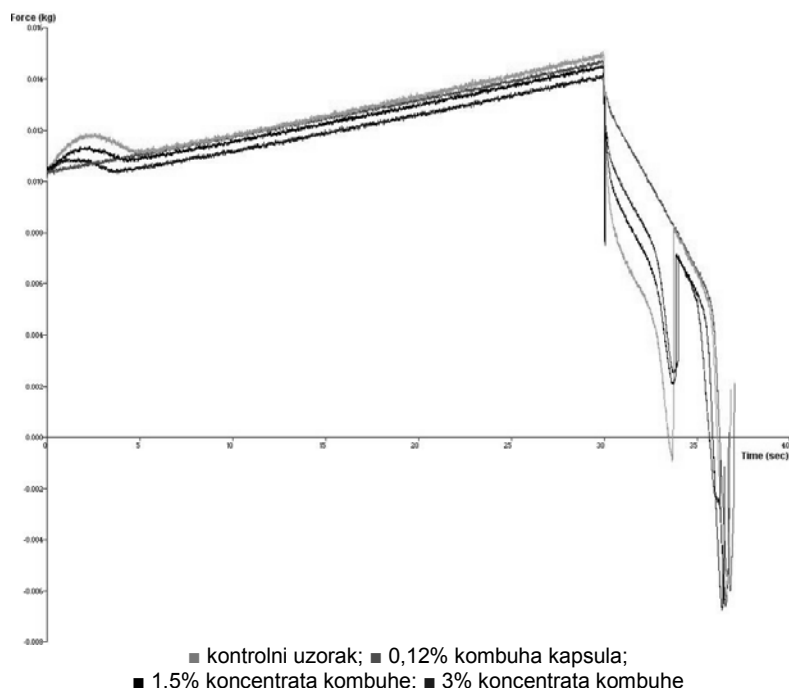
Konzistencija napitka sa 0,12% kombuha kapsule je najveća i iznosi 430,814 gs. Najmanja vrednost konzistencije je u napitku sa 3,0% kombuhe nakon deset dana skladištenja i iznosi 399,491 gs. Konzistencija napitaka tokom deset dana skladištenja prikazana je na slikama 7 i 8b.

Nakon deset dana skladištenja maksimalna vrednost kohezije iznosi -8,141 g u kontrolnom jogurtu, dok je najniža u napitku sa 0,12% kombuha kapsule -6,156 g. Kohezivnost napitaka tokom deset dana skladištenja prikazana je na slikama 7 i 8c.

Tabela 3. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA NAKON 10 DANA SKLADIŠTENJA

Table 3. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED MILK BEVERAGES AFTER 10 DAYS OF STORAGE

Uzorak		Čvrstoća	Konzistencija	Kohezivnost	Indeks viskoziteta
		(g)	(gs)	(g)	(gs)
Kontrolni jogurt	sv	15,144	412,597	-8,141	-3,234
	sd	0,169	17,955	1,865	1,697
	cv	1,116	4,352	-22,907	-52,470
Napitak sa 0,12% kombuha kapsule	sv	14,870	430,814	-6,156	-1,466
	sd	0,056	1,668	0,094	0,050
	cv	0,378	0,387	-1,534	-3,411
Napitak sa 1,5% koncentrata kombuhe	sv	14,678	408,384	-7,377	-2,330
	sd	0,439	23,880	0,845	0,686
	cv	2,991	5,847	-11,451	-29,447
Napitak sa 3,0% koncentrata kombuhe	sv	14,284	399,491	-6,986	-1,910
	sd	0,946	35,146	0,256	0,199
	cv	6,620	8,798	-3,671	-10,415



Slika 7. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA NAKON 10 DANA SKLADIŠTENJA

Figure 7. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED MILK BEVERAGES AFTER 10 DAYS OF STORAGE

Najveći indeks viskoziteta (-3,234 gs) je u kontrolnom jogurtu nakon deset dana skladištenja, dok je najniži u napitku sa 0,12% kombuha kapsule i iznosi -1,466 gs. Indeks viskoziteta tokom deset dana skladištenja prikazan je na slikama 7 i 8d.

Generalno posmatrano, čvrstoća fermentisanog mlečnog napitka sa 3% koncentrisanog inokuluma kombuhe je konstantna prvih pet dana skladištenja, a potom raste, dok u fermenti sanim mlečnim napicima sa 0,12% kombuha kapsule i 1,5% koncentrisanog inokuluma čvrstoća ima suprotan trend. Čvrstoća kontrolnog jogurta se neznatno menja tokom skladištenja.

Prosečne vrednosti konzistencije fermentisanih mlečnih napitaka sa 0,12% kombuha kapsule i 1,5% koncentrata inokuluma kombuhe se veoma malo razlikuju tokom skladištenja, dok, u uzorku sa 3% koncentrata inokuluma kombuhe zabeležen porast izmerene vrednosti konzistencije tokom skladištenja.

Kohezivnost fermentisanog napitka sa 0,12% kapsule je bez promene tokom skladištenja, dok u uzorku sa 1,5% koncentrata inokuluma kombuhe raste. U fermentisanom mlečnom napitku proizvedenom sa 3% koncentrisanog inokuluma kohezivnost opada tokom skladištenja, što znači da je rad sile kohezije intenzivno izražen nakon 10 dana skladištenja.

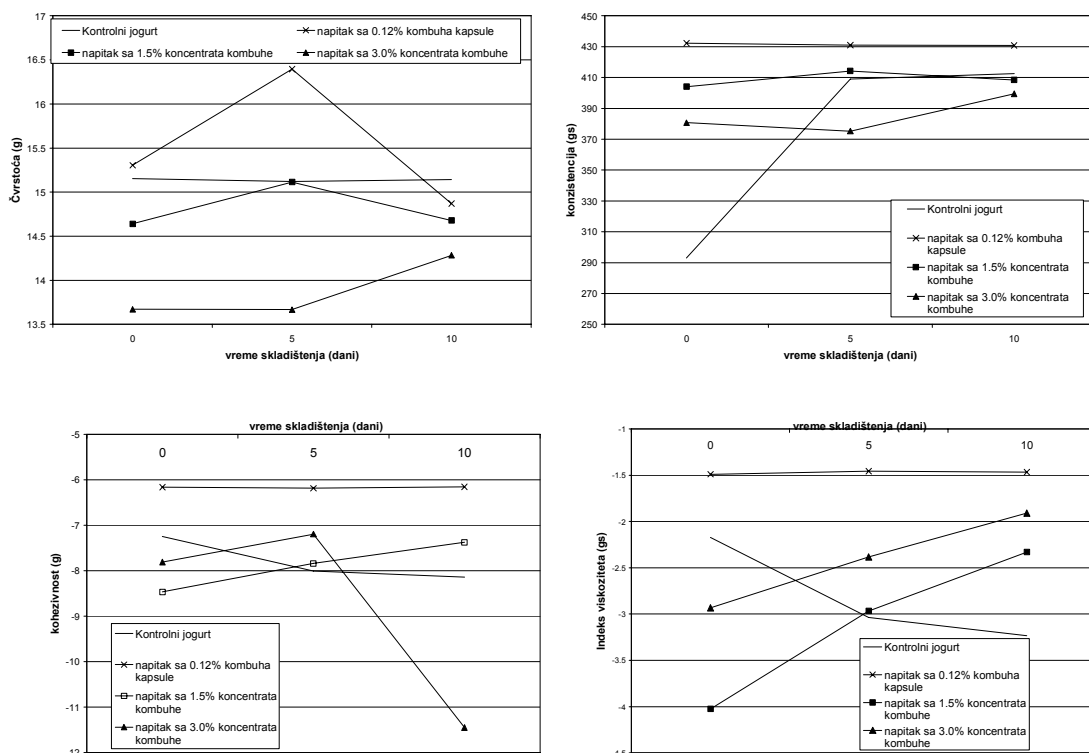
Indeks viskoziteta u fermentisanim mlečnim napicima proizvedenim sa 1,5% i 3,0% koncentrata kombuhe raste tokom skladištenja, dok u kontrolnom uzorku ima suprotan trend. U fermentisanom napitku proizvedenom sa 0,12% kombuha kapsule prosečna vrednost indeksa viskoziteta minimalno se menja.

Izgled, konzistencija, ukus i miris su najbolje ocenjeni kod kontrolnog jogurta.

Na osnovu rezultata senzorne analize može se zaključiti da dodatkom manje količine koncentrata kombuhe fermentisani mlečni napici imaju bolje senzorne karakteristike.

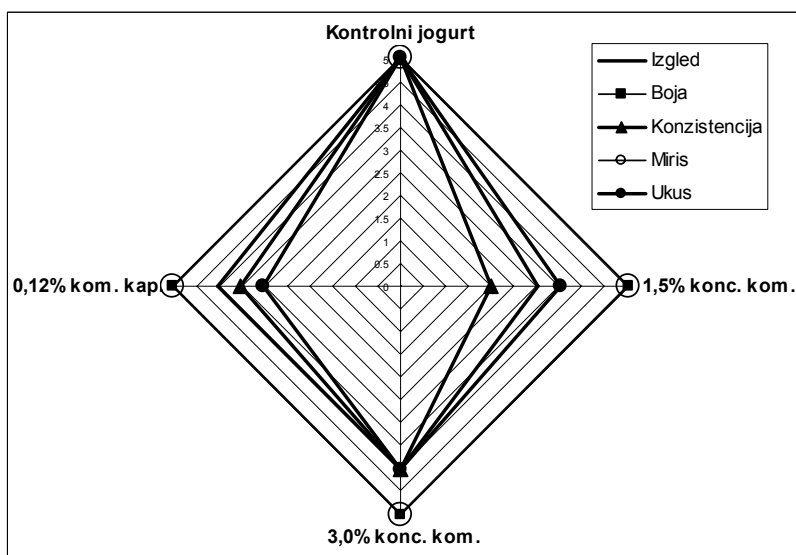
ZAKLJUČAK

Primenom odgovarajućeg tehnološkog procesa proizvedeni su fermentisani mlečni napici dodatkom 1,5% i 3,0% koncentrata inokuluma čajne gljive i 0,12% kombuha kapsule u mleko sa 0,9% mlečne masti.



Slika 8. TEKSTURALNE KARAKTERISIKE FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA TOKOM 10 DANA SKLADIŠTENJA: a) ČVRSTOĆA; b) KONZISTENCIJA; c) KOHEZIVNOST; d) INDEKS VISKOZITETA

Figure 8. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED MILK BEVERAGES DURING 10 DAYS OF STORAGE: a) FIRMNESS; b) CONSISTENCY; c) COHESIVENESS; d) INDEX OF VISCOSITY



Slika 9. SENZORNA ANALIZA FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA NAKON PROIZVODNJE

Figure 9. SENSORY ANALYSES OF FERMENTED MILK BEVERAGES AFTER PRODUCTION

Vreme fermentacije mleka do željene pH vrednosti (pH=4,5) varira u zavisnosti od stepena koncentrisanja inokuluma čajne gljive i kreće se od 8 h u fermentisanom mlečnom napitku sa 1,5% koncentrata čajne gljive do 9 sati u napitku sa 0,12 % kombuha kapsule.

Sposobnost vezivanja vode, sine-rezis i teksturalne karakteristike najbolje su u uzorku fermentisanog mlečnog napitaka dobijenog dodatkom 1,5% koncentrata inokuluma čajne gljive i zadržavaju isti trend bez značajnijih promena tokom skladištenja.

Senzorni kvalitet fermentisanih mlečnih napitaka zavisi od kvaliteta mleka i količine dodatog inokuluma čajne gljive za fermentaciju. Na osnovu rezultata senzorne analize može se zaključiti da se dodatkom manje količine koncentrata čajne gljive (1,5%) postižu bolje senzorne karakteristike fermentisanih mlečnih napitaka.

Primenom inokuluma čajne gljive proizvedeni su niskoenergetski, nutritivno visokovredni fermentisani mlečni

napici, koji kao funkcionalna hrana mogu da se koriste za specijalne namene u energetski izbalansiranoj ishrani.

LITERATURA

- Atamer, M., Carić, M., Milanović, S., Gavarić, D. (1996): Kvalitet jogurta proizvedenog iz UF mleka, Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, Matica srpska Novi Sad, No 91, 19-26.
- Carić, M., Milanović, S., Vucelja, D. (2000): Standardne metode analize mleka i mlečnih proizvoda, Prometej, Novi Sad, p. 202.
- Dufresne, C., Farnworth, E. (1999): Tea, Kombucha, and Health: a Review, Food Research International, 33, 409-421.
- Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H., Ledford, R. (2000): Kobucha, the Fermented Tea: Mikrobiology, Composition, and Claimed health Effects. J. Of Food Protection 63 (7), 976-981.
- Guzman-Gonzalez, M., Morais, F., Ramons, M., Amigo, L. (1999): Journal of the Science of Food and Agriculture 79, 1117-1122.
- Lončar, E., Milanović, S., Carić, M., Malbaša, R., Panić, M. (2001): Metabolička aktivnost čajne gljive u mleku, Prehrambena industrija- Mleko i mlečni proizvodi, 12, 1-2, 13-17.
- Lončar, E., Malbaša, R., Kolarov, Lj. (2001): Metabolic activity of tea fungus on molasses as a source of carbon. Acta Periodica Technologica 32, 21-26.
- Lončar, E., Đurić, M., Malbaša, R., Kolarov, Lj., Klačnja, M. (2006): Influence of working conditions upon kombucha conducted fermentation of black tea, Food and Bioproducts Processing, 84(C3), 186-192.
- Malbaša, R., Lončar, E., Kolarov, Lj. (2001): Sucrose and Inulin Balance During Tea Fungus Fermentation, Roun, Biotechnology letters, Vol. 7, 1, 573-576.
- Malbaša, R., Lončar, E., Đurić, M. (2008): Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses, Food Chemistry, 106, 1039-1045.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., Saarela, M. (2002): Technological challenges for future probiotic foods, International Dairy Journal, 12, 173-182.
- Milanović, S., Carić, M., Lončar, E., Panić, M., Malbaša, R., Dobrić, D. (2002): Primena koncentrata čajne gljive u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka, Prehrambena industrija – Mleko i mlečni proizvodi, Vol. 13, 1-2, 8-13.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y. and Knol, W. (2000): Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity, Journal of Agricultural and Food Chemistry 48 (6) 2589-2594.
- Tamime, A.Y., (2006): Fermented milks, Blackwell Science, UK, p. 262.

SUMMARY

FUNCTIONAL LOW ENERGY FERMENTED MILK BEVERAGE PRODUCED WITH KOMBUCHA APPLICATION

Katarina G. Duraković, Spasenija D. Milanović, Marijana Đ. Carić, Mirela D. Ilić, Mirjana S. Đurić, Miodrag N. Tekić, Jasmina Lenđel

University of Novi Sad, Faculty of Technology

The possibility of functional low-energy fermented milk beverage production by tea fungus – kombucha application was researched in this study. Functional low-energy fermented milk beverages were produced with addition of 1.5% and 3.0% tea fungus concentrate and 0.12% of kombucha capsule. Chemical composition, physico-chemical and textural characteristics, as well as sensory quality of functional low-energy fermented milk beverages have been analysed after production and during 10 days of storage. Functional low-energy fermented milk beverages of high nutritive value, with pleasant, mild and fresh taste and aroma were obtained.

Key words: tea fungus • fermented milk beverages • physico-chemical characteristics • textural characteristics

ADELA R. ISAKOVIĆ
ZLATAN O. SARIĆ
TARIK A. DIZDAREVIĆ

Univerzitet u Sarajevu,
Poljoprivredno – prehrambeni fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 637.146.2:637.07

KOMPARATIVNA ANALIZA KEFIRA PROIZVEDENOG FERMENTACIJOM MLIJEKA RAZLIČITIM STARTER KULTURAMA

Najvažnija faza u proizvodnji kefira je fermentacija. Stoga, izbor adekvatne starter kulture predstavlja važan korak u procesu njegove proizvodnje. Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj različitih starter kultura na tok fermentacije, postacidifikacioni period i senzorni kvalitet proizvedenog kefira.

U tu svrhu je mlijeko za proizvodnju kefira inokulirano sa pet različitih kombinacija starter kultura. U toku fermentacije mjereno je pH, te sadržaj mliječne i slobodne ugljične kiseline. Stepent postacidifikacije je praćen istim mjerenjima tokom čuvanja na +4°C. Kontrolni kefir je spravljan pomoću starter kulture napravljene od kefirnih zrnaca. Izvršena je senzorna ocjena proizvedenog kefira gdje je kao uzor poslužio komercijalni kefir.

Uzorci proizvedeni primjenom kombinacija kultura Probat KC3 sa XPL-1 i LAF-3 sa XPL-1 i mlijeka sa višim sadržajem mliječne masti, 2,8% i 3,2%, pokazali su najbolje rezultate u smislu senzornih svojstava kefira.

Stoga se ove kombinacije mogu preporučiti za komercijalnu proizvodnju kefira.

Ključne riječi: kefir • fermentacija • postacidifikacija • senzorna ocjena

UVOD

Senzorni kvalitet fermentisanih mliječnih napitaka zavisi od upotrijebljene sirovine te od promjena koje nastaju pri obradi i preradi, naročito pri fermentaciji. Nastale promjene zavise i od sastava upotrijebljene starter kulture.

Fermentacijom mlijeka smanjuje se količina prisutne laktoze za oko 20% do 30%, a povećava količina mliječne kiseline koje ima vrlo malo u svježem mlijeku. Zbog smanjene količine laktoze fermentisani mliječni napici su lako probavljivi, a nastala mliječna kiselina podstiče peristaltiku crijeva, sekreciju sluzi i korisnih enzima, te udvostručuje resorpciju kalcija, fosfora i ostalih hranjivih materija. Tako se u crijevima sprečava rast nepoželjnih mikroorganizama i njihovih toksičnih metabolita (Tratnik, 1998).

Postupak proizvodnje kefira obuhvata: standardizaciju masti, homogenizaciju, pasterizaciju, inokulaciju sa starter kulturom, inkubaciju u dvije faze, hlađenje, pakovanje i skladištenje. Svakako je od najvećeg značaja za kvalitet gotovog proizvoda vrsta upotrijebljene starter kulture. Za proizvodnju kefira koriste se mješovite kulture, sastavljene od bakterija mliječne kiseline i kvasaca. Zbog sastava kulture, dolazi do mliječno-kiselog i alkoholnog vrenja. Stoga, proces je formiranja konačne arome dosta kompleksan. Senzorne karakteristike fermentacije koju provode bakterije mliječne kiseline su dosta dobro izučene ali kada su u pitanju kvasci nema toliko informacija. Neki su autori ipak pratili fermentaciju koju izvide kvasci i vršili senzornu ocjenu konačnog proizvoda (Wyder, 1998, Klantschitsch, 1999).

Cilj rada je bio da se ispita uticaj različitih starter kultura na razvoj kiselosti tokom fermentacije, postacidifikaciju i senzorna svojstva kefira. Praćen je sadržaj mliječne kiseline, a takođe i slobodne ugljične kiseline radi stvaranja ugljen dioksida radom kvasaca.

MATERIJAL I METODI

Za proizvodnju kefira uzeto je komercijalno UHT mlijeko sa tri različita sadržaja masti (1,5%, 2,8% i 3,2% masti). Starter kulture koje su se koristile za proizvodnju kefira bile su:

- Standard, komercijalni kefir mlijekare „Milkos” d.d., Sarajevo, BiH, s 2,8% mliječne masti, za proizvodnju kefira korišteno je 25 ml kulture / litar mlijeka (2,5%) preračunato na težinu.
- Probat KC3 LYO 100 DCU, CHO-OZIT[™] Cheese Cultures (DVS), Danisco (zamrznuta osušena starter kultura u obliku granula); preporučena doza za proizvodnju kefira je 10 do 20 DCU / 100 l, a preračunato na težinu 0,025 g/litar mlijeka.
- XPL-1, DVS, Chr-Hansen (zamrznuta osušena starter kultura u obliku granula, DVS); preporučena doza za proizvodnju kefira je 100 do 200 DCU / 1.000 l, a preračunato na težinu 0,025 g/litar mlijeka.
- LAF-3, DVS, Chr-Hansen (zamrznuta osušena starter kultura u obliku praha, DVS); preporučena doza za proizvodnju kefira je 2U / 1.000 l, a preračunato na težinu 0,001g / litar mlijeka.

Adresa autora:

Dr Zlatan Sarić, Poljoprivredno-prehrambeni fakultet Univerzitet u Sarajevu, Institut za tehnologiju poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda, Zmaja od Bosne 8, 71 000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Kefir je proizveden upotrebom pet različitih kombinacija starter kultura, i to posebno za mlijeko različitog sadržaja masti (1,5%, 2,8% i 3,2%). Inkubacija se odvijala u dvije faze: faza zakiseljavanja i faza fermentacije. Prva u trajanju od 12 sati na temperaturi od 23°C, a druga je nastavljena u narednih 12 sati na temperaturi 15°C. Nakon toga svi uzorci su stavljeni u hladnjak na temperaturu +4°C, i čuvani narednih 30 dana na toj temperaturi. Uzorci su šifrirani kako je prikazano u tabeli 1.

Vršena je analiza kefiru u toku procesa fermentacije kao i nakon završenog procesa proizvodnje. Analize su uključile mjerenje pH vrijednosti, sadržaja mliječne kiseline i slobodne ugljične kiseline i to svaka tri sata u prvih 12 sati inkubacije, a zatim nakon 24 i 48 sati od početka fermentacije. Analize su ponovljene nakon 10, 20 i 30 dana čuvanja pri +4°C.

Određivanje pH vrijednosti vršeno je pomoću aparata pH-metar Methrom / 632 sa elektrodom Chemonorm AG2211503. Određivanje sadržaja mliječne kiseline (u %) tokom prvog dijela fermentacije vršeno je mjerenjem kiselosti mlijeka metodom *Soxhlet – Hönkel-a* (Dozet, Stanišić i Bijeljac, 1985), a nakon stvaranja koaguluma po postupku predviđenom za fermentisane mliječne napitke. Sadržaj slobodne ugljične kiseline izražen u mg/l (CO₂) kefiru takođe je određen titracijom sa NaOH (Sabadoš, 1996).

Izvršena je senzorna analiza proizvedenog kefiru, gdje je kao uzor korišten kefir mliječare „*Milkos*” d.d. Sarajevo, BiH, zbog toga što je napravljen uz upotrebu kefirnih zrnaca, a ne komercijalne kulture. Takođe su senzorno ocijenjena još dva komercijalna kefiru koji se proizvode uz upotrebu komercijalne starter kulture („*Saraj-Milk*” i Z'brežgov, „*Vindija*”, Vараždin). Senzorna analiza ispitivanih uzoraka kefiru je obuhvatila vizuelno određivanje izgleda, boje, konzistencije, mirisa i okusa, po sistemu bodovanja gdje se svaka od ovih osobina boduje zasebno. Zatim se bodovi za svaku osobinu zbrajaju i dobiva se ukupna senzorna ocjena za svaki uzorak koja maksimalno može biti 20,00.

REZULTATI I DISKUSIJA

Promjene pH vrijednosti, te sadržaja mliječne i slobodne ugljične kiseline nakon 3, 6, 9, 12, 24 i 48 sati fermentacije kod kefiru napravljenog uz

Tabela 1. KOMBINACIJE STARTER KULTURA KORIŠTENE ZA PROIZVODNJU KEFIRA

Table 1. COMBINATION OF STARTER CULTURES USED FOR KEFIR MANUFACTURING

Mlijeko Milk	Starter kultura Starter Culture	Količina startera Quantity of Starter	Šifra Code
1,5% mliječne masti/ milk fat	Standard	25 ml	1A
	Probat KC3	0,25 g	2A
	Probat KC3 + XPL-1	0,025 g + 0,025 g	3A
	LAF-3	0,001 g	4A
	XPL-1 + LAF-3	0,025 g + 0,001 g	5A
2,8% mliječne masti/ milk fat	Standard	25 ml	1B
	Probat KC3	0,025 g	2B
	Probat KC3 + XPL-1	0,025 g + 0,025 g	3B
	LAF-3	0,001 g	4B
	XPL-1 + LAF-3	0,025 g + 0,001 g	5B
3,2% mliječne masti/ milk fat	Standard	25 ml	1C
	Probat KC3	0,025 g	2C
	Probat KC3 + XPL-1	0,025 g + 0,025 g	3C
	LAF-3	0,001 g	4C
	XPL-1 + LAF-3	0,025 g + 0,001 g	5C

upotrebu različitih starter kultura prikazani su u grafikovima 1–9.

Opadanje pH vrijednosti najbrže se odvijalo kod uzoraka inokuliranih sa kulturom spravljenom od kefirnih zrnaca i to za sve tri masnoće mlijeka (1A, 1B i 1C). Pad pH je bio rapidniji kod uzorka sa 1,5% mliječne masti (1A) nego kod uzoraka sa 2,8% (1B) i 3,2% (1C) mliječne masti u mlijeku. Najsporije opadanje pH vrijednosti je zabilježeno kod uzoraka inokuliranih sa starter kulturom LAF-3 za sve tri masnoće mlijeka (4A, 4B i 4C). pH vrijednost gotovog kefiru se kretala od 4,27 do 4,70 (kod uzoraka 4A i 4B koagulacija se nije niti desila nakon 48 sati).

Tokom fermentacije se povećava kiselost usljed stvaranja mliječne kiseline. Pored nje, stvaraju se, istina u mnogo manjim količinama, i druge kiseline. Tok fermentacije se može pratiti i preko proizvodnje slobodne ugljične kiseline odnosno CO₂. Sadržaj mliječne kiseline postepeno se povećavao. Povećanje koncentracije mliječne kiseline je bilo slabije izraženo kod uzoraka sa kulturom LAF-3 (4A, 4B i 4C). Kod uzorka 4B, 48h nakon inokulacije nije bilo značajnijeg porasta koncentracije mliječne kiseline, dok je kod uzoraka 4B i 4C zabilježena značajnija proizvodnja mliječne kiseline tek u periodu 24-48 sati. Mliječnu kiselinu je sporije proizvodila i Probat KC3, dok su ostale varijante imale zadovoljavajuću brzinu stvaranja mliječne kiseline.

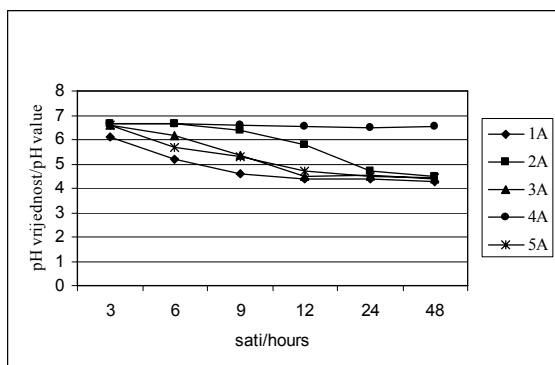
U procesu proizvodnje kefiru, sadržaj mliječne kiseline se povećavao.

Povećanje je najviše bilo izraženo kod uzoraka 1A, 1B i 1C (inokuliranih kefirnim zrcima), a najmanje kod uzoraka inokuliranih kulturom Probat KC3 (2A, 2B i 2C) i LAF-3 (4A, 4B i 4C). Sadržaj mliječne kiseline kod proizvedenih kefiru kretao se od 0,738% kod uzorka 4C (inokuliran s kulturom LAF-3) do 0,945% kod uzorka 5A (LAF-3 i XPL-1). Srazmjerno povećanju koncentracije mliječne kiseline, povećavala se i koncentracija slobodne ugljične kiseline. To povećanje je najviše bilo izraženo kod uzoraka inokuliranih sa kulturom od kefirnih zrnaca (1A, 1B i 1C), kombinacijom kultura Probat KC3 sa XPL-1 (3A, 3B i 3C) i LAF-3 sa XPL-1 (5A, 5B i 5C), a najmanje kod uzoraka inokuliranih kulturom LAF-3 (4A, 4B i 4C), te Probat KC3 (2A, 2B i 2C).

Primjećeno je da se koncentracija mliječne kiseline uglavnom snižavala pri čuvanju kod uzoraka sa kulturom od kefirnih zrnaca (1A, 1B i 1C), a stepen postacidifikacije je bio najizraženiji kod LAF-3 uzorka (4A).

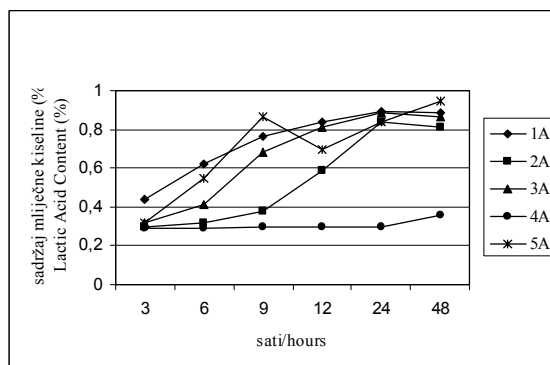
Slično je važno i za sadržaj slobodne ugljične kiseline.

Kod senzorne ocjene dobivenih kefiru najmanju ukupnu ocjenu dobili su uzorci 4A i 4B (inokulirani sa kulturom LAF-3) gdje je zbir bodova bio 7,0 odnosno 8,0. Najveću ukupnu ocjenu 17,5 dobio je uzorak 3C (inokuliran kombinacijom kulture Probat KC3 sa XPL-1). Uzorci 3B, 5B i 5C takođe su visoko ocijenjeni (17,0). Kontrolni uzorci (komercijalni kefir tri proizvođača) ocijenjeni su sa 17,7; 17,0 i 14,0.



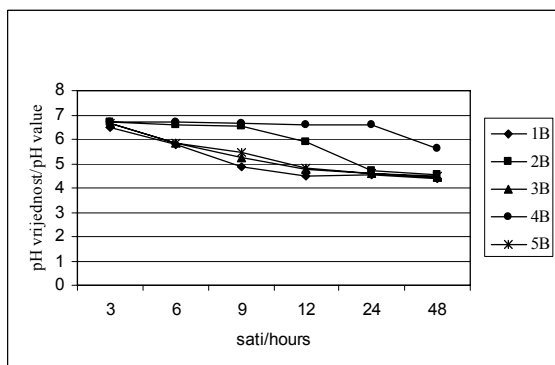
Slika 1. PROMJENA pH VRIJEDNOSTI TOKOM FERMENTACIJE KOD KEFIRA NAPRAVLJENOG OD MLIJEKA SA 1,5% MLIJEČNE MASTI

Figure 1. CHANGES OF pH VALUES DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 1,5% MILK FAT CONTENT



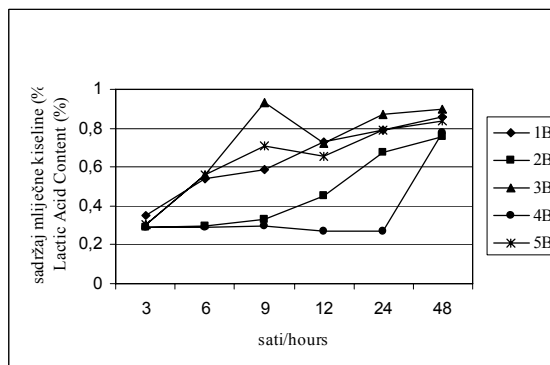
Slika 4. PROMJENA SADRŽAJA MLIJEČNE KISELINE TOKOM FERMENTACIJE U KEFIRU NAPRAVLJENOM OD MLIJEKA SA 1,5% MLIJEČNE MASTI

Figure 4. CHANGES OF LACTIC ACID CONTENT DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 1,5% MILK FAT CONTENT



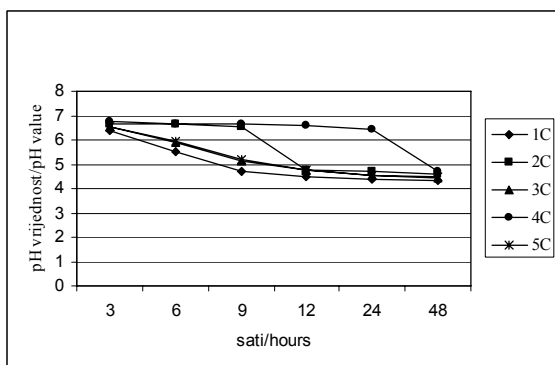
Slika 2. PROMJENA pH VRIJEDNOSTI TOKOM FERMENTACIJE KOD KEFIRA NAPRAVLJENOG OD MLIJEKA SA 2,8% MLIJEČNE MASTI

Figure 2. CHANGES OF pH VALUES DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 2,8% MILK FAT CONTENT



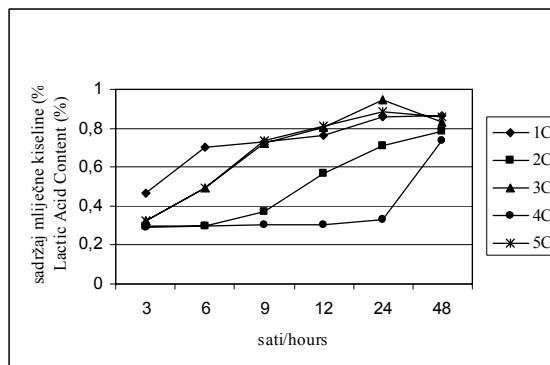
Slika 5. PROMJENA SADRŽAJA MLIJEČNE KISELINE TOKOM FERMENTACIJE U KEFIRU NAPRAVLJENOM OD MLIJEKA SA 2,8% MLIJEČNE MASTI

Figure 5. CHANGES OF LACTIC ACID CONTENT DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 2,8% MILK FAT CONTENT



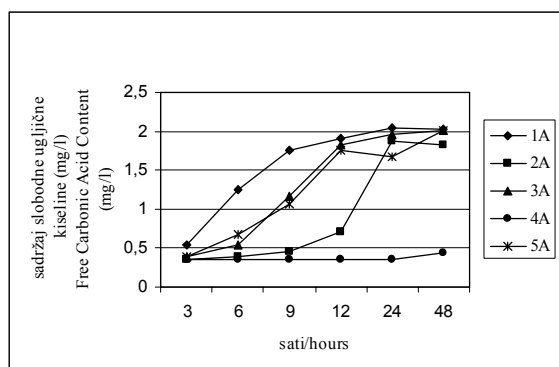
Slika 3. PROMJENA pH VRIJEDNOSTI TOKOM FERMENTACIJE KOD KEFIRA NAPRAVLJENOG OD MLIJEKA SA 3,2% MLIJEČNE MASTI

Figure 3. CHANGES OF pH VALUES DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 3,2% MILK FAT CONTENT



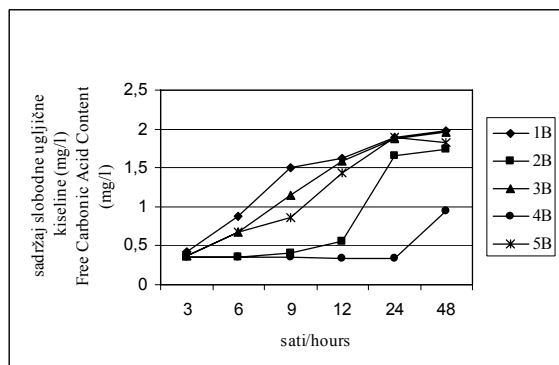
Slika 6. PROMJENA SADRŽAJA MLIJEČNE KISELINE TOKOM FERMENTACIJE U KEFIRU NAPRAVLJENOM OD MLIJEKA SA 3,2% MLIJEČNE MASTI

Figure 6. CHANGES OF LACTIC ACID CONTENT DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 3,2% MILK FAT CONTENT



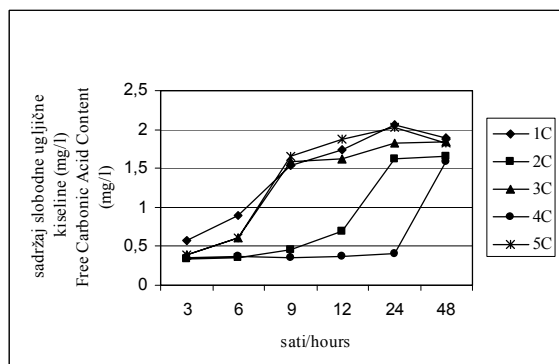
Slika 7. PROMJENA SADRŽAJA SLOBODNE UGLJIČNE KISELINE TOKOM FERMENTACIJE U KEFIRU NAPRAVLJENOM OD MLIJEKA SA 1,5% MLIJEČNE MASTI

Figure 7. CHANGES OF FREE CARBONIC ACID CONTENT DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 1,5% MILK FAT CONTENT



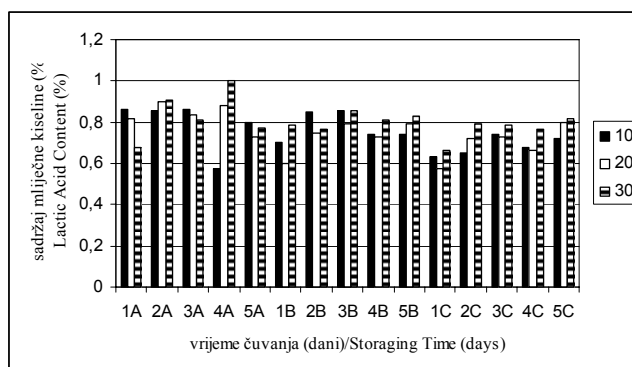
Slika 8. PROMJENA SADRŽAJA SLOBODNE UGLJIČNE KISELINE TOKOM FERMENTACIJE U KEFIRU NAPRAVLJENOM OD MLIJEKA SA 2,8% MLIJEČNE MASTI

Figure 8. CHANGES OF FREE CARBONIC ACID CONTENT DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 2,8% MILK FAT CONTENT



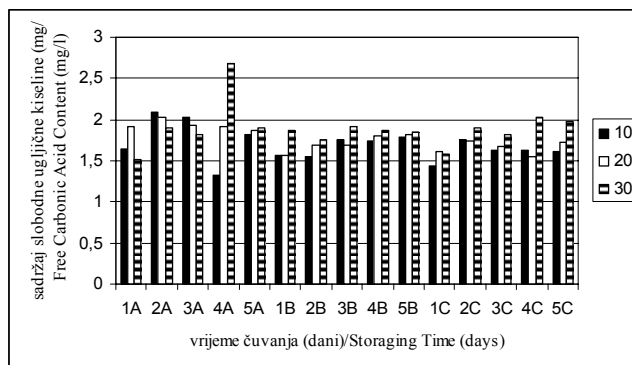
Slika 9. PROMJENA SADRŽAJA SLOBODNE UGLJIČNE KISELINE TOKOM FERMENTACIJE U KEFIRU NAPRAVLJENOM OD MLIJEKA SA 3,2% MLIJEČNE MASTI

Figure 9. CHANGES OF FREE CARBONIC ACID CONTENT DURING FERMENTATION IN KEFIR MADE BY MILK WITH 3,2% MILK FAT CONTENT



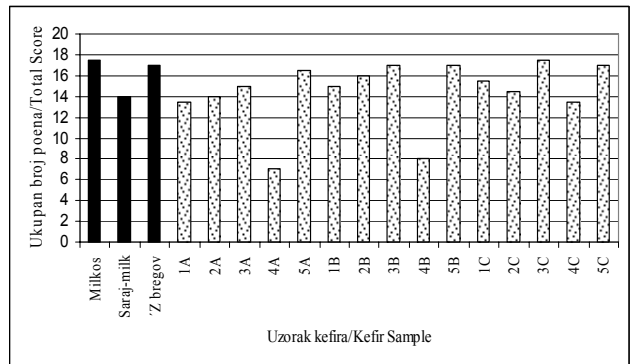
Slika 11. STEPEN POSTACIDIFIKACIJE PRI ČUVANJU KEFIRA NA +4°C MJEREN PROMJENOM SADRŽAJA MLIJEČNE KISELINE (%)

Figure 11. POSTACIDIFICATION DEGREE AT KEFIR STORED AT +4°C MEASURED BY CHANGES IN LACTIC ACID CONTENT (%)



Slika 12. STEPEN POSTACIDIFIKACIJE PRI ČUVANJU KEFIRA NA +4°C MJEREN PROMJENOM SADRŽAJA SLOBODNE UGLJIČNE KISELINE (%)

Figure 12. POSTACIDIFICATION DEGREE AT KEFIR STORED AT +4°C MEASURED BY CHANGES IN FREE CARBONIC ACID CONTENT (%)



Slika 13. SENZORNA OCJENA KOMERCIJALNOG KEFIRA I EKSPERIMENTALNOG KEFIRA PROIZVEDENOG UPOTREBOM RAZLIČITIH STARTER KULTURA

Figure 13. SENSORY EVALUATION OF COMMERCIAL KEFIR AND EXPERIMENTAL KEFIR MADE BY USE OF DIFFERENT STARTER CULTURES

ZAKLJUČAK

Kefir je fermentisani mliječni proizvod čija se potrošnja povećava svakim danom. U komercijalnoj prodaji danas postoji kefir gdje je mlijeko inokulirano starter kulturom dobivenom od kefirnih zrnaca, ali je puno više zastupljen kefir proizveden od komercijalnih starter kultura. Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi uticaj starter kulture na kiselost i senzorna svojstva kefira. U tu svrhu vršeno je praćenje pH vrijednosti i kiselosti (izražene u % mliječne kiseline i mg / l slobodne ugljične kiseline) u toku proizvodnje kefira i tokom čuvanja kefira u periodu od 30 dana. Izvršena je senzorna ocjena proizvedenih uzoraka kefira.

U toku procesa fermentacije pH vrijednost se snižavala, a sadržaj mliječne i slobodne ugljične kiseline povećavao. Sniženje pH vrijednosti, odnosno povećanje kiselosti je bilo slabije izraženo kod uzoraka proizvedenih od mlijeka sa višim procentom

mliječne masti (3,2%), što se objašnjava činjenicom da mliječna mast donekle ometa rad mikroflora starter kulture.

Uzorci proizvedeni primjenom kombinacija kultura Probat KC3 sa XPL-1 i LAF-3 sa XPL-1 i mlijeka sa višim sadržajem mliječne masti, 2,8% i 3,2% (3B i 3C, 5B i 5C) pokazali su najbolje rezultate u smislu senzornih svojstava kefira. Stoga se ove kombinacije mogu preporučiti za komercijalnu proizvodnju kefira.

LITERATURA

1. Dozet, N., Stanišić, M., Bijeljac, S.: Praktikum iz mljekarstva, Izd. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Sarajevu (1985).
2. International IDF standard 99C:1997. Sensory evaluation of dairy products by scoring, Reference metode.
3. Klantschitsch, T.: Influence of microfiltration on quality of semi-hard cheese from raw milk with particular on *Clostridium tyrobutyricum* spores, Diss. ETH No. 13233, Zurich. (1999).

4. Miletić, S.: Mlijeko i mliječni proizvodi, Izd. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb. (1994).
5. Pravilnik o kvalitetu mlijeka, proizvoda od mlijeka, sirila i čistih kultura. Službeni list SFRJ 51 / 82.
6. Sabadoš, D.: Kontrola i ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda, Izd. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb. (1996).
7. Tratnik, Lj.: Mlijeko – tehnologija, biokemija i mikrobiologija, Izd. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb. (1998).
8. Wyder, M.: Identification and characterisation of the yeast flora in kefir and smear ripened cheese – Contribution of selected yeasts to cheese ripening, Diss. ETH No. 12842, Zurich. (1998).
9. <http://www.nutricionisti.org/index.php>, preuzeto, juli 2008.
10. <http://bs.wikipedia.org/wiki/Kefir>, preuzeto, juli 2008.
11. <http://www.kefir.net/into.htm>, preuzeto, juni 2008.
12. www.danisco.com, preuzeto, juni 2008

SUMMARY

COMPARATIVE ANALYSIS OF KEFIR MADE BY FERMENTATION OF MILK WITH DIFFERENT STARTER CULTURES

Adela R. Isaković, Zlatan O. Sarić, Tarik A. Dizdarević

University of Sarajevo, Faculty of Agriculture and Food Science

The most important phase in kefir production is fermentation. The process is more complex in kefir production compared to the production of other fermented dairy beverages due to the fact that it is highly dependant on lactic acid bacteria and yeasts. Therefore, right choice of starter culture presents a step of great importance in the producing process. The aim of this work was to examine the influence of different starter cultures on the fermentation process, post – acidification period and sensory quality of manufactured kefir.

In order to obtain this, milk for kefir production was inoculated with five different combinations of starter cultures. Also, milk with different fat content was used (1,5; 2,8 and 3,2% fat). pH as well as content of lactic and free carbonic acids were measured during fermentation after 3, 6, 9, 12, 24 and 48 hours. Postacidification degree was monitored 10, 20 and 30 days of storage at +4°C. Standard (control) kefir was made by using culture prepared of kefir grains. Sensory evaluation of the produced kefir was carried out.

Kefir samples made by starter culture combinations Probat KC3 with XPL-1 and LAF-3 with XPL-1 and milk with higher fat percentage, 2,8% and 3,2% (3B i 3C, 5B i 5C) gave best results within the scope of sensory evaluation of kefir. Thus, these combinations could be recommended for commercial production of kefir.

Key words: kefir • fermentation • post – acidification • sensory evaluation

¹MIRELA D. ILIČIĆ
¹SPAŠENIJA D. MILANOVIĆ
¹MARIJANA Đ. CARIĆ
¹MIRJANA S. ĐURIĆ
¹MIODRAG N. TEKIĆ
²DRAGAN J. ŠAŠIĆ

¹Univerzitet u Novom Sadu,
 Tehnološki fakultet
²AD Mlekara Subotica, Subotica

NAUČNI RAD

UDK: 637.146:637.05

U radu su ispitane teksturalne osobine: čvrstoća, konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta devet komercijalnih uzoraka fermentisanih mlečnih proizvoda (jogurt, aromatizovani jogurt, sa dodatkom probiotika/prebiotika, sa različitim sadržajem mlečne masti), kao i fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih uz primenu transglutaminaze (TG) i koncentrata proteina surutke (KPS). Tekstura uzoraka analizirana je aparatom Texture Analyser TA XP (Stable Micro System, Goldaming, Engleska) na temperaturi 8°C.

Na osnovu rezultata izvršenih analiza teksturalne karakteristike uzoraka fermentisanih mlečnih proizvoda su u funkciji sadržaja mlečne masti.

Primena transglutaminaze u minimalnoj koncentraciji 0,01% doprinosi poboljšanju teksturalnih osobina jogurta sa niskim sadržajem mlečne masti, dok se korišćenjem transglutaminaze u kombinaciji sa koncentratom proteina surutke dobijaju znatno lošije tehnološke karakteristike proizvoda.

Ključne reči: Fermentisani mlečni proizvodi • starter kulture • transglutaminaza • koncentrat proteina surutke (KPS) • teksturalne karakteristike

*Rad je deo istraživanja u okviru projekta EUREKA "E! 3488 Razvoj tehnologije probiotičkog jogurta poboljšanih karakteristika" koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Adresa autora:
 Mr Mirela Iličić, asistent, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, tel.: 021/485 3705; fax.: 021/450-413,
 e-mail: panim@uns.ns.ac.yu

TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA*

UVOD

Fermentisani mlečni proizvodi obuhvataju veliku grupu proizvoda koji se međusobno razlikuju prema vrsti mleka od kojeg su proizvedeni, tipu fermentacije, konzistenciji, sadržaju mlečne masti, vrsti dodataka i dr. (Tamime, Robinson, 2004).

Klasifikacija fermentisanih mlečnih proizvoda u zavisnosti od različitih faktora prikazana je na slici 1.

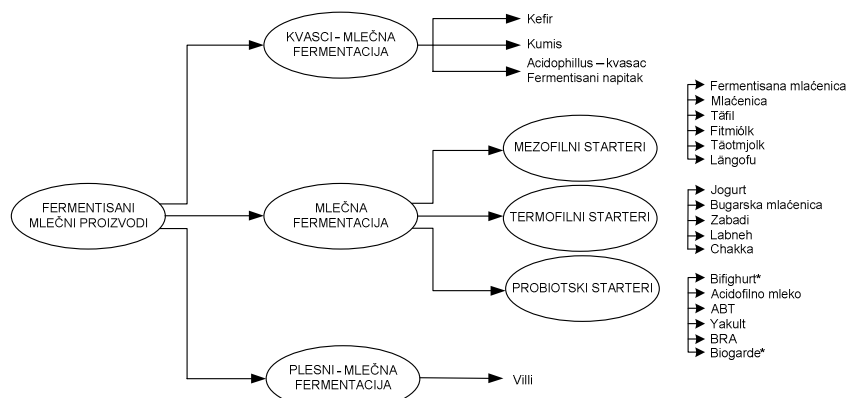
Stabilnost formiranog gela postiže se optimizacijom parametara tehnološkog procesa, izborom startera, kao i dodatkom različitih komponentata: obrano mleko u prahu, surutka u prahu, koncentrat proteina surutke, proteini mleka, aditivi, šećeri i zaslađivači, voćne paste i arome, egzopolisaharidi, i dr. Navedene komponente značajno poboljšavaju fizičko-hemijske osobine (sinerezis i sposobnost vezivanja vode) i teksturalne osobine fermentisanih mlečnih proizvoda, a poje-

dini dodaci obogaćuju proizvod i čine ga nutritivno vrednijim.

U novijim istraživanjima veliki broj naučnika ispituje mogućnost primene enzima transglutaminaze (TG) u proizvodnji fermentisanih mlečnih proizvoda. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja uticaja transglutaminaze na kvalitet proizvoda prikazan je u radovima autora: Carić i sar. 2006; Milanović i sar.; 2007, Iličić, 2008.

Dosadašnja istraživanja su pokazala da je termički tretman mleka neophodan pre umrežavanja proteina zbog veoma niske reaktivnosti transglutaminaze u termički netretiranom mleku, odnosno da UHT tretman mleka značajno poboljšava reakcije umrežavanja (Bönisch, Lauber, & Kulozik, 2004; Rodriguez-Nogales, 2006).

Pored termičkog tretmana mleka, tok fermentacije tj, promene pH vrednosti i obogaćivanje mleka proteinima (obrano mleko u prahu, surutka u



Slika 1. ŠEMA KLASIFIKACIJE FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA (Tamime, Robinson, 2004)

Figure 1. CLASSIFICATION OF DIFFERENT FERMENTED DAIRY PRODUCTS (Tamime, Robinson, 2004)

prahu, koncentrat proteina surutke, natrijum kazeinat) ima značajan uticaj na reaktivnost transglutaminaze (Duračković i sar., 2007; Milanović i sar., 2007). Dodatak mlečnih ingredijenata u mleko poboljšava strukturu gela. Takođe, odnos kazeina i proteina surutke utiče na gustinu i stabilnost trodimenzionalne strukture proteinskog gela. Bönisch i sar. (2007) utvrdili su da viskozitet i stepen polimerizacije proteina mleka u tečnom jogurtu proizvedenom sa TG raste sa povećanjem koncentracije proteina.

Reološke osobine tečnog jogurta su značajan aspekt koji ukazuje na kvalitet proizvoda i mogu da se koristi za utvrđivanje stabilnosti proizvoda. Proces fermentacije mleka značajno utiče na viskozitet i druge reološke osobine fermentisanih mlečnih proizvoda (Iličić, 2008). Stoga, proces formiranja trodimenzionalne strukture gela i fizičko-hemijske osobine proizvoda direktno utiču na ponašanje proizvoda pri proticanju i određuju tip sistema.

Fermentisani mlečni proizvodi pripadaju Njutnovskim sistemima i stabilni su tokom skladištenja. U navedenim uzorcima viskozitet ostaje nepromenjen sa povećanjem brzine smicanja (Njutnovski sistem). Ukoliko viskozitet jogurta opada sa povećanjem brzine, smicanja fermentisani mlečni proizvod ponaša se kao pseudoplastičan sistem (Tamime, 2006).

S obzirom da su teksturalne karakteristike jogurta veoma važan parametar tehnološkog kvaliteta proizvoda, u radu je ispitan uticaj hemijskog sastava mleka tj. sadržaja mlečne masti, odnosno različitih dodataka: voćne paste, cerealijske, inulina, koncentrata proteina surutke i transglutaminaze na teksturalne osobine fermentisanih mlečnih proizvoda: čvrstoća, konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta.

MATERIJAL I METOD RADA

Za analizu teksturalnih osobina u I seriji korišćeno je devet komercijalnih uzoraka fermentisanih mlečnih proizvoda:

1. Uzorak 1 – 0,9% mlečne masti, 3,2% proteina i 3,0% ugljenih hidrata
2. Uzorak 2 – 1,6 % mlečne masti, 3,2% proteina i 3,0% ugljenih hidrata
3. Uzorak 3 – 3,2% mlečne masti, 3,0% proteina i 3,0% ugljenih hidrata

4. Uzorak 4 – 3,2% mlečne masti, 2,9% proteina i 3,0% ugljenih hidrata
5. Uzorak 5 – kajsija; 2,2% mlečne masti, 2,9% proteina i 13,4% ugljeni hidrati
6. Uzorak 6 – višnja; 2,2% mlečne masti, 2,9% proteina i 12,5% ugljeni hidrati
7. Uzorak 7 – jagoda; 2,2% mlečne masti, 2,9% proteina i 14,0% ugljeni hidrati
8. Uzorak 8 – šumsko voće; 2,2% mlečne masti, 2,9% proteina i 13,1% ugljeni hidrati
9. Uzorak 9 – cerealijske; 1,0% mlečne masti, 3,5% proteina i 12,2% ugljeni hidrati

U II seriji analizirane su teksturalne karakteristike fermentisanih mlečnih napitaka (FMN) proizvedenih uz primenu probiotske starter kulture: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 and *Bifidobacterium* sp. LAFTI B94 (DIRECT-SETTM DELVO-YOG® MY-721 "DSM Food Specialites", NS Trading, Novi Sad) i uz dodatak transglutaminaze (Ajinomoto Co. Inc., Hamburg, Nemačka), odnosno koncentrata proteina surutke Lactomin 80S – KPS (LACTOPROT, Aplenandisch Milchindustrie und Handels- GMBH, NS Trading, Novi Sad):

10. kontrolni uzorak (bez dodatka transglutaminaze)
11. FMN sa 0,01% TG, BA (bez aktivacije)
12. FMN sa 0,02% TG, BA (bez aktivacije)
13. FMN sa 0,01% TG, A (uz aktivaciju 25°C, 2 sata; inaktivacija 80°C, 1 minut)
14. FMN sa 0,02% TG, A (uz aktivaciju 25°C, 2 sata; inaktivacija 80°C, 1 minut)
15. FMN sa 0,01% TG, BA i 0,03% KPS
16. FMN sa 0,01% TG, A i 0,03% KPS

Teksturalna analiza uzoraka

Teksturalne karakteristike varijanti fermentisanih mlečnih napitaka ispitane su primenom uređaja Texture analyser TA.XPplus (Micro Stable System, Engleska) na temperaturi +8°C. Sila kompresije merena je korišćenjem diska A/BE prečnika 35 mm i ekstenzionog tega čije je opterećenje 5 kg. Korišćena je opcija "Return to Start". Brzina pomeranja diska pre i tokom testa iznosila je 1,0 mm/s. Disk je prelazio rastojanje od 30 mm.

REZULTATI I DISKUSIJA

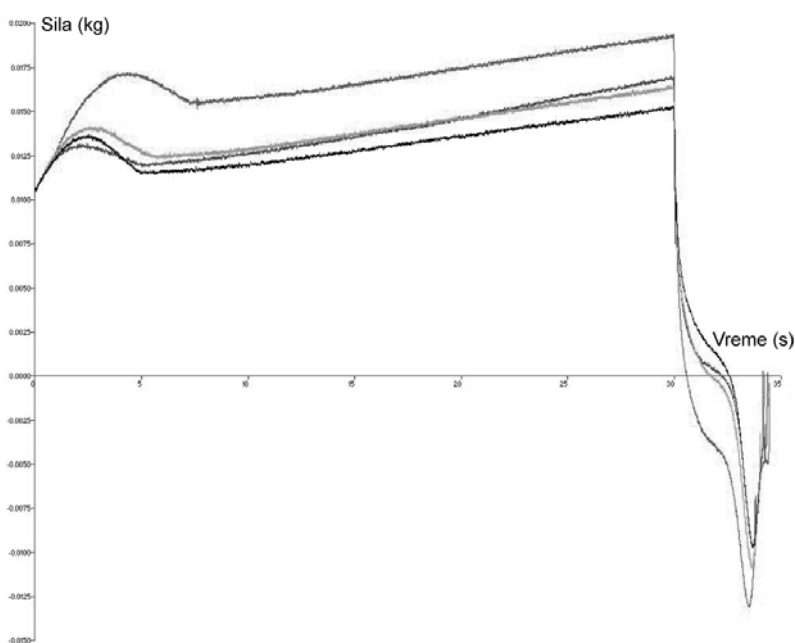
U tabeli 1 i slici 2 prikazane su teksturalne karakteristike: čvrstoća, konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta devet komercijalnih uzoraka fermentisanih mlečnih proizvoda sa različitim sadržajem mlečne masti: 0,9%, 1,6% i 3,2 % i dobijenih uz primenu tradicionalne starter kulture, probiotske starter kulture i različitih dodataka (inulin, kajsija, višnja, jagoda, šumsko voće i pšenica sa klicom).

Čvrstoća uzoraka jogurta (slika 1) predstavlja pik ili maksimalnu vrednost sile. Vrednosti čvrstoće kreću se od 15,328 g (uzorak 2 sa 1,6 % mlečne masti) do 19,470 g (uzorak 3 sa 3,2% mlečne masti). Čvrstoća uzorka 1 sa 0,9% mlečne masti iznosi 17,095 g, i veća je od čvrstoće uzoraka 2 i 3 sa 1,6% i 3,2 % mlečne masti. Pošto je poznato da sa porastom sadržaja mlečne masti u uzorcima jogurta čvrstoća raste, navedena razlika između uzoraka jogurta može se objasniti činjenicom da uzorak jogurta sa 0,9% mlečne masti sadrži prebiotik inulin koji iz literaturnih podataka značajno utiče na metabolizam startera i poboljšava teksturu finalnog proizvoda. Čvrstoća uzorka 5 – kajsija i uzorka 6 – višnja je približno jednaka i prosečno iznosi 19,9265 g, dok čvrstoća uzorka 9 sa dodatkom cerealijske značajno je manja i iznosi 15,716 g. Konzistencija analiziranih varijanti fermentisanih mlečnih proizvoda predstavljena je u vidu površine iznad krive zavisnosti sile od vremena (pozitivan deo krive). Veća vrednost konzistencije ukazuje na gušći proizvod. Najmanja vrednost konzistencije je u uzorku 2 sa 1,6 % mlečne masti i iznosi 401,506 gs, dok je najviša u uzorku 3 sa 3,2% mlečne masti 507,932 gs. Uzorak 5 - kajsija i uzorak 6 - višnja imaju visoku vrednost konzistencije koja prosečno iznosi 503,607 gs. Konzistencija uzorka 8 – šumsko voće je nešto niža i iznosi 493,519 gs, dok konzistencija uzorka 7 - jagoda i uzorka 9 - cerealijske znatno je niža i respektivno iznosi 405,873 gs, odnosno 406,727 gs.

Kohezivnost uzoraka predstavlja najnegativniju vrednost na krivoj zavisnosti (slika 1). Što je vrednost negativnija to je uzorak kohezivniji. Maksimalna vrednost kohezije je -13,160 g (uzorak 3 sa 3,2% mlečne masti) dok je minimalna -9,794 g (uzorak 1 sa 0,9% mlečne masti). Kohezivnost uzorka 7 – jagoda i uzorka 9 – cerealijske je niža i iznosi redom: 10,425 g, odnosno 10,728 g.

Tabela 1. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA SA RAZLIČITIM DODACIMA
Table 1. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED MILK PRODUCTS WITH DIFFERENT FLAVOURINGS

Uzorak Sample	Čvrstoća Firmness (g)	Konzistencija Consistency (gs)	Kohezivnost Cohesivness (g)	Indeks viskoziteta Index of viscosity (gs)
Uzorak 1, 0,9% mlečne masti	17,095	423,312	-9,794	-5,381
Uzorak 2, 1,6 % mlečne masti	15,328	401,506	-9,834	-4,620
Uzorak 3, 3,2% mlečne masti	19,470	507,932	-13,160	-15,30
Uzorak 4, 3,2% mlečne masti	16,515	426,792	-10,976	-6,658
Uzorak 5 - kajsija	19,960	502,425	-12,519	-13,215
Uzorak 6 - višnja	19,893	504,789	-12,620	-13,685
Uzorak 7 - jagoda	15,693	405,873	-10,425	-5,985
Uzorak 8 - šumsko voće	18,868	493,519	-12,676	-12,80
Uzorak 9- cerealije	15,716	406,727	-10,278	-5,172



- uzorak 1, 0,9% mlečne masti; • uzorak 2, 1,6% mlečne masti ;
- uzorak 3, 3,2% mlečne masti ;• uzorak 4, 3,2% mlečne masti

Slika 2. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA SA RAZLIČITIM SADRŽAJEM MLEČNE MASTI

Figure 2. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED DAIRY PRODUCTS WITH DIFFERENT FAT CONTENT

Indeks viskoziteta uzoraka predstavljen je u vidu površine ispod krive zavisnosti sile od vremena (negativan deo krive). Analizom indeksa viskoziteta u uzorcima fermentisanih mlečnih proizvoda utvrđen je isti trend kao i kod ostalih teksturalnih karakteristika: čvrstoća, konzistencija i kohezivnost.

Navedene teksturalne karakteristike su takođe u skladu sa hemijskim osobinama proizvoda (sadržaj makrokomponenta).

Generalno posmatrano, uzorci sa manjim sadržajem mlečne masti imaju manje vrednosti ispitivanih teksturalnih karakteristika. Međutim, navedeni

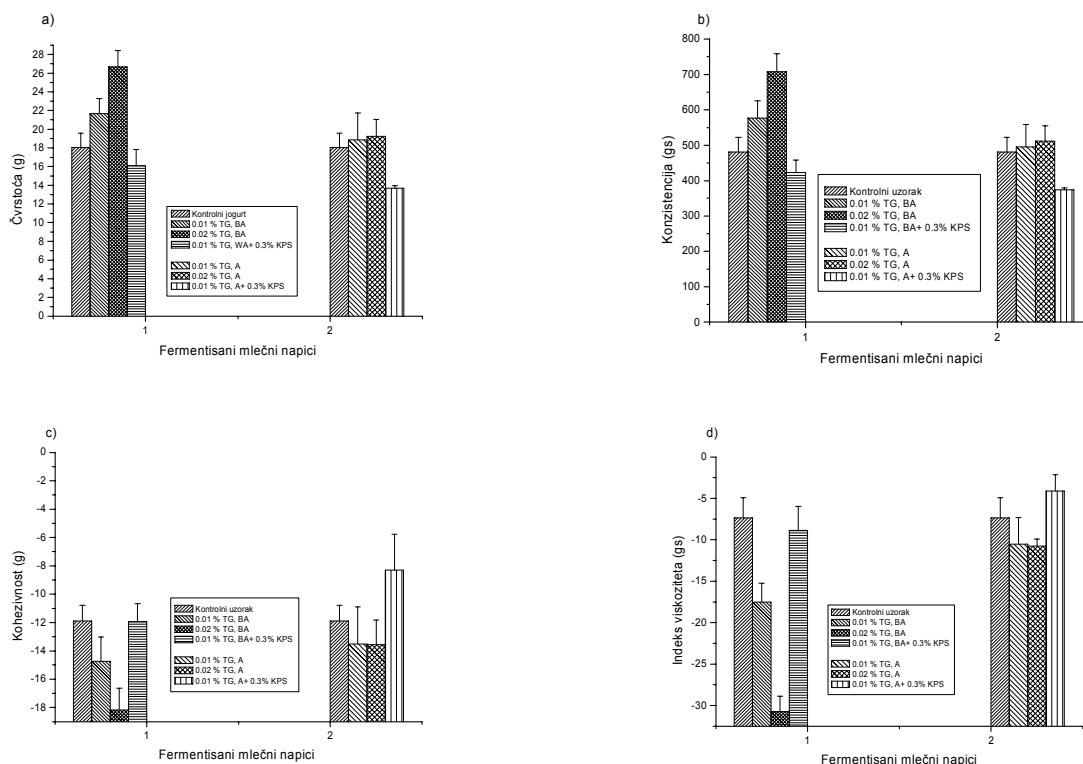
nedostatak se veoma uspešno može prevazići dodatkom prebiotika čime se značajno poboljšavaju fizičko-hemijske osobine niskomasnog fermentisanog mlečnog proizvoda.

U cilju proizvodnje jogurta sa niskim sadržajem mlečne masti odgovarajućih fizičko-hemijskih svojstava, proizvedene su varijante jogurta sa 0,1% mlečne masti uz primenu transglutaminaze u koncentraciji od 0,01% i 0,02%, sa aktivacijom 25°C, 3 sata i bez prethodne aktivacije. Teksturalne osobine (čvrstoća, konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta) uzoraka fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih uz korišćenje transglutaminaze prikazane su na slici 3. Evidentno je da uzorak kontrolnog jogurta ima najmanju čvrstoću, dok uzorci proizvedeni bez prethodne aktivacije imaju značajno veću čvrstoću u poređenju sa kontrolnim uzorkom, odnosno sa uzorcima uz prethodnu aktivaciju TG. Takođe, uzorci fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih sa dodatkom 0,01% TG i 0,3% KPS imaju manju čvrstoću od svih uzoraka (Slika 3a).

Analizom ostalih parametara: konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta u uzorcima fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih uz primenu TG utvrđen je trend kao i kod čvrstoće uzoraka.

Minimalne vrednosti teksturalnih karakteristika ima kontrolni uzorak, a maksimalne su u uzorku jogurta sa najvećom koncentracijom TG.

Primena transglutaminaze u minimalnoj koncentraciji 0,01% doprinosi



Slika 3. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA KAO FUNKCIJA KONCENTRACIJE TRANSGLUTAMINAZE: a) ČVRSTOĆA, b) KONZISTENCIJA, c) KOHEZIVNOST, d) INDEKS VISKOZITETA.

Figure 3. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF LOW FAT FERMENTED DAIRY BEVERAGES AS A FUNCTION OF TG CONCENTRATION: a) FIRMNESS, b) CONSISTENCY, c) COHESIVNESS, d) INDEX OF VISCOSITY

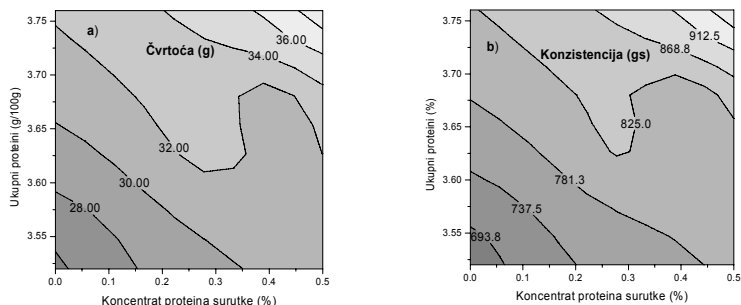
poboljšanju teksturalnih osobina jogurta sa niskim sadržajem mlečne masti.

Takođe, primena prethodnog termičkog tretmana mleka ima značajan uticaj na kvalitet i reološke osobine finalnog proizvoda (Gustaw i sar., 2006, Milanović i sar., 2007, Ilićić, 2008).

Teksturalne karakteristike fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih uz dodatak različitih koncentracija KPS, prikazane su na slici 4.

Uzorki fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih sa dodatkom 0,03% koncentrata proteina surutke, imaju veću čvrstoću od uzoraka sa transglutaminazom. Evidentno je da čvr-

stoća uzoraka jogurta raste sa povećanjem količine koncentrata proteina surutke. Navedeni rezultati su u skladu sa istraživanjima autora Antunes i sar. (2004) koji su utvrdili da je jogurt proizveden sa dodatkom obranog mleka u prahu (OMP) i koncentratom proteina surutke (KPS) veoma čvrste konzistencije i ima dobru sposobnost vezivanja vode. Najveću vrednost konzistencije imaju uzorci proizvedeni sa dodatkom 0,02% TG bez prethodne aktivacije (707,871 gs), dok kontrolni uzorak ima najmanju vrednost konzistencije koja iznosi 480,826 gs. Aktivacija transglutaminaze u proizvodnji fermentisanih mlečnih napitaka povećava čvrstoću uzorka za 4,79% u poređenju sa čvrstoćom kontrolnog uzorka. Konzistencija fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih bez prethodne aktivacije TG je veća za 33,6% od konzistencije kontrolnog uzorka, a 27,49% u poređenju sa uzorcima dobijenim uz prethodnu aktivaciju enzima. Konzistencija fermentisanih mlečnih napitaka proizvedenih sa koncentratom proteina surutke ima sličan trend promene kao i čvrstoća



Slika 4. TEKSTURALNE KARAKTERISTIKE NISKOMASIH FERMENTISANIH MLEČNIH NAPITAKA KAO FUNKCIJA KONCENTRACIJE KPS: a) ČVRSTOĆA, b) KONZISTENCIJA

Figure 4. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF LOW FAT FERMENTED DAIRY BEVERAGES AS A FUNCTION OF WPC CONCENTRATION: a) FIRMNESS, b) CONSISTENCY

uzoraka. To znači da uzorak sa maksimalnom količinom od 0,5% KPS ima najveću vrednost konzistencije (995,487gs), dok je najmanja vrednost konzistencije izmerena u kontrolnom uzorku. Dobijeni rezultati su u skladu sa istraživanjima autora Patocka i sar. (2004).

Generalno posmatrano, razlike između teksturalnih karakteristika uzoraka proizvedenih sa i bez prethodne aktivacije enzima, mogu se objasniti činjenicom da se 80% umrežavanja proteina uz primenu TG vrši pri pH vrednosti iznad 5,7 (Bönisch *et al.*, 2004). Vrednosti teksturalnih karakteristika su niže u fermentisanim mlečnim proizvodima sa aktivacijom nego kod uzoraka bez aktivacije, s obzirom da je umrežavanje proteina mleka u optimalnom pH intervalu aktivnosti TG kraće u uzorcima proizvedenim uz prethodnu aktivaciju enzima (25°C, 3 sata) i inaktivaciju (80°C, 1min), nego kod uzoraka proizvedenih bez aktivacije TG.

ZAKLJUČAK

Primenom aparata Texture Analyser (Mycro Stable System, UK) utvrđene su značajne razlike u teksturalnim osobinama između uzoraka fermentisanih mlečnih proizvoda sa različitim sadržajem mlečne masti. Takođe, dodatak probiotika/prebiotika, kao i različitih voćnih dodataka (kajsija, višnja, jagoda i šumsko voće) značajno utiče na teksturu finalnog proizvoda. Utvrđeno je da se dodatkom kajsi-je i višnje postižu najbolje teksturalne

osobine fermentisanih mlečnih proizvoda.

Analizom teksture jogurta proizvedenog iz mleka sa 0,1% masti uz primenu transglutaminaze dobija se proizvod značajno poboljšanih teksturalnih karakteristika. Dodatak transglutaminaze u koncentraciji od 0,01% utiče na povećanje svih teksturalnih parametara kvaliteta. Ustanovljene vrednosti su prosečno za 13% veće u poređenju sa vrednostima teksturalnih parametara kvaliteta fermentisanog mlečnog napitka proizvedenog iz punomasnog mleka sa 3,2% masti.

Generalno se može zaključiti da sadržaj mlečne masti u fermentisanim mlečnim proizvodima utiče na kvalitet proizvoda, a dodatak pojedinih komponenta tokom proizvodnje: inulin, proteini mleka ili transglutaminaza i korišćenje različitih starter kultura, značajno poboljšavaju teksturalne osobine fermentisanih mlečnih proizvoda kao što su: čvrstoća, konzistencija, kohezivnost i indeks viskoziteta.

ZAHVALNICA

Autori rada se zahvaljuju firmi *NS Trading*, Novi Sad na donaciji uzoraka: starter kulture proizvođača: *DSM Food Specialites*, Holandija, i koncentrata proteina surutke, proizvođača: *LACTOPROT*, *Aplendisch Milchindustrie und Handels-GMBH*, *Lactomin 80S*, Nemačka.

LITERATURA

1. Antunes, A.E.C., Antunes, A.J., Cardello, H.M.A.B.: Chemical, physical, microstruc-

tural and sensory properties of set fat-free yogurts stabilized with whey protein concentrate. *Milchwissenschaft*, 59 (3/4) (2004) 161-165.

2. Bönisch, M.P., Lauber, S., Kulozik, U.: Effect of ultra high temperature treatment on the enzymatic crosslinking of micellar casein and sodium caseinate by transglutaminase. *Journal of Food Science*, 69 (2004) 398 – 404.
3. Bönisch, M.P., Lauber, S., Kulozik, U.: Improvement of enzymatic cross-linking of casein micelles with transglutaminase by glutathione addition. *International Dairy Journal*, 17 (2007) 3-11.
4. Carić, M., Milanović, S., Đurić, M., Tekić, M., Iličić, M., Duraković, K.: Primena transglutaminaze u tehnologiji mleka. *Prehrambena industrija - Mleko i mlečni proizvodi*, 17 (1-2) (2006) 43-47.
5. Duraković, M., Carić, M., Milanović, S., Iličić, M., Čurković, M.: Uticaj transglutaminaze na funkcionalne karakteristike probiotskog jogurta. *Prehrambena industrija-Mleko i mlečni proizvodi*, 18 (1-2) (2007) 86-90.
6. Gustaw, W., Glibowski, P., Mleko, S.: The rheological properties of yoghurt with incorporated whey protein aggregates/polymers. *Milchwissenschaft*, 61(4) (2006) 415-426.
7. Iličić, M.: Improvement of probiotic yoghurt characteristics by transglutaminase application. "Second European Workshop on Food Engineering and Technology". Massy, 26-27 May 2008, p.19.
8. Milanović, S., Carić, M., Đurić, M., Iličić, M., Duraković, K.: Physico-chemical properties of probiotic yoghurt produced with transglutaminase. *Acta Periodica Technologica*, 38 (2007) 45-52.
9. Patocka, G., Cervenkova, R., Jelen, P.: Textural effects of soluble whey protein isolate in stirred yogurt. *Milchwissenschaft*, 59 (1/2) (2004) 37-41.
10. Rodriguez-Nogales, J. M.: Enhancement of transglutaminase-induced protein cross-linking by preheat treatment of cow's milk: A statistical approach. *International Dairy Journal*, 16 (2006) 26-32.
11. Tamime, A.Y., Robinson, R.K.: *Yoghurt Science and Technology*, Woodhead publishing limited, Cambridge, England, p. 619 (2004).
12. Tamime, A.Y.: *Fermented milks*, Blackwell Science, p. 262 (2006).

SUMMARY

TEXTURAL CHARACTERISTICS OF FERMENTED DAIRY PRODUCTS

¹Mirela D. Iličić, ¹Spasenija D. Milanović, ¹Marijana Đ. Carić, ¹Mirjana S. Đurić, ¹Miodrag N. Tekić, ²Dragan J. Šašić

¹University of Novi Sad, Faculty of Technology
²AD Dairy Subotica, Subotica

The aim of this study was to investigate textural properties (firmness, consistency, cohesiveness and index of viscosity) of four samples of natural yoghurt and five commercial fermented dairy drinks produced from milk with different fat content: 0.9%, 1.6% and 3.2%. Also, textural properties of fermented milk beverages produced by transglutaminase (TG) application and whey protein concentrates (WPC) addition were analysed at 8°C using Texture Analyser TA XP (Stable Micro System, Goldaming, England).

On the basis of the obtained results it could be concluded that values of textural characteristics of fermented dairy products were higher in samples with high fat level than in low fat samples.

Application of transglutaminase in concentration of 0.01% positively affects textural characteristics of low fat yoghurt samples, while combination of TG and WPC has shown a negative effect to technological quality of the final product. Yoghurt sample produced with 0.5% whey protein concentrates has the highest values of textural characteristics compared with samples produced with transglutaminase application.

Key words: fermented milk beverages • starter cultures • transglutaminase • whey protein concentrates • textural characteristics

DANIJELA Z. PEJIĆ
VERA L. LAZIĆ
JASNA J. GVOZDENOVIĆ

Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet

NAUČNI RAD

UDK: 621.798.188:637.146

AMBALAŽA ZA PAKOVANJE FUNKCIONALNIH FERMENTISANIH MLEČNIH PROIZVODA

U industriji prerade mleka koriste se različiti materijali za pakovanje.

Funkcionalni fermentisani mlečni proizvodi, kao što su različiti tipovi jogurta, pavlake i slični proizvodi, mogu se pakovati u ambalažu od mono folija, kombinovanih materijala, čaše, posudice ili boce od različitih polimernih materijala. Za pakovanje funkcionalnih proizvoda potrebno je koristiti ambalažu dobrih svojstava, ambalažu atraktivnog oblika i dizajna, koja je ekonomski opravdana i ekološki podobna.

Zadatak ovog rada je prikaz različitih mogućnosti pakovanja funkcionalnih fermentisanih napitaka, kao i rezultata ispitivanja najčešće korištenih ambalažnih materijala za ovu namenu.

Dobijeni rezultati pokazuju različita svojstva ispitivanih materijala i pružaju mogućnost adekvatnog izbora.

Ključne reči: ambalaža • mleko • fermentisani proizvodi • funkcionalna hrana

UVOD

Značajni proizvodi industrije prerade mleka, po proizvedenim i prodanim količinama su svakako fermentisani mlečni proizvodi, pasterizovano i sterilizovano mleko.

Korišćeni ambalažni materijali i ambalaža za te namene su prihvaćeni, dobro štite upakovani proizvod i omogućavaju pravilno punjenje, zatvaranje, transport, ali pod uslovom da su standardnog kvaliteta (1).

Adresa autora:

Danijela Pejić, Univerzitet u Novom Sadu,
Tehnološki fakultet
Bulevar cara Lazara 1, 21 000 Novi Sad

Fermentisani mlečni proizvodi obuhvataju veoma veliku grupu proizvoda koji se međusobno razlikuju prema vrsti mleka od kojih su izrađeni, tipu fermentacije, konzistenciji, sadržaju mlečne mast, vrsti dodatka.

Među fermentisanim mlečnim proizvodima u svetu, a i kod nas, najpoznatiji i najzastupljeniji je jogurt. Pored klasičnog – nativnog jogurta, razvijen je niz fermentisanih proizvoda, kao što su kefir, kumis, fermentisana mlačenica, jogurt sa probioticima, a u razvoju su i drugi funkcionalni mlečni napitci. Zbog nutritivnih svojstava i uticaja na ljudsko zdravlje, ovi visokovredni proizvodi pripadaju funkcionalnoj hrani (2,3).

Za očuvanje nutritivnih svojstava tokom deklarisanog perioda skladištenja, odgovorni su odabrani i pravilno primenjeni ambalažni materijali i ambalaža (4,5)

Ambalaža mora da sačuva visok kvalitet proizvoda tokom najdužeg roka upotrebe. U tu svrhu, imajući u vidu različite proizvode, specifične tehnologije, specifične uslove skladištenja, distribucije i primene, biraju se različiti ambalažni materijali, odnosno njihove kombinacije. Takođe se primenjuju specifični uslovi pakovanja (vakuum, modifikovana atmosfera), ili neki drugi vid aktivnog pakovanja (6,7).

Pakovanje ima fundamentalnu ulogu u održavanju kvaliteta i roka održivosti proizvoda. Ambalaža je sastavni deo gotovog proizvoda i ima ulogu barijere između upakovanog proizvoda i spoljašnje sredine. Osim primarne zaštitne uloge, ambalaža ima još čitav niz funkcija (5).

Za pakovanje funkcionalnih fermentisanih mlečnih proizvoda koristi se relativno mali broj plastičnih materijala sa različitim dodacima, koji modifikuju materijal u cilju dobijanja poboljšanih osobina, u obliku jednoslojnih, višeslojnih ili kombinovanih folija (8).

Nepovoljni faktori spoljne sredine

Mleko i proizvodi od mleka su veoma podložni promenama pod uticajem faktora spoljne sredine, kao što su svetlost i kiseonik.

Svetlost kao energija zračenja prostire se u vidu elektromagnetnih talasa. Poznato je da svetlost određenih talasnih dužina negativno utiče na senzorna svojstva i na gubitak vitamina. Ove promene zavise od hemijskih reakcija koje su inicirane svetlošću talasne dužine ispod 550 nm u kojima riboflavin (vitamin B2) ima centralnu ulogu. On katalizuje razvoj oksidovane askorbinske kiseline kiseonikom u ekscitovanom stanju. Zbog ove apsorpcije riboflavina talasna dužina od 350 do 550 nm je najkritičnija, a maksimum negativnog delovanja je oko 450 nm. Preporuka je da materijali koji se koriste za pakovanje mleka ne smeju da propuštaju više od 8% upadne svetlosti na 500 nm kao ni više od 2% na 400 nm. Izlaganje direktnoj sunčevoj svetlosti treba izbegavati i zbog porasta temperature sadržaja, što ubrzava mikrobiološki kvar (5,7).

Gubici riboflavina i vitamina A značajno su manji u kombinovanim am

balažnim materijalima nego u mono-materijalima sa visokom propustljivošću svetlosti (9)

Kiseonik takođe igra važnu ulogu u promeni senzornih svojstava fermentisanih proizvoda. Kiseonik iz okolnog prostora, ukoliko dospe u proizvod kroz ambalažne materijale ili loše zatvaranje, ubrzava oksidacione proene. Tokom skladištenja gotovih proizvoda sadržaj kiseonika se povećao u polimernoj ambalaži (11). Neophodno je da ambalaža bude nepropusna za kiseonik kao bi se sprečio kvar i favorizovala anaerobna sredina koja pogoduje rastu probiotskih kultura. Dobri rezultati postižu se pakovanjem fermentisanih mlečnih proizvoda u višeslojne strukture u kojima jedan od slojeva je dobra barijera za kiseonik (11).

Različiti fermentisani mlečni proizvodi pakuju se u različitu ambalažu, kao što su kese od polietilenske folije (PE), ambalažu tipa „tetra rex“, plastične čaše ili boce od različitih polimernih materijala. Takođe se primenjuju specifični uslovi pakovanja (vakuum, modifikovana atmosfera), ili savremeni postupci aktivnog pakovanja (8,10).

Kvalitativna svojstva ambalažnih materijala i ambalaže, kao što su ravnomernost debljine, zatezna jačina i izduženje pri kidanju, bitna su za pravilno formiranje, prohodnost na pakericama, ponašanje pri transportu i skalidištenju, a barijerna svojstva direktno utiču na održivost upakovanog proizvoda.

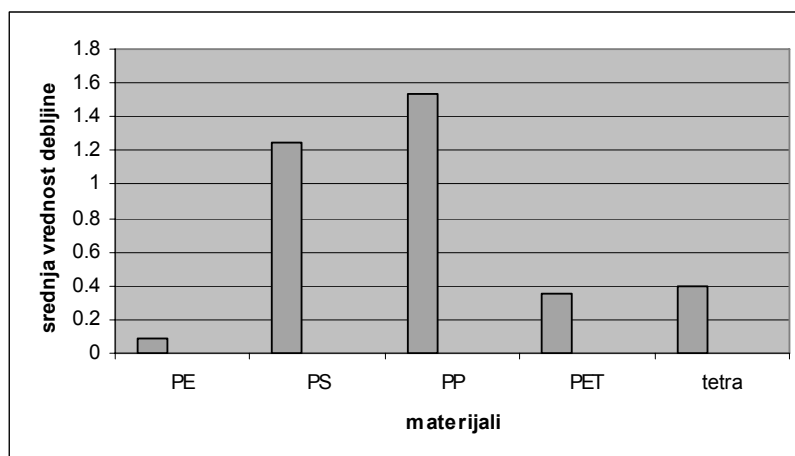
MATERIJALI I METODI

U radu su ispitani sledeći ambalažni materijali:

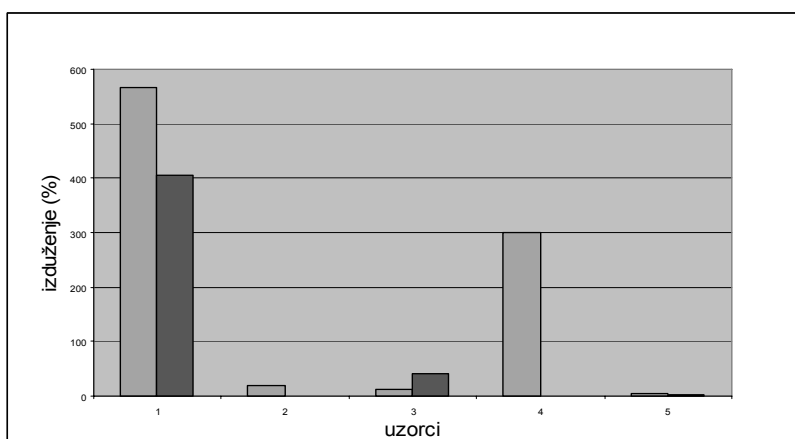
1. PE folija
2. PS folija
3. PP folija
4. PET folija
5. kombinovana folija sastava PE/PAP/PE/Al/PE

Ispitana su sledeća svojstva:

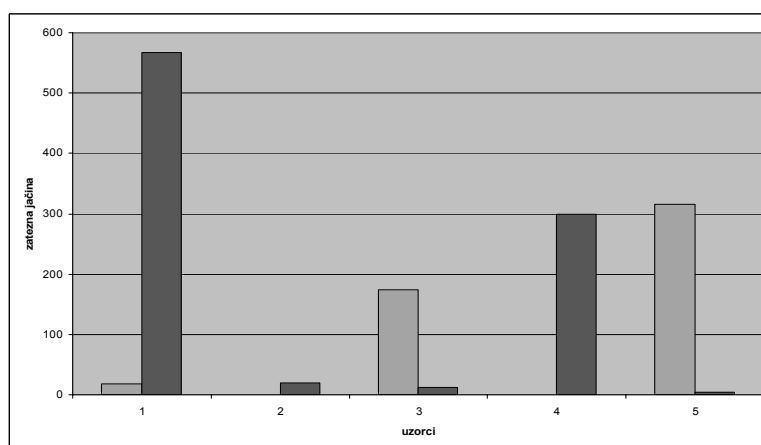
- debljina folija, metodom po JUS-u G. S2. 703. mernim vijkom MIKRO 2000,
- zatezna jačina i izduženje pri kidanju metodom po JUS-u G. S2. 612 i G. S2. 734. na aparatu INSTRON 4301,
- propustljivost gasova i vazduha metodom po LYSSY-u, prema DIN-u 53380 na aparatu Lyssy GPM-200 sa pripadajućim gasnim hromatografom GASUKURO KOGYO GC-320 i integratorom HP 3396A.



Slika 1. SREDNJE VREDNOSTI DEBLJINA (mm)
Figure 1. AVERAGE THICKNESS (mm)



Slika 2. IZDUŽENJE PRI KIDANJU (%)
Figure 2. EXTENSION (%)



Slika 3. ZATEZNA JAČINA (M/15mm)
Figure 3. TEARING FORCE (M/15mm)

REZULTATI I DISKUSIJA

Debljina je osnovno fizičko mehaničko svojstvo ambalažnih materijala, a ravnomernost debljine značajna je za formiranje ambalaže, prohodnost na pakericama i zaštitu integriteta sadržaja. Rezultati određivanja su prikazani na slici 1.

Sve dobijene vrednosti za debljine uzoraka odgovaraju deklarisanim vrednostima sa manjim odstupanjima.

Rezultati određivanja fizičkomehaničkih svojstava, izraženi zateznom jačinom i izduženjem pri kidanju, prikazani su na slikama 2 i 3.

Usporedni rezultati zatezних jačina i izduženja pri kidanju dati su u obliku histograma. Na grafiku su brojevima označeni korišćeni materijali i to respektivno: PE, PP, PP, PET i kombinovani materijal.

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da PP ima bolja mehanička svojstva od PS-a (veće vrednosti zatezne jačine) a da višeslojni materijal i PET imaju najbolja mehanička svojstva, što je saglasno sa literaturnim podacima.

Za očuvanje nutritivnih i funkcionalnih svojstava fermentisanih mlečnih proizvoda, bitna su svojstva propustljivosti gasova, pre svega kiseonika. Rezultati ovih ispitivanja prikazani su u tabeli 1 i slici 4.

Na grafiku su brojevima označeni korišćeni materijali, respektivno PE, PP, PP, PET i kombinovani materijal.

Sa grafika se uočava da je propustljivost PE za gasove najveća. Najmanja je propustljivost kod kombinovanog materijala.

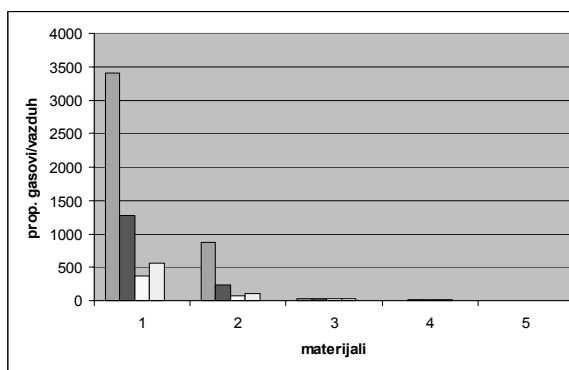
ZAKLJUČAK

Pakovanje fermentisanih mlečnih proizvoda izuzetno je važan proces na liniji proizvodnje. Ambalaža obezbeđuje adekvatnu zaštitu ako je odabran materijal poželjnih barijernih svojstava i ako je ambalaža pravilno formirana.

Za pravilan izbor i primenu ambalažnih materijala i ambalaže, neophodno je poznavanje svojstava i proizvoda i ambalaže, permanentna kontrola kvaliteta, praćenje novih trendo-

Tabela 1. PROPUSTLJIVOST GASOVA (ml/m²24)
Table 1. GAS PERMEABILITY (ml/m²24)

uzorci	propustljivost			
	CO ₂		CO ₂	
PE	3406,6	PE	3406,6	PE
PS	867,3	PS	867,3	PS
PP	31,2	PP	31,2	PP
PET	2,1	PET	2,1	PET
tetra	0	tetra	0	tetra



Slika 4. PROPUSTLJIVOST GASOVA (ml/m²24)
Figure 4. GAS PERMEABILITY (ml/m²24)

va, održavanje pakerica ili primena novih linija za pakovanje.

Rezultati ispitivanja pokazuju da svi odabrani materijali imaju dobra svojstva i od njih se može formirati ambalaža za pakovanje različitih proizvoda.

LITERATURA

- Lazić, V., Curaković, M., Gvozdenović, J., Krnić, N.: Razvoj novog ambalažnog materijala za pakovanje mleka, Prehrambena industrija, 3-4 (2000) 87-90.
- Milanović, S. (2002): Surutka: nutritivna vrednost, funkcionalna svojstva i proizvodi. Hidroliza i fermentacija, Savremeni trendovi u mlekarstvu, jugoslovenski simpozijum, Vrnjačka Banja, Zbornik radova, 172-173.
- Lazić, V., Gvozdenović, J., Milanović: Characteristics of Packaging Materials for Packaging of Functional Food, Abstracts the 9th European Nutrition Conference, 598, Roma, Italy, 2003.
- Bureau, G., Multon, J.L. (1996): Food Packaging Technology, Vol.I and II, VCH Publishers, Inc. New York, Weinehim, Cambridge.
- Robertson, L. G.: Food Packaging: Principles And Practice, Massey University, Palmerston North, New Zealand, p. 664 (1993), 511-512.
- Seydim, A.C., Karaaslan, M., Cetinas G., Saglam, H. (2004): Novel Packaging Development for Dairy Products, Proceedings International Dairy Symposium "Recent Developments in Dairy Science and Technology" (52-55), Isparta, Turkey.
- Goursaud J.: Food packaging and technology. Chapter 35: Packaging of milk products, Vol.I and II, VCH Publishers, Inc. New York, Weinehim, Cambridge.
- Kosikowski, F.V. (1982): Cheese and Fermented Milk Foods, Edvard Brothers Inc., Ann Arbor Mich. 690.
- E. Vassila et al. (2002): Chemical and microbiological changes in fluid milk as affected by packaging conditions, International dairy journal 12, 715-722.
- Buys M. E. (2004): Active Packaging for the Dairy Industry, Proceedings International Dairy Symposium "Recent Developments in Dairy Science and Technology" (47-48), Isparta, Turkey.
- Adriano G. da Cruz et al.(2007): Packaging system and probiotic dairy foods, Food Research International, Vol 40, issue 8, p. 951 – 956.

SUMMARY

PACKAGING OF FUNCTIONAL FERMENTED DAIRY PRODUCTS

Danijela Z. Pejić, Vera L. Lazić, Jasna J. Gvozdenović

University of Novi Sad, Faculty of Technology

Various materials for product packaging are being used in the dairy industry. Functional fermented dairy products, such as different types of yoghurt, crème and similar, can be packed in monolayer, multilayer, cups, pouches or bottles made of different polymer materials. For functional products, it is necessary to use packaging of good quality and of attractive shape and design, which is economically reasonable and ecologically applicable. Aim of this work is to review various possibilities of packaging functional fermented dairy products, as well as to present the results of the analysis carried out on most commonly used materials for this purpose. Obtained results point out various qualities of analyzed materials and allow different possibilities when searching for a most adequate choice.

Key words: packaging • milk • fermented products • functional food

¹SUZANA D. CVETANOVIĆ
²DEJAN M. NIKOLIĆ
³BRIŽITA I. ĐORĐEVIĆ
³IVANKA Đ. MILETIĆ
³IVAN M. STANKOVIĆ
³BOJANA B. VIDOVIĆ

¹Visoka poljoprivredno-prehrambena škola strukovnih studija, Prokuplje
²Institut za javno zdravlje, Niš
³Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Institut za bromatologiju

NAUČNI RAD

UDK: 637.352:637.04/.05(497.11)

ISPITIVANJE BELIH SIREVA U SALAMURI SA TERITORIJE PIROTSKOG OKRUGA

U radu su ispitani hemijski parametri kvaliteta i nutritivne vrednosti belih sireva u salamuri od kravljeg, kozijeg i ovčijeg mleka, proizvedenih na teritoriji pirotskog okruga kao i dinamika promene ovih parametara tokom perioda zrenja i čuvanja. Ispitivanje hemijskog sastava (suve materije, masti, ukupnih azotnih materija, NaCl, kalcijuma, pepela) i kiselosti (pH i titraciona kiselost) analiziranih belih sireva u salamuri vršeno je tokom 6 meseci zrenja i to po sledećoj dinamici: nakon proizvodnje, 30, 60, 120 i 180-og dana nakon proizvodnje.

Dobijeni rezultati su u skladu sa opštim karakteristikama belih sireva u salamuri: kiselo-slani ukus, meka konzistencija i visok sadržaj masti u suvoj materiji. Nakon detaljne hemijske analize belih sireva u salamuri, koji su proizvedeni od kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka, može se zaključiti da ovi sirevi i nakon šest meseci imaju značajnu nutritivnu vrednost, a na osnovu praćenja dinamike promene hemijskog sastava analiziranih sireva tokom perioda zrenja, da je ona najintenzivnija tokom prvih 30 dana zrenja.

Ključne reči: kravlje mleko • ovčije mleko • kozje mleko • beli sir u salamuri • zrenje

UVOD

Beli sirevi u salamuri su veoma zastupljena grupa sireva na našem području. Proizvode se od različitih vrsta mleka, najčešće od kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka, na tradicionalan ili industrijski način. U zavisnosti od regiona gde se proizvode i specifičnosti vezanih za postupak proizvodnje, razlikuje se više varijeteta i subvarijeteta ove grupe sireva (1).

Beli sir u salamuri spada u grupu mekih, kiselo-slanih sireva koji se odlikuju specifičnim načinom izrade, uslovima zrenja, kao i specifičnim osobinama sirnog testa. Osnovna karakteristika ove grupe sireva je da se zrenje i skladištenje obavlja u slanom rastvoru -salamuri. Tokom zrenja dolazi do složenih hemijskih, fizičkih i mikrobioloških promena, koje dovode do formiranja željenih senzornih, kao i reoloških karakteristika sireva (2).

Cilj ovog rada bio je ispitivanje hemijskih parametara kvaliteta i nutritivne vrednosti belih sireva u salamuri od kravljeg, kozijeg i ovčijeg mleka, proizvedenih na teritoriji pirotskog okruga kao i praćenje dinamike promena ovih parametara tokom perioda zrenja i čuvanja.

Kako kvalitet sira, primarno zavisi od sirovine, odnosno od kvaliteta mleka korišćenog za njegovu proizvodnju, ispitivanje je obuhvatilo i određivanje osnovnih fizičko-hemijskih parametara kvaliteta kravljeg, kozijeg i ovčijeg mleka korišćenog u proizvodnji sireva.

MATERIJAL I METODI

Proizvodnja sireva

Proizvodnja belih sireva u salamuri je obavljena u mlekarskoj školi

„Dr Obren Pejić” u Pirotu. Za proizvodnju sireva korišćeno je sirovo kravlje, ovčije i kozje mleko prikupljeno u otkupnoj stanici Krupac.

Postupak proizvodnje belih sireva u salamuri obuhvatio je sledeće faze: Mleko je termički tretirano pri 63-65°C, a zatim ohlađeno do 28-30°C. Inokulacija je izvršena dodatkom DVS koncentrovane kulture R-704 (*Hansen, Denmark*). Za koagulaciju mleka korišćeno je sirilo u prahu animalnog porekla (*Caglio cleric*) i koagulacija je izvršena u toku 45 min. Nakon sečenja, mešanja i odlivanja surutke, sirna masa je prebačena u kalupe, gde je izvršeno samopresovanje i presovanje (opterećenje od 2-4 kg/kg sirne mase u toku 2-3h). Nakon završenog presovanja, sirna gruda je sečena na kriške veličine (10x10x8 cm) koje su zatim ručno soljene sa 2,3% NaCl. Zrenje se obavljalo u salamuri koncentracije 8% NaCl.

Uzorkovanje i analiza mleka i sireva

Ispitivanje hemijskog kvaliteta kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka, koje je korišćeno u proizvodnji belih sireva u salamuri, podrazumevalo je određivanje sadržaja: suve materije (metodom sušenja), mlečne masti (acidobutirometrijskom metodom), ukupnih azotnih materija, odnosno proteina (metodom po Kjeldahlu), pepela (metodom žarenja na 550°C) i kalcijuma (metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije). U uzorcima mleka ispitivana je i titraciona kiselost (metodom po Soxhlet-Henkel-u), relativna zapreminska masa (pomoću laktodenzitometra) i pH vrednost (pomoću pH-metra).

Adresa autora :
 Suzana Cvetanović, Visoka poljoprivredno-prehrambena škola strukovnih studija
 Ćirila i Metodija 1, 18400 Prokuplje

Ispitivanje kvaliteta belih sireva u salamuri, proizvedenih od kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka vršeno je tokom 6 meseci zrenja i to po sledećoj dinamici: nakon proizvodnje, 30, 60, 120 i 180-og dana nakon proizvodnje. Analizom belih sireva u salamuri određena je: suva materija (metodom sušenja), mlečna mast (acidobutrometrijskom metodom), ukupne azotne materije (metodom po Kjeldahlu pomoću Kjeltac sistema), NaCl (metodom po Mohr-u), pepeo (metodom žarenja na 550° C), kalcijum (metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije), pH (pomoću pH-metra) i kiselost (metodom po Soxhlet-Henkel-u).

Sadržaj vode u bezmasnoj materiji sireva i sadržaj mlečne masti u suvoj materiji dobijeni su računski.

Svi dobijeni rezultati predstavljaju prosečnu vrednost pet ponavljanja.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati ispitivanja sirovog kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka dati su u tabeli 1.

Tabela 1. KVALITET KRAVLJEG, OVČIJEG I KOZJEG MLEKA KORIŠĆENOG ZA PROIZVODNJU BELIH SIREVA U SALAMURI

Table 1. QUALITY OF COW MILK, OVINE MILK, GOAT MILK THAT ARE USED IN PRODUCING OF WHITE BRINED CHEESE

	SM (%)	Mlečna mast (%)	Proteini (%)	Ukupni azot (%)	Pepeo (%)	Ca (g/kg)	pH	T:K (°SH)	gustina
Kravlje mleko	11,79	4,02	2,90	0,45	0,53	0,83	6,63	7,54	1,029
Ovčije mleko	17,61	7,14	5,33	0,83	0,82	1,57	6,62	10,00	1,034
Kozje mleko	12,39	3,52	2,99	0,46	0,77	1,21	6,72	6,42	1,027

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su sve tri vrste mleka, korišćene u proizvodnji analiziranih belih sireva u salamuri, odgo-

varajućeg hemijskog kvaliteta. Svi rezultati su u skladu sa zahtevima za mleko koje definiše Pravilnik o kvalitetu mleka, mlečnih proizvoda, kompozitnih mlečnih proizvoda i starter kultura iz 2002. godine (3).

Rezultati ispitivanja belih sireva u salamuri izrađenih od kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka dati su u tabelama 2, 3 i 4.

Iz table 2 se vidi da se vrednost suve materije kravljeg belog sira u salamuri kretala u granicama 40,68%-51,44%. Nakon prvih mesec dana zrenja zabeležen je najveći porast procenta suve materije od 12,16%. Prema sadržaju vode u bezmasnoj materiji sira koja se kretala u granicama 72,78%-66,64%, kravljji beli sir u salamuri nalazi se na granici između polutvrđih i mekih sireva. Sadržaj mlečne masti kretao se u intervalu 18,49%-27,13%. Promene u sadržaju mlečne masti su u saglasnosti sa promenama suve materije sira tokom ispitivanog perioda zrenja. Prema sadržaju mlečne masti u suvoj materiji (45,31%-53,18%) ispitivani beli sir se, prema Pravilniku, svrstava u grupu

punomasnih sireva. Prvog dana zrenja prosečan sadržaj ukupnog azota, izražen na suhu materiju sira, iznosio je 6,67%. Nakon 30 dana zabeleženo

je znatno smanjenje sadržaja ukupnog azota, u iznosu od 1,08%, dok se u narednim intervalima zrenja ovaj sadržaj nije značajnije menjao. Sadržaj soli kretao se u intervalu od 5,42%-8,94%, pri čemu je zapaženo povećanje sadržaja soli tokom šest meseci zrenja. Sadržaj kalcijuma se tokom perioda zrenja smanjuje, što se može objasniti prelaskom kalcijuma iz sira u salamuru. Povećanjem kiselosti, odnosno sniženjem pH vrednosti sireva, koloidne kalcijumove soli postepeno prelaze u rastvorljiviji oblik, što je značajno za reološke karakteristike sireva (4). Titraciona kiselost najviše se povećala tokom prvog meseca zrenja. Ovo povećanje iznosi 68,58 °SH. Samim tim u tom intervalu zrenja dolazi do sniženja pH vrednosti koje je iznosilo 0,75 pH jedinica (tabela 2).

Iz table 3 se vidi da se suva materija ovčijeg belog sira u salamuri tokom perioda zrenja kretala u granicama 43,78%-49,02%. Tokom prvog meseca zrenja povećan je sadržaj suve materije za 5,77%, dok se u ostalim fazama zrenja nije značajnije menjao. Prema sadržaju vode u bezmasnoj materiji, koja se kretala od 71,47%-70,05%, beli ovčiji sir u salamuri se, prema Pravilniku, svrstava u grupu mekih sireva, a na osnovu sadržaja mlečne masti u suvoj materiji ubraja se u punomasne sireve. Visok sadržaj mlečne masti u ovčijem siru, može se objasniti visokim sadržajem mlečne masti u mleku. Sadržaj ukupnog azota u suvoj materiji sira prvog dana zrenja iznosio je 5,82%, zatim se sadržaj azota smanjivao i nakon mesec dana zrenja iznosio je 4,86%. Tokom narednog perioda zrenja nisu uočene intenzivnije promene u dinamici promene sadržaja ukupnog azota u suvoj materiji. Sadržaj soli se kretao u intervalu

Tabela 2. HEMIJSKI SASTAV KRAVLJEG BELOG SIRA U SALAMURI

Table 2. CHEMICAL COMPOSITION OF WHITE COW BRINED CHEESE

Kravljji sir	SM (%)	Voda (%)	VBSM (%)	Mlečna mast (%)	Mlečna mast u SM (%)	Ukupni azot u SM (%)	Pepeo (%)	Ca (g/kg)	% NaCl	pH	Titraciona kiselost (°SH)
Nakon proizvodnje	40,68	59,32	72,78	18,49	45,31	6,67	8,39	10,63	5,42	4,82	51,02
Nakon mesec dana zrenja	52,84	47,16	64,61	27,01	50,67	5,59	7,04	5,82	6,08	4,07	119,60
Nakon dva meseca zrenja	49,73	50,27	66,99	24,97	49,79	5,42	8,26	3,47	8,08	4,23	109,28
Nakon četiri meseca zrenja	50,95	49,05	66,36	26,09	50,96	5,81	7,72	2,90	8,03	4,06	123,20
Nakon šest meseci zrenja	51,44	48,56	66,64	27,13	53,18	5,61	8,33	1,78	8,94	3,78	88,00

SM- suva materija

VBSM- voda u bezmasnoj materiji sira

Tabela 3. HEMIJSKI SASTAV OVČIJEG BELOG SIRA U SALAMURI
Table 3. CHEMICAL COMPOSITION OF WHITE OVINE BRINED CHEESE

Ovčiji sir	SM (%)	Voda (%)	VBSM (%)	Mlečna mast (%)	Mlečna mast u SM (%)	Ukupni azot u SM (%)	Pepeo (%)	Ca (g/kg)	NaCl (%)	pH	Titraciona kiselost (°SH)
Nakon proizvodnje	43,78	56,22	71,47	21,34	48,57	5,82	3,30	5,64	2,26	4,96	66,02
Nakon mesec dana zrenja	49,55	50,45	69,17	27,06	54,71	4,86	4,65	3,97	3,39	4,20	108,16
Nakon dva meseca zrenja	49,84	50,16	66,92	25,05	50,28	4,89	4,34	3,59	4,34	4,16	102,24
Nakon četiri meseca zrenja	47,72	52,28	70,02	25,34	53,45	5,11	5,28	2,08	4,71	4,13	109,12
Nakon šest meseci zrenja	49,02	50,98	70,05	27,23	55,55	4,88	4,50	0,97	5,66	3,93	88,28

SM - suva materija

VBSM - voda u bezmasnoj materiji sira

Tabela 4. HEMIJSKI SASTAV KOZJEG BELOG SIRA U SALAMURI
Table 4. CHEMICAL COMPOSITION OF WHITE GOAT BRINED CHEESE

Kozji sir	SM (%)	Voda (%)	VBSM (%)	Mlečna Mast (%)	Mlečna Mast u SM (%)	Ukupni azot u SM (%)	Pepeo (%)	Ca (g/kg)	NaCl (%)	pH	Titraciona kiselost (°SH)
Nakon proizvodnje	43,36	56,64	69,24	18,2	51,23	5,30	2,85	5,09	1,57	4,85	83,52
Nakon mesec dana zrenja	46,43	53,57	71,62	25,2	54,30	5,32	4,19	2,93	3,06	4,37	92,80
Nakon dva meseca zrenja	45,61	54,39	71,85	24,3	53,45	5,50	3,12	2,32	3,53	4,18	99,52
Nakon četiri meseca zrenja	46,31	53,69	73,25	26,7	57,78	5,36	3,32	1,70	3,53	3,99	112,64
Nakon šest meseci zrenja	46,58	53,42	72,78	26,6	57,11	5,02	4,83	1,02	5,24	4,04	107,68

SM - suva materija

VBSM - voda u bezmasnoj materiji sira

od 2,26-5,66%. Dinamika smanjenja sadržaja kalcijuma (5,64-0,97) u korelaciji je sa povećanjem titracione kiselosti (66,02-88,28°SH) odnosno smanjenjem pH (4,96-3,93) tokom perioda zrenja.

Iz tabele 4, koja sadrži rezultate ispitivanja kozjeg sira, može se uočiti smanjenje sadržaja vode, odnosno povećanje sadržaja suve materije kozjeg belog sira u salamuri tokom perioda zrenja. Najveći porast suve materije od 3,06% zabeležen je nakon 30 dana zrenja. Na osnovu rezultata sadržaja vode u bezmasnoj materiji koji se kretao u intervalu 69,24%-72,78%, beli kozji sir u salamuri se, prema Pravilniku, svrstava u grupu mekih sireva, a na osnovu sadržaja mlečne masti u suvoj materiji (51,23-57,11%) u punomasne sireve. Dinamiku promene sadržaja ukupnog azota u suvoj materiji karakteriše povećanje tokom prva tri meseca zrenja, nakon čega je zabeleženo smanjenje njegovog sadržaja.

Sadržaj soli kretao se od 1,57%-5,24% tokom perioda zrenja. Povećanje titracione kiselosti od 9,28° SH najintenzivnije je nakon prvog meseca zrenja, kao i smanjenje pH od 0,48 pH jedinice, što uslovljava i najveći gubitak sadržaja kalcijuma u ovom periodu zrenja za 2,16 g/kg. Sadržaj pepela kretao se u intervalu od 2,85%-4,83%.

ZAKLJUČAK

Nakon detaljne hemijske analize belih sireva u salamuri, koji su proizvedeni od kravljeg, ovčijeg i kozjeg mleka, može se zaključiti da ovi sirevi i nakon šest meseci imaju značajnu nutritivnu vrednost. Dobijeni rezultati za sve tri vrste belih sireva u salamuri, odgovaraju literaturnim podacima. Prema ovim rezultatima opšte karakteristike belih sireva u salamuri su kiselo-slani ukus, meka konzistencija i visok sadržaj masti u suvoj materiji.

Na osnovu praćenja dinamike promene hemijskog sastava analiziranih sireva tokom perioda zrenja, može se zaključiti da je ona najintenzivnija tokom prvih 30 dana zrenja.

LITERATURA

1. Dozet, N., Jovanović S., Mačej O. (2006): Sirevi u salamuri-mjesto i značaj u sirarstvu, monografija «Autohtoni beli sirevi u salamuri», Ur. Dozet N. Mačej, O., Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, 3-33
2. Jovanov, G., Đerovski, J., Puđa, P. (2006): Proteolitičke promene u toku zrenja belog sira u salamuri, Zbornik radova Simpozijuma «Mleko i proizvodi od mleka», Tara, 74-78
3. Službeni list SRJ br.26 (2002): Pravilnik o kvalitetu mleka, mlečnih proizvoda, kompozitnih mlečnih proizvoda i starter kultura
4. Jovanović S., Mačej O., Barać M., Vučić T. (2006): Dinamika kiselosti i mineralnih materija tokom zrenja polutvrđog sira proizvedenog na bazi koagregata proteina mleka, Mleko i mlečni proizvodi, Prehrambena industrija, 3-4, vol 17, 38-44.

SUMMARY**INVESTIGATION OF CHEESES IN BRINE FROM PIROT REGION**

¹Suzana D. Cvetanović, ²Dejan M. Nikolić, ³Brižita I. Đorđević, ³Ivanka Đ. Miletić
³Ivan M. Stanković, ³Bojana B. Vidović

¹The College of Agriculture and Food Technology, Prokuplje, ²Institute of Public Health, Niš,

³University of Belgrade, Faculty of Pharmacy, Institute of Bromatology, Serbia

In this paper the parameters of quality and nutrition value of cow, goat and sheep cheese in brine were investigated. The samples of cheese were produced on the Pirot territory. The dynamic of changes of these parameters was investigated throughout storage of cheeses. Investigation of chemical composition (dry matter, fat, total nitrogen, salt, calcium and ash), as well as pH and titrimetric acidity of cheeses in brine were analysed through 6 months: after production, and 30, 60, 120 and 180 days of storage.

The obtained results are according to general characteristics of white cheese in brine: sour-bitter taste, soft appearance, and high content of fat in dry matter. After detailed chemical analyses of white cheeses in brine, it might be concluded that analyzed cheese samples have significant nutritive value after 6 months of production. It could be concluded that the most intensive dynamic of chemical changes is first month after their production.

Key words: cow's milk • goat's milk • sheep's milk • white cheese in brine • ripening

**JELENA B. ĐEROVSKI
ZORICA T. RADULOVIĆ
DUŠANKA D. PAUNOVIĆ
PREDRAG D. PUĐA**

**Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet,
Institut za prehrambenu
tehnologiju i biohemiju**

NAUČNI RAD

UDK: 637.652:637.146.1:637.05

UTICAJ DOPUNSKIH KULTURA NA SVOJSTVA NISKOMASNOG SIRA U SALAMURI

Sirevi sa smanjenim sadržajem masti često se odlikuju lošim i neprihvatljivim senzornim svojstvima koji se ogledaju u lošim teksturalnim osobinama i slabo izraženom i atipičnom ukusu i mirisu. Problemi u proizvodnji niskomasnih sireva mogu se delimično ili potpuno prevazići modifikacijom parametara tehnološkog postupka proizvodnje, upotrebom dopunskih starter kultura i dodavanjem različitih aditiva.

U radu je ispitan uticaj različitih dopunskih kultura na sastav i senzorna svojstva niskomasnog sira u salamuri. Niskomasni sir u salamuri sa 15% MuSM je proizveden od proteinskog praha Promilk 852A (Ingredia, Francuska), obranog mleka u prahu i pavlake, prema definisanom postupku proizvodnje. Kao osnovna starter kultura korišćeni su *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* i *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*.

Kao dopunska kultura za proizvodnju sira B korišćena je vrsta *Str. thermophilus* koja proizvodi egzopolisaharide, za proizvodnju sira C probiotska kultura, koja sadrži *Lb. acidophilus* i *Bifidobacterium* sp., a za proizvodnju sira D vrsta *Lb. casei*.

Hemijski sastav i pH vrednost kontrolnog i eksperimentalnih sireva ne razlikuju se značajno.

Senzorna ocena sireva pokazuje da sirevi proizvedeni sa dopunskim kulturama pokazuju znatno bolja svojstva u odnosu na kontrolni sir, proizveden samo sa osnovnom starter kulturom. Bolja svojstva sireva proizvedenih sa dopunskim kulturama u poređenju sa kontrolnim sirom ogledaju se u poboljšanju teksture, ukusa i mirisa.

Na osnovu rezultata može se zaključiti da je primena dopunskih kultura jedno od adekvatnih rešenja za postizanje prihvatljivih i funkcionalnih osobina niskomasnih sireva, što omogućava njihovo bolje pozicioniranje na tržištu proizvoda od mleka.

Ključne reči: sir u salamuri • dopunske kulture • sastav • proteoliza • senzorna svojstva

UVOD

Sirevi sa smanjenim sadržajem masti usled svojih nutritivno-dijetetskih svojstava sve više zaokupljaju pažnju proizvođača i potrošača proizvoda od mleka.

Mlečna mast je veoma vredna komponenta mleka i sira i u velikoj meri doprinosi specifičnim senzornim i funkcionalnim karakteristikama proizvoda. Sirevi sa smanjenim sadržajem masti se veoma često opisuju kao proizvodi sa čvrstom, tvrdom i atipičnom teksturom, nedovoljno izraženim ukusom i mirisom i sveukupno manje prihvatljivim senzornim svojstvima u odnosu na punomasne sireve iste kategorije.

Ipak, može se reći da se prva generacija sireva sa smanjenim sadržajem masti odlikovala ovako negativnim karakteristikama, jer se u poslednjih nekoliko godina ulažu napor kako bi se prevazišli pomenuti problemi. Prevazilaženje navedenih problema i postizanje prihvatljivih svojstava sireva sa smanjenim sadržajem masti zasniva se na modifikaciji tehnološkog postupka proizvodnje, upotrebi dopunskih starter kultura i aditiva (Puđa i Đerovski, 2007).

Ispitivanja o uticaju dopunskih kultura na karakteristike sireva sa sma-

njenim sadržajem masti vršena su na brojnim vrstama sireva, kao što su čedar (Fenelon i sar., 2002), edam (Tungjaroenchai i sar. 2001) feta (Katsiari i sar. 2002a,b, Michaelidou i sar. 2003 a), kefalograviera (Katsiari i sar., 2002 b), korišćenjem različitih sojeva mikroorganizama.

Dopunske kulture koje se dodaju u proizvodnju sireva treba da ispunjavaju zahteve za malom acidogenom i izraženom proteolitičkom aktivnošću. Generalno, cilj primene dopunskih kultura je poboljšanje inferiornih senzornih svojstava sireva sa smanjenim sadržajem masti. Slabija acidogena sposobnost ovih kultura je neophodna kako bi se sprečio intenzivni razvoj kiselosti usled prisustva većeg sadržaja vode u sirevima sa smanjenim sadržajem masti, što bi omogućilo stvaranje defekata ukusa. S druge strane, izražena i kontrolisana proteolitička aktivnost dopunskih kultura, a posebno peptidazna aktivnost, smanjuje mogućnost pojave gorčine usled formiranja većeg sadržaja željenih peptida koji su osnovni nosioci arome sira (Puđa i Đerovski, 2007).

Kao dopunske kulture u proizvodnji sireva mogu se koristiti brojni mikroorganizmi. Broadbent i sar. (2001) navode da se dodavanjem startera koji proizvode egzopolisaharide (*Streptococcus thermophilus* MR-C1) utiče na povećanje sadržaja vode u siru (za 1,5%) i poboljšanje senzornih i funkcionalnih svojstava mocarele. Upotrebom starter kultura (*Lactococcus lactis* spp. *cremoris* JFR1) koje proizvode egzopolisaharide (EPS) poboljšava se topivost, teksturalne i senzorne karakteristike čedra sa smanjenim sadržajem masti. Redistribucija vode je najodgovorniji faktor za promene teks-

Adresa autora:

Mr Jelena Đerovski, asistent, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun – Beograd, Srbija, tel.: +381 11 2615315/lok 117,
e-mail: jelenadjerovski@agrifaculty.bg.ac.yu

ture i omekšavanje sirnog testa čedra sa smanjenim sadržajem masti tokom prvih par nedelja zrenja, što je rezultat sposobnosti EPS da vežu značajnu količinu slobodne vode (Awad i sar. 2005).

Sposobnosti egzopolisaharida da deluju kao agensi viskoziteta, stabilnosti i vezivanja vode ukazuje na to da se sojevi sposobni da produkuju egzopolisaharide uspešno mogu koristiti kao prirodna alternativa u odnosu na komercijalne stabilizatore u brojnim proizvodima od mleka sa smanjenim sadržajem masti.

Poslednjih godina evidentno je prisutna sve veća tražnja za funkcionalnim i organski proizvedenim proizvodima. S tim u vezi, proizvodnju sireva sa smanjenim sadržajem masti je neophodno povezati sa pojedinim aspektima proizvodnje funkcionalne hrane kao što je npr. upotreba probiotičkih kultura kako bi se istovremeno obezbedili višestruki pozitivni efekti na zdravlje potrošača koji trenutno predstavljaju važnu smernicu u opredeljivanju potrošača za određenu vrstu proizvoda (Đerovski i sar., 2007., Puđa i sar., 2008). Ryhänen i sar. (2001) su proizveli niskomasni polutvrđi probiotički sir sa bioaktivnim osobinama uz primenu mešavine kultura *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Propionibacterium* sp. i *Lactobacillus* sp. uz *L. acidophilus* i *Bifidobacterium* sp. dobrih senzornih karakteristika koji ima pozitivne efekte na zdravlje potrošača.

Cilj našeg rada je sagledavanje uticaja različitih dopunskih kultura na sastav i svojstva niskomasnog sira u salamuri proizvedenog od proteinskog praha Promilk 852A (Ingredia, Francuska). Kao dopunske starter kulture u zavisnosti od proizvedene varijante sira korišćene su vrsta *Str. Thermophilus* koja produkuje egzopolisaharide, probiotička kultura koja sadrži *Lb. acidophilus* i *Bifidobacterium* sp. i vrsta *Lb. casei* 80 izolovana i selekcionisana iz autohtonih sireva u salamuri (Radulović, 2007).

Poboljšanje senzornih svojstava

niskomasnih sireva u salamuri omogućilo bi dobijanje proizvoda prihvatljivih i funkcionalnih svojstava koji bi mogli naći svoje mesto na tržištu proizvoda od mleka i proširiti postojeći asortiman.

MATERIJAL I METODI

Proizvodnja sireva

U ovom eksperimentu sirevi u salamuri su proizvedeni od proteinskog praha Promilk 852A (Ingredia, Francuska), obranog mleka u prahu (Mlekara, Subotica) i pavlake (Polimark, Beograd).

Sastav proteinskog praha „Promilk 852“, obranog mleka u prahu i pavlake određen je standardnim metodama ispitivanja i obuhvata sadržaj suve materije, proteina, mlečne masti i pepela (Carić i sar., 2000.). Sastav svih sirovina koji je dobijen analiziranjem prikazan je u tabeli 1.

Na osnovu sastava svih sirovina vršeno je preračunavanje potrebnih količina pojedinih komponenata („Promilk 852“, obrano mleko u prahu, pavlaka, voda) neophodnih za postizanje željenog sastava niskomasnog koncentrata i budućeg sira (~15% MuSM).

Priprema koncentrata je obuhvatila rekonstituciju obranog mleka u prahu i proteinskog praha Promilk 852A u određenoj količini vode. Hidratacija proteinskog praha Promilk 852A sa određenom količinom vode je vršena u toku 1 sata na temperaturi 50°C uz intenzivno miksiranje u toku 30 s/10 min. Nakon toga, vršeno je odmeravanje preračunatih količina rekonstituisanog obranog mleka u prahu, proteinskog praha Promilk 852A, pavlake i vode potrebnih za dobijanje koncentrata odgovarajućeg sastava. Termički tretman koncentrata je vršen na temperaturi 80°C, a potom je hlađen do 35°C. Hidratacija koncentrata je vršena u toku 20 – 24 h na temperaturi 4 – 8°C.

Nakon pripreme, koncentrat je za-

grevan na temperaturu inokulacije (35°C). Kao osnovna starter kultura korišćene su LL50A i BT 10X kultura (DSM, Holandija), u odnosu 50:50, koju čine *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* i *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. U proizvodnji eksperimentalnih sireva B, C i D korišćene su sledeće dopunske kulture: ADD 100 F (DSM, Holandija) koja je sačinjena od vrste *Streptococcus thermophilus* koja produkuje egzopolisaharide (sir B); probiotička kultura MY – 721 (DSM, Holandija) koja sadrži *Lb. acidophilus* i *Bifidobacterium* sp. (sir C); *Lb. casei* 80 (sir D).

Podsiranje je vršeno sa sirlom Fromase (DSM, Holandija), a potom je koncentrat razlivan u ambalažne jedinice (0,5kg). Koagulacija i fermentacija su vršene u toku 17–18 h na temperaturi 28 – 30°C do postizanja pH vrednosti ~ 4,8. Sirevi su, nakon postizanja željene pH vrednosti, soljeni sa ~2% kuhinjske soli, a potom stavljeni na zrenje na temperaturu 10°C u toku 5 nedelja.

Uzorkovanje i analiza sira

Uzorkovanje i analiziranje sastava sireva je vršeno pre soljenja (0 dan) i nakon 35-og dana zrenja. Analize parametara sastava sireva u salamuri su obuhvatile: određivanje suve materije (SM) metodom sušenja, određivanje mlečne masti (MM) metodom po Van Guliku, određivanje sadržaja soli (NaCl) metodom po Volhardu, određivanje ukupnih azotnih materija (UN), odnosno proteina (UP=UN x 6,38), metodom po Kjeldahl-u (Carić i sar. 1997.).

Obim proteolitičkih promena nakon 35 dana zrenja ustanovljen je određivanjem sadržaja u vodi rastvorljivih azotnih materija (RN), metodom po Kuchroo i Fox-u (1982), i sadržajem azotnih materija rastvorljivih u 5% PTA (PTA-N) metodom po Stadhouders-u (1960). Sadržaj RN i PTA-N su izraženi kao udeo u ukupnim azotnim materijama (RN/UN i PTA-N/UN).

Tabela 1. SASTAV PROTEINSKOG PRAHA „Promilk 852A“, OBRANOG MLEKA U PRAHU I PAVLAKE
Table 1. COMPOSITION OF MILK PROTEIN POWDER „Promilk852A“, SKIM MILK POWDER AND CREAM

	SM/DM (%)	MM/MF (%)	UP/TP (%)	Pepeo/Ash (%)	Laktoza/Lactose (%)
Pavlaka/Cream	58,30	54,0	1,73	0,20	-
Proteinski prah „Promilk 52“/ Milk protein powder	93,53	1,0	80,0	7,20	5,50
Obrano mleko u prahu / Skim milk powder	94,28	1,1	34,24	7,90	51,00

Senzorna ocena sireva u salamuri proizvedenih bez i sa dopunskom kulturom je vršena metodom bodovanja petobalnim bod sistemom nakon 7, 21 i 35 dana zrenja.

REZULTATI I DISKUSIJA

Hemijski sastav sireva

Podaci o sastavu sirevu u salamuri proizvedenih bez i sa dopunskom kulturom pre soljenja i nakon 5 nedelja zrenja prikazani su u tabeli 2.

Sirevi prema sadržaju VuBMS i MuSM pripadaju grupi mekih niskomasnih sireva (Pravilnik Sl. list 26/2002). Iz tabele 2 se uočava da se u periodu pre soljenja do 35-og dana zrenja značajno povećava sadržaj suve materije, kao posledica ulaska soli u sir i izdvajanja vode.

Sadržaj proteina je nešto veći u poređenju sa istom vrstom punomasnog sira (Đerovski i sar. 2007, Puđa i sar. 2008). Visok sadržaj proteina i nizak sadržaj masti u suvoj materiji sira doprinosi da ovi sirevi imaju izrazito čvrstu i nepodesnu teksturu proteinskog matriksa. Usled toga, proizvodnja sireva sa smanjenim sadržajem masti treba da ima za cilj zadržavanje veće količine vode, odnosno ostvarivanje sadržaja VBMS bliskog istom kod sireva sa većim sadržajem masti, a sve sa ciljem poboljšanja teksturalnih osobina sira (Puđa i Đerovski, 2007).

Između kontrolnog i eksperimentalnog sira ustanovljene su veoma male razlike u sastavu što ukazuje da primena dopunskih kultura ne utiče značajno na hemijski sastav sira (Katsiari i sar., 2002, Fenelon i sar., 2002, Michaelidou i sar., 2003).

Proteoliza

Na slici 1 prikazani su podaci o sadržaju RN i PTA-N izraženih kao udeo u ukupnim azotnim materijama nakon 5 nedelja zrenja sireva proizvedenih bez i sa dopunskom kulturom.

Sagledavanje sadržaja u vodi rastvorljivih azotnih materija u siru (RN) veoma je važno sa aspekta razmatranja uticaja dopunskih kultura na obim proteolitičkih promena sireva. Sadržaj RN izražen kao udeo u UN označava se kao koeficijent zrelosti (KZ) i predstavlja značajnog pokazatelja zrenja.

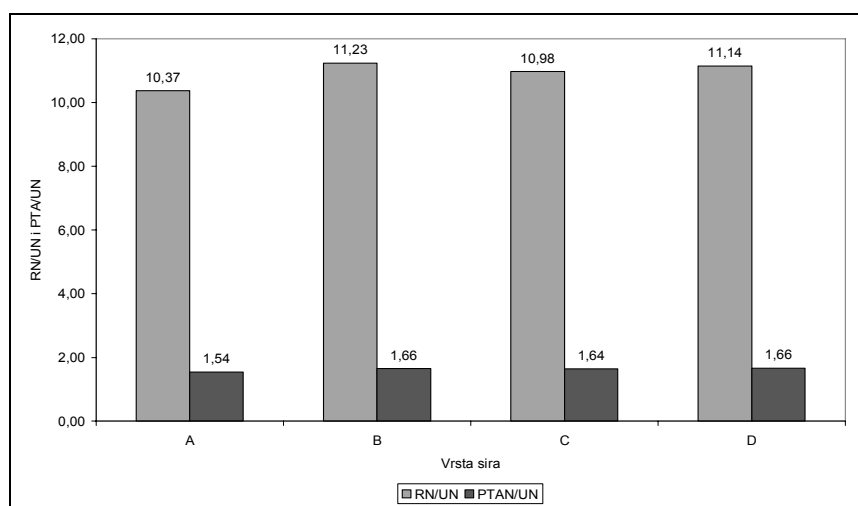
Na slici 1 uočava se da se sadržaj RN/UN nakon 5 nedelja zrenja sireva proizvedenih bez i sa dopunskom kul-

Tabela 2. OSNOVNI PARAMETRI HEMIJSKOG SASTAVA SIREVA U SALAMURI PROIZVEDENIH BEZ I SA DOPUNSKOM KULTUROM

Table 2. CHEMICAL COMPOSITION OF BRINED CHEESES MADE WITHOUT AND WITH ADJUNCT CULTURE

Dani zrenja Ripening time	Sir Cheese	SM DM (%)	V M (%)	VuBMS MFFB (%)	MuSM FDM (%)	NaCl/VF NaCl/M (%)	UP TP (%)
0*	A	26,56	73,44	76,50	15,06	-	14,53
	B	26,84	73,16	76,21	14,90	-	15,34
	C	25,97	74,03	77,11	15,40	-	15,20
	D	26,02	73,98	77,06	15,37	-	15,50
35	A	30,17	69,83	73,12	14,92	2,99	16,20
	B	29,89	70,11	73,41	15,06	2,98	16,25
	C	30,63	69,37	72,64	14,69	2,99	16,36
	D	30,17	69,83	73,12	14,92	2,92	16,15

* 0 dan – pre soljenja sireva



Slika 1. SADRŽAJ RN/UN I PTA-N/UN SIREVA PROIZVEDENIH BEZ I SA DOPUNSKOM KULTUROM NAKON 5 NEDELJA ZRENJA

Figure 1. THE CONTENT OF WSN/TN AND PTA-N/TN OF CHEESES MADE WITHOUT AND WITH ADJUNCT CULTURE AFTER 5 WEEKS OF RIPENING

tumom kretao u intervalu 10,37 do 11,23. Ova vrednost koeficijenta zrelosti je relativno niska u poređenju sa istim kod drugih vrsta sireva u salamuri proizvedenih od mleka kao sirovine. Abd – El Salam i sar. (1993) navode da se KZ belih sireva u salamuri najčešće kreće u intervalu 12 – 20% i maksimalno dostiže vrednost 25%. Ovakvi rezultati ukazuju na relativno mali obim proteolitičkih promena kod sireva proizvedenih u našem eksperimentu, verovatno kao posledica velikog udela serum proteina. Evidentno je da prisustvo serum proteina u UF sirevima menja tok zrenja ovih sireva u poređenju sa sirevim proizvedenim od mleka (Guinee i sar., 1995, Lo i Bastian, 1998).

Na slici 1 se uočava da se sadržaj RN/UN ne razlikuje značajno između kontrolnog i eksperimentalnih sireva. Ipak, možemo ustanoviti da sirevi proizvedeni sa dopunskom kulturom pokazuju nešto veći sadržaj RN/UN, verovatno kao posledica blago povećane proteolitičke aktivnosti dodatih starter kultura.

U toku sekundarne razgradnje proteina nastaju peptidi male molekulske mase i aminokiseline (<600Da) koji su rastvorljivi u 5% PTA. Ova jedinjenja nastaju aktivnošću enzima starterske i nestarterske mikroflora i u najvećoj meri su odgovorna za formiranje ukusa i mirisa sireva (Fox i sar. 1993). Podaci o sadržaju PTAN/UN sireva u salamuri su relativno oskudni. Abd El Salam i sar. (1993.) navode da sadr-

žaj PTAN/UN sireva u salamuri se najčešće kreće u intervalu 3 – 5%.

Prema podacima sa slike 1 uočava se da se sadržaj PTAN/UN kretao u intervalu 1,54 kod kontrolnog sira A do 1,66 kod eksperimentalnog sira B i D. Nešto veći sadržaj PTAN/UN kod sireva proizvedenih sa dopunskom kulturom su verovatno posledica peptidazne aktivnosti, koja se odražava na formiranje prekursora ukusa i mirisa sira. Michaelidou i sar. (2003) navode da dodavanje komercijalne dopunske kulture u proizvedeni niskomasnog feta sira ne utiče značajno na sadržaj RN/UN, ali značajno povećava sadržaj PTAN/UN i slobodnih aminokiselina. Ovi rezultati ukazuju da dodavanje dopunske kulture ne utiče značajno na obim primarne proteolize, ali utiče na nivo sekundarnih proteolitičkih promena pri čemu nastaju mala jedinjenja odgovorna za formiranje ukusa i mirisa sira.

Ukus i miris sireva sa smanjenim sadržajem masti zavise od aromatskih komponenti koje su osnovni nosioci arome određene vrste sira. Tako npr. Katsiari i Voutsinas (1994) navode da niskomasni feta sir ima zadovoljavajuća senzorna svojstva, jer su nosioci ukusa ovog sira niska pH vrednost, odnosno izražena kiselost, visok sadržaj soli i ograničen obim proteolize koji se zadržavaju i kod sira sa smanjenim sadržajem masti.

Senzorna ocena

U tabeli 3 prikazani su rezultati senzorne ocene sireva u salamuri proizvedenih bez i sa dopunskim kulturom.

Iz table 3 uočava se da su spoljni izgled, boja i izgled preseka svih ispitivanih sireva bili odlični u svim tačkama zrenja. Senzorne ocene ovih parametara veoma malo variraju i kreću se od 4,83 – 5,00. Značajnije razlike između kontrolnog i eksperimentalnih sireva proizvedenih sa dopunskim kulturama uočavaju se u teksturi, ukusu i mirisu. S tim u vezi, uočava se da je kontrolni sir u svim tačkama zrenja imao lošije teksturalne osobine u poređenju sa eksperimentalnim sirevima. Ipak, relativno dobra tekstura svih sireva, i kontrolnog i eksperimentalnih, posledica je relativno visokog sadržaja vode u siru. Naime, poznato je da je jedan od načina prevazilaženja problema teksture sireva sa smanjenim sadržajem masti postizanje nivoa vode, odnosno VBMS kao u punomasnim sirevima (Ardo, 1993, Puđa i Đerovski, 2007).

Sirevi proizvedeni sa dopunskim kulturama u svim tačkama zrenja imali su bolje ocene ukusa i mirisa u odnosu na kontrolni sir. Ovi rezultati su verovatno posledica nešto većeg sadržaja u vodi rastvorljivih azotnih materija (RN) i sadržaja azotnih materija rastvorljivih u 5% fosfovolframskoj kiselini (PTAN) sireva proizvedenim sa dopunskim kulturama. Michaelidou i sar. (2003) navode da je u punomasnom i siru proizvedenom sa komercijalnim dopunskim kulturama značajno veći sadržaj malih peptida, slobodnih aminokiselina i ukupnih masnih kiselina u odnosu na iste u niskomasnom siru, što se reflektuje na senzorna svojstva sira. Poboljšanje ukusa i mirisa sireva proizvedenih sa dopunskim kulturama verovatno su posledica peptidazne (aminopeptidazne) aktivnosti

enzima dopunske kulture. Ipak, pojedini autori navode da dodavanje dopunskih kultura nema izraženo pozitivno dejstvo na svojstva sireva sa smanjenim sadržajem masti (Drake i sar., 1995, Tungjaroenchai i sar., 2001). U kasnijim fazama zrenja niskomasnih sireva gorak ukus je relativno česta pojava, koja se delimično objašnjava većim sadržajem vode u njima (Mistry, 2001). Činjenica da eksperimentalni sirevi ne pokazuju gorčinu može biti povezana sa peptidaznom aktivnošću dopunskih kultura koje doprinose razgradnji hidrofobnih peptida odgovornih za pojavu gorčine u siru. Na osnovu rezultata i pregleda literature može se zaključiti da uticaj dopunskih kultura na poboljšanje ukusa i mirisa sireva sa smanjenim sadržajem masti u velikoj meri zavisi od vrste upotrebene kulture.

ZAKLJUČAK

Sirevi sa smanjenim sadržajem masti veoma često pokazuju brojne nedostatke, posebno u pogledu ukusa, mirisa i teksture.

Rezultati ovog rada ukazuju da primena dopunskih kultura poboljšava teksturalne osobine i ukus i miris niskomasnih sireva u salamuri proizvedenih od proteinskog praha Promilk 852A. Dodavanje probiotskih bakterija omogućava dobijanje proizvoda prihvatljivih senzornih i funkcionalnih svojstava. Poboljšanje često inferornih svojstava niskomasnih sireva omogućava bolje pozicioniranje ovih proizvoda na tržištu proizvoda od mleka.

Tabela 3. SENZORNA OCENA SIREVA U SALAMURI PROIZVEDNIH BEZ I SA DOPUNSKOM KULTUROM TOKOM ZRENJA
Table 3. THE SENSORY EVALUATION OF BRINED CHEESES MADE WITHOUT AND WITH ADJUNCT CULTURE DURING RIPENING

Dani zrenja Ripening time	Sir Cheese	Ispitivani pokazatelji Investigated attributes						Senzorna ocena Sensory evaluation	
		Spoljni izgled Exterior appearance	Boja Colour	Izgled preseka Interior appearance	Tekstura i konzistencija Texture and consistency	Ukus Taste	Miris Odour	X _{sr}	% max kval. % max. quality
7	A	4,83	4,83	4,92	3,92	3,50	3,50	3,99	79,83
	B	5,00	4,92	4,42	4,50	4,17	4,33	4,43	88,67
	C	4,92	4,92	5,00	4,33	4,08	4,08	4,39	87,83
	D	5,00	4,92	4,75	4,42	4,58	4,42	4,63	92,50
21	A	5,00	5,00	5,00	3,67	2,92	3,00	3,70	74,00
	B	5,00	5,00	5,00	4,42	4,08	4,17	4,43	88,67
	C	5,00	5,00	5,00	3,92	4,00	4,17	4,30	86,00
	D	5,00	5,00	5,00	4,42	4,00	4,08	4,39	87,39
35	A	5,00	5,00	5,00	3,67	3,50	3,50	3,98	79,67
	B	5,00	5,00	4,83	4,17	4,00	3,75	4,29	85,83
	C	5,00	5,00	4,67	4,17	4,25	4,42	4,44	88,83
	D	5,00	5,00	5,00	4,50	4,42	4,58	4,63	92,50

LITERATURA

- Abd El Salam, M., H., Alichanidis, E., Zrefridis, G., K. (1993): Domiati and Feta type cheese, In P., F., Fox., (Ed.) Cheese: Chemistry, physics and microbiology, Vol. 2, (str. 301–337), London: Elsevier Applied Science.
- Ardo, Y. (1993). Characterizing ripening in low-fat, semi-hard roundeye cheese made with undefined mesophilic DL-starter. *International Dairy Journal*, 33, 343–357.
- Awad, S., Hassan, A.N., Halaweish, F. (2005): Application of exopolysaccharide-producing cultures in reduced-fat Cheddar cheese: composition and proteolysis, *Journal of Dairy Science*, 88, 4195–4203.
- Broadbent, J.R., McMahon, D.J., Oberg, C.J., Welker, D.L. (2001): Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese, *International Dairy Journal*, 11(4-7), 433–439.
- Carić, M., Milanović, S., Vucelja, D. (1997): Standardne metode analize mleka i mlečnih proizvoda, Prometej i Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Đerovski, J., Puđa, P. (2007): Sirevi sa smanjenim sadržajem masti, *Savremena poljoprivreda*, LVI (5), posebno izdanje, 86–103.
- Đerovski, J., Puđa, P., Radulović, Z., Obradović, D., Martinović, M (2007): Zrenje sireva od UF mleka sa probiotskim kulturama, *Prehrambena industrija*, 18, 1–2, 76–81.
- Drake, M.A., Swanson, B.G. (1995): Reduced- and low-fat cheese technology: A review, *Trends in Foods Science and Technology*, 6, 366–369.
- Fenelon, M.A., Beresford, T.P., Guinee, T.P. (2002): Comparison of different bacterial culture systems for the production reduced-fat Cheddar cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 55(4), 194–203.
- Fox, P.F., Law, J., McSweeney, P.L.H., Wallace, J. (1993): Biochemistry of cheese ripening., In: Fox, P., F., (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 1, (str. 389–438), London: Elsevier Applied Science.
- Guinee, T.P., Puđa, P. D., Reville, W.J., Harrington, D., Mulholland, E.O., Cotter, M., Cogan, T.M. (1995): Composition, microstructure and maturation of semi-hard cheeses from high protein ultrafiltered milk retentates with different levels of denatured whey protein. *International Dairy Journal*, 5, 543–568.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P. (1994): Manufacture of low-fat Feta cheese. *Food Chemistry*, 49,53–60.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E. (2002b): Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures. *International Dairy Journal*, 12 (9), 757–764.
- Kuchroo, C., N., Fox, P., F., (1982): Soluble nitrogen in Cheddar cheese. Comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331–335.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E., Alichanidis, E. (2002a): Flavour enhancement of low fat Feta-type cheese using a commercial adjunct culture. *Food Chemistry*, 79, 193–198.
- Lo, C.G., Bastian, E.D. (1998): Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd for manufacture of reduced fat Havarti-type cheese. *Journal of Dairy Science*, 81, 16–24.
- Michaelidou, A., Katsiari, M.C., Kondyli, E., Voutsinas, L.P., Alichanidis, E. (2003a): Effect of a commercial adjunct culture on proteolysis in low-fat Feta-type cheese. *International Dairy Journal*, 13(2-3), 179–189.
- Mistry, V.V. (2001): Low fat cheese technology. *International Dairy Journal*, 11, 413–422.
- Pravilnik o kvalitetu mleka i drugim zahtevima za mleko, mlečne proizvode, kompozitne mlečne proizvode i starter kulture, SL. List 26/2002.
- Puđa, P., Đerovski, J. (2007): Sirevi sa smanjenim sadržajem masti. *Savremena poljoprivreda, specijalno izdanje*, 5, 86–103.
- Puđa, P., Đerovski, J., Radulović, Z., Obradović, D. (2008): Effects of probiotics cultures and salt reduction on the characteristics of UF white brined cheeses. *Book of abstracts. 5th IDF Symposium on cheese ripening*, Bern, Švajcarska.
- Radulović, Z. (2007): Izolacija i selekcija autohtonih bakterija mlečne kiseline i njihova primena u standardizaciji sireva u tipu sjeničkog, *Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu*.
- Ryhänen, E.-L., Pihlanto-Leppälä, A., Pakkala, E. (2001): A new type of ripened, low-fat cheese with bioactive properties. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 441–447.
- Stadhouders, J., (1960): The hydrolysis of protein during the ripening of Dutch cheese. The enzymes and the bacteria involved. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 14, 83–110.
- Tungjaroenchai, W., Drake, M.A., White, C. (2001): Influence of adjunct cultures on ripening of reduced fat Edam cheese. *Journal of Dairy Science*, 84 (10), 2117–2124.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF ADJUNCT CULTURES ON THE PROPERTIES OF LOW FAT BRINED CHEESE

Jelena B. Đerovski, Zorica T. Radulović, Dušanka D. Paunović, Predrag D. Puđa
University of Belgrade, Faculty of Agriculture

Reduced fat cheeses are usually characterized as having poor and unacceptable sensory properties. Elimination of the defects in these cheeses has proved technologically challenging. Approaches include manipulation of processing parameters, use of adjunct cultures and additives.

The influence of different adjunct cultures on the composition and sensory properties of low fat brined cheeses were investigated in this paper.

Low fat UF brined cheeses (~15% FDM) were produced using milk protein powder Promilk 852A (Ingredia, France), skim milk powder and cream, according to the defined production procedure. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *Lc. lactis* ssp. *Cre-moris*, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains were used as primary starter cultures. Exopolysaccharide – producing *Str. thermophilus* was used as adjunct starter culture for the production of cheese B, probiotic culture which contains *Lb. acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. was used for the production of cheese C, while *Lb. casei* was used for the production of cheese D.

Composition and pH value of cheeses did not differ significantly. Cheeses made with adjunct cultures showed much better characteristics than the control cheese, made only with primary starter culture. Better properties of cheeses produced with adjunct cultures included improved texture, flavour and odour.

It was concluded that application of adjunct cultures could be an adequate solution for getting acceptable and functional properties of low fat cheeses. Also, this could lead to better positioning of low fat cheeses on the dairy products market.

Key words: brined cheese • adjunct cultures • composition • proteolysis • sensory properties

¹TANJA R. VUČIĆ
¹OGNJE D. MAČEJ
¹SNEŽANA T. JOVANOVIĆ
¹SANJA V. SERATLIĆ
²GORDANA B. NIKETIĆ

¹Univerzitet u Beogradu,
 Poljoprivredni fakultet, Institut za
 prehrambenu tehnologiju i biohemiju
²JPS Zavod za mlekarstvo,
 Novi Beograd

NAUČNI RAD

UDK: 637.33:637.05

ZLATARSKI SIR – AUTOHTONA TEHNOLOGIJA I SENZORNE KARAKTERISTIKE*

Zlatarski sir je jedan od najpoznatijih autohtonih mlečnih proizvoda u Srbiji. Proizvodi se od punomasnog kravljeg mleka po autohtonoj tehnologiji u podnožju Zlatara, u okolini Nove Varoši. Po sadržaju VBMS sirevi pripadaju grupi mekih sireva, a po sadržaju MuSM svi ispitani uzorci zlatarskog sira svrstani su u grupu punomasnih sireva. Senzornom analizom kojom je ocenjen opšti izgled, boja, presek, ukus, miris i konzistencija, uzorci sira svrstani su u pet kategorija: odličan, vrlo dobar, dobar, zadovoljava i ne zadovoljava. Ukupno je ocenjeno 149 uzoraka zlatarskog sira.

Ključne reči: beli sirevi u salamuri • autohtona proizvodnja • senzorna analiza

UVOD

Beli sirevi u salamuri čine veliku grupu sireva koji su široko rasprostranjeni u svetu. Ovi sirevi se izrađuju na tri kontinenta: u Aziji, Evropi i Africi, a među najpoznatijima su feta, brinza, domiati, teleme, akaawi i drugi (Dozet i sar., 2006, Güler i Uraz, 2004).

Na brdsko-planinskom području Republike Srbije beli sirevi u salamuri se proizvode u domaćinstvima po autohtonoj tehnologiji, a označavaju se prema regionu ili mestu proizvodnje (zlatarski, homoljski, sjenički, svrljiški).

Beli sirevi u salamuri pripadaju grupi polutvrdih ili mekih sireva, koji na preseku mogu biti bez ili sa malo mehaničkih šupljika. Proizvode se najčešće od kravljeg, a u manjoj meri od ovčijeg i kozjeg mleka. Osim vrste mleka, kao i odsustva termičkog tretmana mleka od kojeg se proizvode, autohtone bele sireve u salamuri karakteriše jednostavan tehnološki postupak proizvodnje i kratak period zrenja. S obzirom da se proizvode po autohtonoj tehnologiji, ovi sirevi pokazuju variranje u kvalitetu, što se naročito odnosi na sadržaj soli.

Jedan od najznačajnijih predstavnika autohtonih belih sireva u salamuri je zlatarski sir, koji se pretežno proizvodi od punomasnog kravljeg mleka. Proizvodi se autohtonom tehnologijom u okolini Nove Varoši u podnožju Zlatara i to u selima Božetići, Jasenovo, Akmačići, Pravoševa, Vraneševa i u Opštini Prijepolje, selima Aljinovići. Proizvodnja sira se odvija u seoskim domaćinstvima i u letnjim kolibama (bačije, katuni, stanovi), gde jednostavan način prerade, zrenje i čuvanje sira u salamuri obezbeđuje kvalitet sira duži vremenski period (Mačej i sar. 2006a, 2006b, 2007).

Dozet i sar. (2006) dali su predlog za klasifikaciju i standard belih sireva u salamuri na osnovu hemijskih pokazatelja kvaliteta i načina zrenja. Prema toj klasifikaciji sirevi iz ove grupe treba da sadrže 45-58% masti u suvo materiji i 60-70% vode u bezmasnoj

materiji sira. Takođe, jedna od bitnih karakteristika ove grupe sireva je da se zrenje i čuvanje sira odvija u salamuri ili surutki. Klasifikacija belih sireva u salamuri može se izvršiti i na osnovu senzornih karakteristika. Prema toj klasifikaciji mogu se jasno definisati svi parametri senzornog kvaliteta belih sireva u salamuri (Dozet i sar., 1996).

MATERIJAL I METODI

Snimanje autohtone tehnologije zlatarskog sira izvršeno je metodom anketiranja u periodu 2005-2008. godina u selima u okolini Nove Varoši, u podnožju Zlatara.

Za ispitivanje hemijskih pokazatelja kvaliteta Zlatarskog sira korišćene su sledeće analize:

- Određivanje sadržaja suve materije standardnom metodom sušenja na 102±1°S (Carić i sar., 2000);
- Određivanje sadržaja suve materije bez masti (SMBM) računskim putem;
- Određivanje sadržaja mlečne masti metodom po van Gulik -u (Carić i sar., 2000);
- Određivanje sadržaja ukupnih azotnih materija metodom po Kjeldahl-u (Carić i sar., 2000);
- Određivanje sadržaja proteina računskim putem;

Zlatarski sir se proizvodi autohtonom tehnologijom u okolini Nove Varoši, u podnožju planine Zlatar po kojoj je i dobio ime. Proizvodnja se obavlja u seoskim domaćinstvima i u letnjim kolibama (bačije, katuni, stanovi) (Mačej i sar., 2006a, 2006b, 2007). Autohtoni zlatarski sir proizvodi se is-

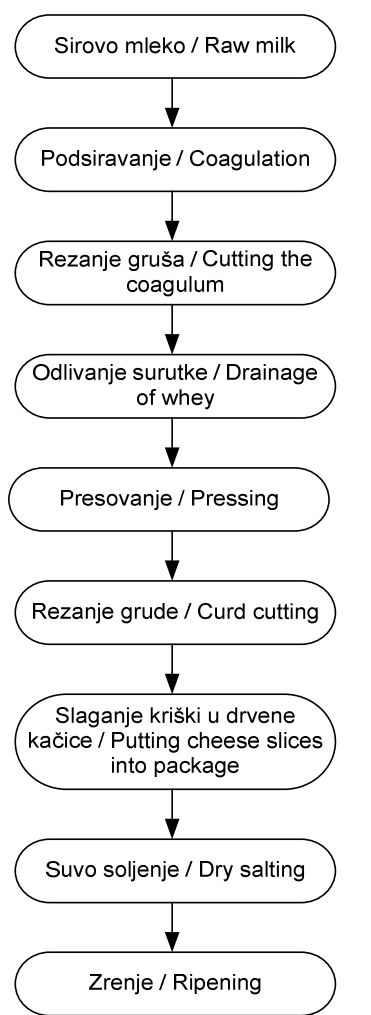
*Rad je deo istraživanja u okviru Nacionalnog programa Biotehnologija i agroindustrija, Projekat „Optimizacija i standardizacija autohtonih mlečnih proizvoda sa zaštitom oznake porekla“, Ev. Broj BTN 351002B

Adresa autora:

Tanja Vučić, stručni saradnik, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, 11080 Zemun, Beograd, tel.: 011/2615-315
 e-mail: tvucic@agrifaculty.bg.ac.yu

Tabela 1. RANGIRANJE BELIH SIREVA U SALAMURI PREMA % OD MAKSIMALNOG KVALITETA
Table 1. THE WHITE CHEESES IN BRINE RATING ACCORDING TO % OF MAXIMUM QUALITY

Kategorija/Category	Ocena/Evaluation	% max. kvaliteta/ % max. quality
I	Odličan/Excellent	90 – 100
II	Vrlo dobar/Very good	80 – 90
III	Dobar/Good	70 – 80
IV	Zadovoljavajući/Positive	50 – 70
V	Nezadovoljavajući/Negative	< 50



Shema 1. TEHNOLOŠKI POSTUPAK PROIZVODNJE ZLATARSKOG SIRA

Scheme 1. TECHNOLOGICAL PROCESS OF ZLATAR CHEESE PRODUCTION

ključivo od sirovog kravljeg mleka. Sirevi proizvedeni po istoj autohtonoj tehnologiji od mešanog kravljeg i ovčijeg ili kozjeg mleka, kao i od čistog ovčijeg ili kozjeg mleka nose naziv „sir u tipu zlatarskog“.

- Određivanje sadržaja soli metodom po Mohr-u (Carić i sar., 2000);
- Određivanje titracione kiselosti mleka metodom po Soxhlet-Henkel-u (Carić i sar., 2000);
- Određivanje pH vrednosti pomoću pH-metra sa kombinovanim elektrodom, model Sentron 1001.

U ukupnom kvalitetu prehrambenih proizvoda, pored higijensko-toksikoloških, tehnoloških i nutritivnih faktora, značajno mesto pripada sensornim karakteristikama proizvoda. U senzorne pokazatelje kvaliteta najčešće se ubrajaju: opšti izgled, boja, izgled preseka, miris, ukus, mekoća, struktura, konzistencija i sočnost, pri čemu svaka grupa proizvoda ima specifične senzorne elemente kvaliteta, pa samim tim i specifična senzorna svojstva kvaliteta (Radovanović, 1992).

Metodom bodovanja – korigovanim petobalnim bod sistemom (Radovanović i Popov-Raljić, 2001) izvršena je senzorna analiza 149 uzoraka zlatarskog sira. Komisiju za ocenjivanje činili su eksperti iz oblasti tehnologije mleka u sastavu od tri člana. Senzorna ocena je izražena preko ponderisane srednje ocene i procenta od maksimalno mogućeg kvaliteta. Za izračunavanje % max. mogućeg kvaliteta korišćeni su sledeći koeficijenti važnosti: za opšti izgled-2, boju-2, presek-3, ukus-8, miris-2 i konzistenciju-3. Ocenjeni sireva su rangirani u 5 kategorija prema % od max. Kvaliteta (tabela 1).

Osnovne karakteristike serija dobijenih podataka za ispitivana obeležja prikazane su preko srednjih vrednosti (X), a dat je i interval odstupanja (min. i max.). Odstupanje pojedinačnih podataka u serijama od aritmetičke sredine, kao i jačina njihove grupisanosti oko srednje vrednosti, prikazana je preko mera varijacije – standardne devijacije (Sd) i koeficijenta varijacije (Cv) (Stanković i sar. 1989).

REZULTATI I DISKUSIJA

Autohtona tehnologija

Tehnološki postupak proizvodnje autohtonog zlatarskog sira prikazan je na shemi 1.

Kao sirovina za proizvodnju zlatarskog sira koristi se sirovo punomasno kravlje mleko, isključivo sa područja planine Zlatar. Muža se obavlja tri puta dnevno do kraja avgusta, a nakon toga dva puta dnevno. Podsiranje mleka vrši se odmah nakon muže. Nakon grubog filtriranja, sirovo mleko se zagreva na temperaturu podsiranja (35-40°C) i prebacuje u odgovarajuće posude „bakrača“. Podsiranje se vrši isključivo sirilom animalnog porekla koje se dodaje u količini od 2ml/l mleka. Koagulacija traje 2-3 sata (Jovanović i sar. 2005, Mačej i sar. 2006a, 2007). Nakon završene koagulacije formirani gruši se unakrsno reže i ostavlja da stoji kako bi se odvojila surutka. Gruši se zatim prebacuje u platnena cedila „grudnjače“ u kojima se vrši samopresovanje u trajanju od 30 do 60 minuta (slika 1). Sledi faza presovanja na taj način što se cedilo prebacuje na ravnu ploču, gruda se presloži, cedilo se krajevima spoji na sredini i optereti pomoću kamena. Ovom operacijom koja traje 2-3 sata dobija se karakteristična kriška zlatarskog sira debljine 1,5-2 cm. Ispresovana gruda se reže na pravilne kriške veličine 12x12 cm i slaže u drvene kačice. Slaganje kriški se vrši na taj način što se prvo posoli dno kačice, a zatim se svaki sloj kriški koje se slažu posebno soli. Slaganje se vrši dok se kačica ne napuni do vrha („uvrši“), nakon čega se na vrh kačice stavi drvena ploča i optereti kamenom (slika 2). Ako je potrebno, vrši se odlivanje surutke, a pri novom slaganju stara surutka se odliva. Zrenje zlatarskog sira odvija se u posebnim prostorijama u kojima je temperatura oko 12°C i traje 30-40 dana (Jovanović i sar., 2005, Mačej i sar., 2006a, 2006b, 2007).

Hemijski sastav zlatarskog sira

Hemijski sastav autohtonog zlatarskog sira prikazan je u tabeli 2.

S obzirom na to da su ispitivani uzorci zlatarskog sira proizvedeni u domaćinstvima po neujednačenoj tehnologiji, njihov sastav i kvalitet pokazuju veliku divergentnost i variranje.

Prema prosečnom sadržaju vode u VBMS (70,23%), sirevi pripadaju grupi mekih sireva.

U pogledu intervala variranja za sadržaj vode u bezmasnoj materiji sira, koji iznosi 68,19-71,49% svi ogleđni sirevi pripadaju grupi mekih sireva, i u tom smislu serija sireva za senzorno ocenjivanje je homogena. Na osnovu sadržaja masti u SM, koja je u proseku iznosila 56,23%, sa granicama variranja 54,39-60,67%, sirevi se mogu svrstati u grupu punomasnih sireva (Codex Alimentarius, 2000, Pravilnik, 2002). Najveće variranje u pogledu hemijskih pokazatelja kvaliteta, zapaža se kod titracione kiselosti uzoraka koja je se kretala od



Slika 1. SAMOPRESOVANJE SIRA (MAČEJ, O. 2006)

Figure 1. DRAINAGE OF WHEY



Slika 2. ZRENJE SIRA U KAČICAMA (MAČEJ, O. 2006)

Figure 2. CHEESE RIPENING

Tabela 2. HEMIJSKI SASTAV ZLATARSKOG SIRA
Table 2. CHEMICAL COMPOSITION OF ZLATAR WHITE CHEESE

Ispitivani pokazatelji/ Investigated parameters	Statički pokazatelji/ Statistical parameters		
	X_{min}	X_{max}	X_{sr}
SM/TS (%)	47,10	51,10	49,22
Voda/Moisture (%)	47,59	52,90	50,78
VBMS/MFFB (%)	68,19	71,49	70,23
Mast/Fat (%)	26	31	27,70
MuSM/FTS (%)	54,39	60,67	56,23
Ukupni azot/Total nitrogen (%)	2,4962	2,8286	2,6398
Proteini/Proteins (%)	15,95	18,03	16,91
NaCl (%)	1,30	4,02	2,60
Kiselost/Acidity (°SH)	37,64	96,55	65,10
pH	4,88	5,60	5,12

Legenda/Legend:

SM - suva materija/TS - total solids

VBMS - voda u bezmasnoj materiji sira/ MFFB - moisture on a fat-free basis

MuSM - mast u suvoj materiji/FTS - fat in total solids

37,64-96,55°SH. Sadržaj soli je varirao u opsegu od 1,30-4,02%, a pH vrednost se kretala od 4,88-5,60.

Senzorne karakteristike

Rezultati senzorne analize uzoraka zlatarskog sira prikazani su u tabeli 3 i grafički na slici 3. Od ukupno 149 uzoraka, 9,40% ocenjeno je odličnom ocenom, 28,19% dobilo je ocenu vrlo dobar, 30,87% imalo je ocenu dobar, 15,44% uzoraka su ocenjeni kao zadovoljavajući, 3,36% je dobilo ocenu nezadovoljavajući, a 19 uzoraka zlatarskog sira je diskvalifikovano usled prisustva mehaničkih nečistoća.

Najbolje ocenjeni pokazatelj kvaliteta kod svih ocenjenih kategorija je boja sireva koja je bila ujednačena bela do belo-žućkasta. Ocene za ostale pokazatelje senzornog kvaliteta (opšti izgled, miris i konzistencija) imale su vrednosti približne ukupnoj senzornoj oceni.

Na osnovu podataka prikazanih u tabeli 3 može se zaključiti da je preko 37% uzoraka sireva imalo dobre senzorne karakteristike, odnosno ocenje-

no je ocenom odličan i vrlo dobar. To znači da su sirevi iz ove grupe uzoraka imali kriške pravilnog oblika i dimenzija, debljine 1,5-2 cm, bez deformacija i oštećenja, sirno testo srednje čvrstine sa porcelanskim izgledom, ukus prijatan, dobro izražen, mlečno - kiseo, umereno slan i miris tipičan, mlečno - kiseo, jasno izražen. Sirevi su na preseku imali zbijenu i monolitnu strukturu sa malim brojem šupljika (slika 4).

Sirevi ocenjeni ocenama dobar imali su kriške pravilnog oblika, sa malim deformacijama, dok su sirevi sa ocenom zadovoljava imali kriške manje-više pravilnog oblika sa manje izraženim deformacijama. Miris ovih sireva je bio manje izražen, a ukus kiseliji i povećane slanosti. Testo ovih sireva je imalo manji sjaj, na preseku sa nešto većim brojem šupljika.

Ukus sira je baziran na komponentama rastvorljivim u VF sira i mlečnoj masti, uključujući nekoliko stotina komponenti ukusa, kao što su masne kiseline kratkog lanca, ili druge kiseline, aminokiseline, mali peptidi i NaCl.

Pojedini mali hidrofobni peptidi, od kojih je većina identifikovana, odgovorni su za gorak ukus, što je verovatno osnovni defekt ukusa većine sireva. Ukus sira je jedan od najvažnijih pokazatelja ukupnog kvaliteta, na šta ukazuje i podatak da koeficijent važnosti za ovaj pokazatelj iznosi 8. Samim tim, ovaj pokazatelj kvaliteta je nosilac ukupne senzorne ocene sira. Ovu činjenicu potvrđuju i podaci prikazani u histogramu 1. Prosečna vrednost ocene za ukus kod sireva ocenjenih ocenom odličan (4,57) približna je vrednosti ukupne senzorne ocene (4,64) ove grupe sireva. Kod sireva ocenjenih ocenom zadovoljava i ne zadovoljava ukupna ocena (3,24, od nosno 2,38) je veća od ocene ukusa (2,51, odnosno 1,57) uzoraka iz ove grupe sireva.

Uzorci su imali netipičan izražen slan i kiseo ukus. Međutim, veliki uticaj na ukupnu senzornu ocenu kod ovih sireva imali su opšti izgled i boja. Prosečne vrednosti ovih parametara senzornog kvaliteta su znatno veće od ukupne ocene (3,91 i 4,37 kod uzoraka ocenjenih sa ocenom zadovoljava, odnosno 3,23 i 3,80 kod uzoraka ocenjenih ocenom ne zadovoljava).

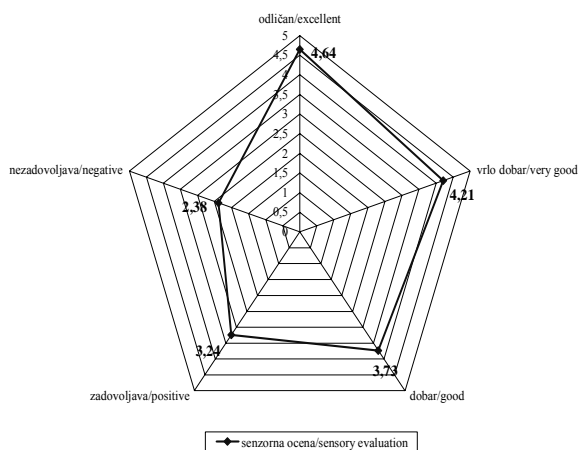
ZAKLJUČAK

S obzirom da zlatarski sir ima svojstven kvalitet i osobine po kojima se razlikuje od ostalih varijeteta belog sira u salamuri, koji se proizvede na području Republike Srbije, on mo že biti obeležen imenom porekla.

Proizvodnja ovog sira se mora obavljati u registrovanim domaćinstvima po autohtonoj tehnologiji, a zrenje i čuvanje sira mora se odvijati isključivo u drvenoj ambalaži (kačicama). Na taj način bi se smanjila variranja u pogledu hemijskog sastava, kao i variranje u senzornom kvalitetu zlatarskog sira.

Tabela 3. SENZORNA OCENA UZORAKA ZLATARSKOG SIRA
Table 3. SENSORY EVALUATION OF ZLATAR WHITE CHEESE

Statistički pokazatelji Statistical parameters	Ispitivani pokazatelji / Investigated parameters						Senzorna ocean Sensory evaluation % max. kvaliteta % max. qual.
	Opšti izgled Appearance	Boja Colour	Presek Cross section	Ukus Flavour	Miris Aroma	Konzistencija Consistency	
Kategorija odličan/Category excellent							
X _{min}	4,33	4,50	4,33	4,33	4,17	4,33	92,83
X _{max}	5,00	5,00	5,00	5,00	4,67	5,00	
X (n=14)	4,68	4,90	4,70	4,57	4,45	4,68	
Sd	0,3797	0,2273	0,2212	0,2607	0,2155	0,3461	
Cv (%)	8,12	4,64	4,54	5,70	4,84	7,40	
% max	93,57	98,10	97,50	91,43	89,05	93,57	
Kategorija vrlo dobar/Category very good							
X _{min}	3,33	4,00	3,50	3,50	3,00	3,50	84,21
X _{max}	5,00	5,00	5,00	4,50	4,67	5,00	
X (n=42)	4,18	4,67	4,33	4,04	4,10	4,29	
Sd	0,4964	0,3286	0,4486	0,2451	0,3245	0,4164	
Cv (%)	11,87	7,04	10,37	6,06	7,91	9,71	
% max	83,65	93,33	86,51	80,87	82,06	85,79	
Kategorija dobar/Category good							
X _{min}	2,83	4,00	2,50	2,83	3,00	3,00	74,65
X _{max}	5,00	5,00	5,00	4,17	4,17	4,5	
X (n=46)	3,89	4,46	3,96	3,41	3,72	3,78	
Sd	0,4697	0,3628	0,5828	0,3864	0,4005	0,3819	
Cv (%)	12,06	8,13	14,72	11,32	10,77	10,10	
% max	77,90	89,20	79,20	68,26	74,35	75,65	
Kategorija zadovoljava/Category positive							
X _{min}	3,33	4,00	3,00	1,33	2,50	2,50	64,74
X _{max}	5,00	5,00	5,00	3,33	4,00	4,50	
X (n=23)	3,91	4,37	3,72	2,51	3,12	3,56	
Sd	0,5575	0,4509	0,6613	0,5909	0,5174	0,5323	
Cv (%)	14,27	10,32	17,79	23,57	16,57	14,96	
% max	78,12	87,39	74,35	50,14	62,46	71,16	
Kategorija ne zadovoljava/Category negative							
X _{min}	2,33	2,33	2,17	1,33	2,00	2,33	47,53
X _{max}	3,67	4,33	3,50	1,83	2,67	3,00	
X (n=5)	3,23	3,80	2,77	1,57	2,30	2,70	
Sd	0,6230	0,8409	0,6779	0,3716	0,5278	0,4928	
Cv (%)	19,27	22,13	24,50	23,72	22,9478	18,25	
% max	64,67	76,00	55,33	31,33	46,00	54,00	



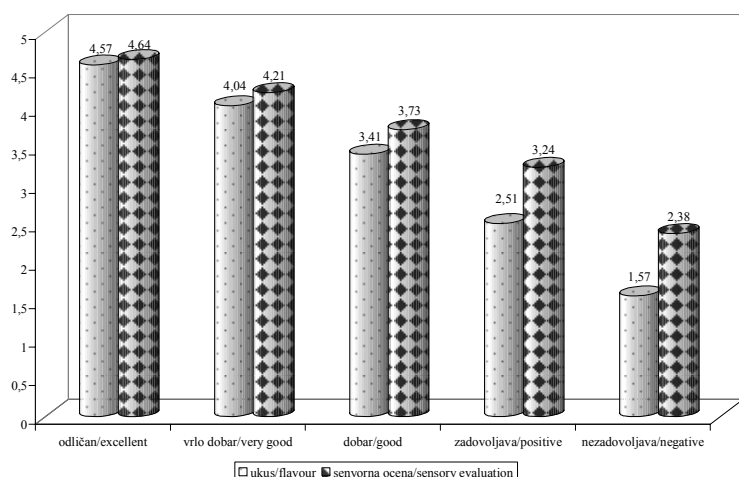
Slika 3. SENZORNA OCENA UZORAKA ZLATARSKOG SIRA

Figure 3. SENSORY EVALUATION OF ZLATAR CHEESE SAMPLES



Slika 4. IZGLED KRIŠKE ZLATARSKOG SIRA (Jovanović, S. 2008)

Figure 4. SLICE OF ZLATAR CHEESE (Jovanović, S. 2008)



Histogram 1. PROSEČNA VREDNOST UKUSA I UKUPNE OCENE UZORAKA ZLATARSKOG SIRÄ

Histograme 1. MEAN VALUE OF TASTE AND SENSORY EVALUATION OF ZLATAR CHEESE SAMPLES

LITERATURA

1. Carić, M., Milanović, S., Vucelja, D.: Standardne analize mleka i mlečnih proizvoda. Tehnološki fakultet, Novi Sad (2000).
2. Codex Alimentarius Commission: Joint FAO/WHO Food standards programme, Volume XII. Milk and milk products. FAO and World health organization, Rome (2000).
3. Dozet, N., Adžić, N., Stanišić, M., Živić, N.: Autohtoni mlječni proizvodi. Poljoprivredni fakultet, Podgorica, Sirmir, Beograd (1996).
4. Dozet, N., Jovanović, S., Mačej, O.: Sirevi u salamuri - mjesto i značaj u sirarstvu.

Poglavle u monografiji „Autohtono beli sirevi u salamuri”, urednici Natalija Dozet i Ognjen Mačej, Beograd, Zemun (2006) 3-32.

5. Güler, Z., Uraz, T.: Relationship between proteolytic and lipolytic activity and sensory properties (taste-odour) of traditional Turkish white cheese. *Int. J. Of Dairy Technology* vol 57 No 4 (2004) 237-242.
6. Jovanović, S., Mačej, O., Vučić, T., Seratlić, S.: Karakteristike autohtone proizvodnje zlatarskog sira. *Zbornik radova Simpozijuma „Mleko i proizvodi od mleka”, Tara, (2005) 84-86.*

7. Mačej, O., Jovanović, S., Niketić, G., Vučić, T., Seratlić, S.: Senzorne karakteristike zlatarskog sira. *Biotehnologija u stočarstvu* 22 (2006a) 317-327.
8. Mačej, O., Dozet, N., Jovanović, S.: Karakteristike autohtone proizvodnje sjeniškog, homoljskog, zlatarskog i svrliškog belog sira. Poglavle u monografiji „Autohtono beli sirevi u salamuri”, urednici Natalija Dozet i Ognjen Mačej, Beograd, Zemun (2006b) 33-63.
9. Mačej, O., Jovanović, S., Seratlić, S., Vučić, T.: Tehnološki postupak proizvodnje autohtonog zlatarskog sira. *Zbornik radova Simpozijuma „Mleko i proizvodi od mleka”, Kladovo (2007) 83-88.*
10. Radovanović, R.: Novi pristupi, zahtevi i metode pri utvrđivanju kvaliteta namirnica životinjskog porekla. *Zbornik radova I međunarodnog simpozijuma „Savremeni trendovi u mlekarstvu”*. Ur. Mačej, O., Kopaonik (1992) 76-86.
11. Radovanović, R., Popov-Raljić, J.: Senzorna analiza prehrambenih proizvoda. Poljoprivredni fakultet, Beograd i Tehnološki fakultet, Novi Sad (2001).
12. Sl. list SRJ: Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za mleko, mlečne proizvode, kompozitne mlečne proizvode i starter kulture, 26, (2002).
13. Stanković, J., Ralević, N., Ljubanović-Ralević, I.: Statistika sa primenom u poljoprivredi. *Savremena administracija, Beograd (1989)*

SUMMARY

ZLATAR CHEESE – AUTOCHTHONOUS TECHNOLOGY AND SENSORY CHARACTERISTICS

¹Tanja R. Vučić, ¹Ognjen D. Mačej, ¹Snežana T. Jovanović, ¹Sanja V. Seratlić, ²Gordana B. Niketić

¹University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Institute for food technology and biochemistry, ²JPS Dairy, New Belgrade

Zlatar cheese is one of the most famous autochthonous dairy products in Serbia. It is produced in the area of mountain Zlatar by autochthonous technology. One of the main characteristics of autochthonous Zlatar cheese is that it is produced from full fat cow milk. According to MFFB content all samples of Zlatar cheese belong to soft cheeses group, and by FTS content they belong to a group of full fat cheeses. Sensory analysis of cheeses involved evaluation of appearance, colour, cross section, flavour, aroma and consistency. By this analysis cheeses were ranked in five categories: excellent, very good, good, positive and negative. Total number of examined samples was 149.

Key words: white cheeses in brine • autochthonous production • sensory analysis

**NADA DUGALIĆ-VRNDIĆ
VUJADIN VUKOVIĆ**

**Naučni Institut za veterinarstvo
Srbije, Beograd**

STRUČNI RAD

UDK: 637.07:637.12

U odgovarajućim laboratorijama, gotovo svakodnevno se koriste postupci pravljenja različitih razblaženja uzorka mleka. Pri tome, ta razblaženja mogu da budu direktna, višestepena ili kombinacija ova dva postupka. Ovde će biti reči o direktnim razblaženjima uzorka mleka.

Ključne reči: mleko • razblaženje • izračunavanje

UVOD

Za najrazličitije laboratorijske potrebe: UBB, razna zasejavanja, kvantifikaciju rezidua antibiotika (2) itd., prave se, između ostalih, i direktna razblaženja iz uzorka mleka (1,3). Pri tome uzme se određena ili neodređena količina od uzorka mleka i razblaži se sa određenom ili neodređenom količinom razblaživača. Na taj način se dobije direktno razblaženje uzorka mleka koje može da ima unapred poznatu ili unapred nepoznatu vrednost.

Takođe, na taj način može da se napravi niz od dva ili više direktnih razblaženja uzorka.

Tako napravljen niz od direktnih razblaženja uzorka mleka može da sadrži unapred poznate, unapred nepoznate ili kombinaciju unapred poznatih i unapred nepoznatih vrednosti direktnih razblaženja.

PRORAČUNI PRI PRAVLJENJU DIREKTNIH RAZBLAŽENJA UZORAKA MLEKA

Kombinovani direktni niz se sastoji od jedne ili više unapred poznate i jedne ili više unapred nepoznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka.

MATERIJAL I METODI

Za postupak pravljenja direktnih razblaženja uzorka mleka, koristi se razblaživač i formule za proračun, a u zavisnosti od zahteva ispitivanja. Na taj način može da se napravi (4,5):

1. Jedno direktno razblaženje uzorka mleka može da bude:
 - unapred poznata vrednost razblaženja
 - unapred nepoznata vrednost razblaženja.
2. Niz od direktnih razblaženja uzorka mleka može da ima:
 - unapred poznate vrednosti razblaženja
 - unapred nepoznate vrste razblaženja
 - unapred poznate i unapred nepoznate vrednosti razblaženja.
3. Kombinacija razblaženja dobijenih direktnim postupkom sastoji se od:
 - jedne ili više unapred poznate i
 - jedne ili više unapred nepoznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka.

Opređenje za odgovarajuću vrstu navedenih direktnih razblaženja uzorka mleka je isključivo prema želji i zahtevima ispitivanja.

Ovde će biti reči samo o jednom direktnom razblaženju uzorka mleka, pošto je i svako direktno razblaženje iz ostalih kategorija takođe jedno di-

rektno razblaženje. Isto tako, za ostale vrste direktnih razblaženja važe isti postupci dobijanja kao i za jedno direktno razblaženje.

REZULTATI I DISKUSIJA

Jedno direktno razblaženje uzorka mleka

Ova vrsta razblaženja odnosi se na slučajeve kada se pravi jedno razblaženje direktno iz uzorka mleka. Pri tome, na propisani način, uzme se određena ili neodređena količina od uzorka mleka, razblaži se sa određenom ili neodređenom količinom razblaživača i dobije se razblaženje koje može da bude sa unapred nepoznatom ili unapred poznatom vrednošću, a u zavisnosti od nepoznatih ili poznatih navedenih parametara, odnosno, u zavisnosti od opredeljenja i potreba.

1. Izračunavanje unapred nepoznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka:

Unapred nepoznata vrednost razblaženja uzorka mleka dobija se kada se uzme određena količina od uzorka mleka i razblaži sa određenom količinom mleka bez antibiotika. Ove dve vrednosti se uzimaju po želji. Na taj način se dobije unapred nepoznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka.

Prikaz postupka dobijanja unapred nepoznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka:

$$U \rightarrow NR$$

gde je:

Adresa autora:
Dr Nada Dugalić-Vrndić, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Auto-pu 3, Novi Beograd
tel.: 011/3191-273
e-mail: nivs@scnet.rs

U - uzorak mleka;

NR - unapred nepoznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka.

Za izračunavanje unapred nepoznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka potrebno je:

- poznata količina koja je uzeta od uzorka mleka
- poznata količina razblaživača.

Pošto se ove vrednosti uzimaju po želji, za dobijanje unapred nepoznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka, koristi se formula br. 1 (prema Vukoviću):

$$R = \frac{a + b}{a}$$

gde je:

R - vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka (koliko puta);

b - količina razblaživača (u ml);

a - količina uzeta od uzorka mleka (u ml).

Primer:

Uzeto je 0,5 ml od uzorka mleka i razblaženo je sa 7 ml razblaživača. Kolika je vrednost tog razblaženja?

Koristi se formula za izračunavanje direktnog razblaženja, pošto je ta vrednost nepoznata:

$$R = \frac{a + b}{a}$$

b = 7 ml

a = 0,5 ml

$$R = \frac{7 + 0,5}{0,5}$$

R = 15 puta

Unapred nepoznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka iznosi 15 puta.

*Na ovaj način se može izračunati bilo koja unapred nepoznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka, bez obzira na količinu koja se uzme od uzorka mleka i količinu mleka bez antibiotika koja se koristi za razblaženje uzorka.

2. Izračunavanje unapred poznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka:

Kod ove vrste razblaženja, pošto ima unapred poznatu vrednost, potrebno je da se odredi količina koja će se uzeti od uzorka mleka ili količina razblaživača. To znači da je za pravljenje ove vrste razblaženja potrebno:

- unapred poznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka;
- poznata količina koja se uzme od uzorka, uz nepoznatu količinu razblaživača, ili

- poznata količina razblaživača, uz nepoznatu količinu koja se uzme od uzorka.

Prikaz postupka dobijanja unapred poznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka:

$$U \rightarrow PR$$

gde je:

U- uzorak mleka;

PR- unapred poznata vrednost razblaženja uzorka mleka.

2.1. Izračunavanje količine razblaživača za pravljenje unapred poznate vrednosti direktnog razblaženja:

Za pravljenje ove vrste razblaženja, na ovakav način, potrebno je da se zna:

- unapred poznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka
- količina koja se uzme od uzorka mleka.

Pošto se ove vrednosti određuju po želji i unapred su poznate, za izračunavanje potrebne količine razblaživača, koristi se formula br. 2 (prema Vukoviću):

$$b = R \times a - a$$

gde je:

b - količina razblaživača (u ml);

R- vrednost razblaženja uzorka mleka (koliko puta);

a - količina uzeta od uzorka mleka (u ml).

Primer:

Od uzorka mleka je uzet 1 ml i određeno je da se napravi razblaženje od 10 puta. Koliko treba da se uzme razblaživača da se napravi takvo razblaženje?

Koristi se formula za izračunavanje količine razblaživača, pošto je ta vrednost nepoznata:

$$b = R \times a - a$$

R = 10 puta

a = 1 ml

b = 10 x 1 - 1

b = 9 ml

Potrebno je da se količina uzeta od uzorka razblaži sa 9 ml mleka razblaživača da se dobije unapred poznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka od 10 puta.

*Na ovaj način može se izračunati bilo koja količina razblaživača potrebna za razblaženje bilo koje količine uzete od uzorka mleka za dobijanje

bilo koje unapred poznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka.

2.2. Izračunavanje količine koja se uzme od uzorka mleka za pravljenje unapred poznate vrednosti direktnog razblaženja

Za pravljenje ove vrste razblaženja, na ovaj način, potrebno je:

- unapred poznata vrednost direktnog razblaženja uzorka mleka
- poznata količina razblaživača.

Pošto se ove vrednosti određuju po želji i unapred su poznate, za izračunavanje potrebne količine koja se uzme od uzorka, koristi se formula br. 3 (prema Vukoviću):

$$a = \frac{b}{R - 1}$$

gde je:

a - količina uzeta od uzorka mleka (u ml);

b - količina razblaživača (u ml);

R - vrednost razblaženja uzorka mleka (koliko puta).

Primer:

Sa količinom od 6 ml razblaživača želi se napraviti razblaženje uzorka od 7,5 puta. Koju količinu treba uzeti od uzorka mleka?

Koristi se formula za izračunavanje količine koja se uzme od uzorka, pošto je ta vrednost nepoznata:

$$a = \frac{b}{R - 1}$$

b = 6 ml

R = 7,5 puta

$$a = \frac{6}{7,5 - 1}$$

a = 0,923 ml uzorka

Za dobijanje razblaženja od 7,5 puta, korišćenjem 6 ml razblaživača potrebno je da se uzme 0,923 ml od uzorka mleka.

*Na ovaj način može se izračunati bilo koja količina koja se uzme od uzorka mleka kada se unapred odredi bilo koja količina mleka bez antibiotika za dobijanje bilo koje unapred poznate vrednosti direktnog razblaženja uzorka mleka.

U monografiji Razblaženja uzorka mleka za kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika, Vuković (2008) navodi mogućnosti pravljenja direktnih i višestepenih postupaka razblaženja uzorka mleka sa ciljem dobijanja

kvantitativnih podataka za rezidue antibiotika u mleku (4,5).

količina rastvarača, lako se mogu izračunati na osnovu iznetih formula i prikazanih primera.

ZAKLJUČAK

Za postupke pravljenja direktnih razblaženja uzorka mleka daje se najpraktičniji način izvođenja proračuna. Pri tome, vrednost direktnog razblaženja, količina koja se uzme od uzorka i

LITERATURA

1. Miljković Višeslava (1977): Higijena i tehnologija mleka. str. 123-127;
2. Superlab (2003): Antibiotici u mleku, str.18-25;
3. Šipka M. i Miljković Višeslava (1975): Metode pregleda mleka i mlečnih proizvoda. Fakultet veterinarske medicine, Beograd

4. Vuković V (2008): Kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika u mleku. Monografija, Autorsko izdanje, str. 175; Beograd, Antika. CIP 637.12.074:543.062. 637.12.07.068:615.33 ISBN 978-86-911481-1-9;
5. Vuković V (2008): Razblaženja uzorka mleka za kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika. Monografija, Autorsko izdanje, str. 125; Beograd, Antika. CIP 637.12.07.068:615.33; 637.12.074:543. 062. ISBN 978-86-911481-0-2

SUMMARY

CALCULATIONS FOR MAKING DIRECT DILUTIONS OF MILK SAMPLES

Nada Dugalic-Vrndić, Vujadin Vuković

Institute of Veterinary Medicine of Serbia, Belgrade

The procedures for making different dilutions of milk samples are being used almost every day in appropriate laboratories. Those dilutions can be direct, multilevel or combined. Direct dilutions of milk samples have been described in this study.

Key words: milk • dilution • calculation

NIKOLA J. PAVLOVIĆ
VUJADIN J. VUKOVIĆ

Naučni institut za veterinarstvo
Srbije, Beograd

STRUČNI RAD

UDK: 637.07:637.12:577.18

U ovom radu prikazana je mogućnost izračunavanja koncentracije rezidua penicilina u mešanom mleku, pri mešanju dve kontaminirane količina mleka. Pri tome, prikazan je uticaj polaznih količina mleka i koncentracija antibiotika na koncentraciju penicilina u mešanom mleku (4).

Ključne reči: Rezidue • antibiotici • mleko • penicilin • koncentracija • mešanje

UVOD

U mlekarskoj praksi, pri postupcima sa mlekom, postoji niz mogućnosti pri kojima dolazi do mešanja raznih količina mleka (3). Pri tome, može da se meša jedna ili više količina mleka bez antibiotika sa jednom ili više količina istog takvog mleka, ali i sa jednom ili više količina mleka kontaminiranog reziduama antibiotika. Isto tako, dolazi i do mešanja jedne ili više količina mleka kontaminiranih reziduama antibiotika sa jednom ili više istih takvih količina mleka. Upravo ova kombinacija je i tema ovog rada.

Znači, mešaju se kontaminirane količine mleka, pri čemu se uglavnom razlikuju količine mleka, eventualne kombinacije prisutnih različitih rezidua antibiotika ili se radi o reziduama iste vrste antibiotika, koje se nalaze u odgovarajućim koncentracijama u ml mleka.

KONCENTRACIJA REZIDUA ANTIBIOTIKA POSLE MEŠANJA KONTAMINIRANIH KOLIČINA MLEKA

Isto tako, mogu da budu različite i metode detekcije rezidua antibiotika (1,2,5). Ali, bez obzira na kvantitativni metod detekcije (7), koncentracija rezidua antibiotika se može iskazati kao: minimalna, maksimalna, okvirna, varijabilna, srednja ili „tačna“ koncentracija (8). To znači da se u navedenim koncentracijama mogu izraziti i naša saznanja o kontaminiranim količinama mleka koje se međusobno mešaju.

MATERIJAL I METODI

U laboratorijskim uslovima obrano sterilno mleko koje je provereno da ne sadrži inhibitorne materije, kontaminirano je penicilinom iz bočice koja sadrži 600.000 i.j. prokain benzilpenicilina i 200.000 i.j. natrijum benzilpenicilina (u daljem tekstu. penicilin). Pri tome, pravljene su različite i jednake kontaminirane količine mleka i koncentracije penicilina, koje su zatim mešane u cilju izračunavanja koncentracija penicilina u mešanom mleku.

U cilju pojednostavlivanja problematike, obuhvaćeni su postupci mešanja:

- samo dve kontaminirane količine mleka,
- rezidue samo jednog antibiotika (penicilina),
- samo „tačna“ koncentracija rezidua antibiotika.

Koncentracija antibiotika u mešanom mleku izračunava se na osnovu formule (prema Vukoviću) (6):

$$K_m = \frac{M_1 \times K_1 + M_2 \times K_2 + \dots}{M_1 + M_2 \dots}$$

gde je:

K_m - koncentracija rezidua penicilina u ml mešanog mleka (u i.j./ml mleka);

M_1 - količina mleka sa reziduama antibiotika - mleko br.1. (u ml);
 M_2 - količina mleka sa reziduama antibiotika - mleko br.2. (u ml);
 K_1 - koncentracija penicilina u mleku br. 1 (i.j./ml);
 K_2 - koncentracija penicilina u mleku br. 2 (i.j./ml).

Pri tome, mogućnosti pri mešanju dve količine mleka sa reziduama jednog antibiotika su sledeće:

1. Količina jednog kontaminiranog mleka je veća i u njemu je koncentracija antibiotika veća:

$$(M_1 > M_2, K_1 > K_2 \text{ ili } M_2 > M_1, K_2 > K_1)$$

2. Količina jednog kontaminiranog mleka je veća, a u njemu je koncentracija antibiotika manja:

$$(M_1 > M_2, K_1 < K_2 \text{ ili } M_2 > M_1, K_2 < K_1)$$

3. Količine prvog i drugog kontaminiranog mleka su jednake, a koncentracija antibiotika u jednom mleku je veća:

$$(M_1 = M_2, K_1 > K_2 \text{ ili } M_1 = M_2, K_2 > K_1)$$

4. Količine jednog i drugog kontaminiranog mleka su jednake, kao i koncentracije antibiotika u njima:

$$(M_1 = M_2, K_1 = K_2)$$

5. Količina jednog kontaminiranog mleka je veća, a koncentracije antibiotika su jednake:

$$(M_1 > M_2, K_1 = K_2 \text{ ili } M_2 > M_1, K_1 = K_2)$$

Adresa autora:

Dr Nikola Pavlović, Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Auto put 3, Novi Beograd, tel.: 011/3191-273, e-mail: nivs@scnet.rs

REZULTATI I DISKUSIJA

1. Količina jednog kontaminiranog mleka je veća i u njemu je koncentracija antibiotika veća:

$$(M_1 > M_2, K_1 > K_2 \text{ ili } M_2 > M_1, K_2 > K_1)$$

Primer 1: Ukupno 20 ml mleka br. 1 sadrži 0,2 i.j. penicilina/ml, a količina mleka br. 2 iznosi 10 ml i sadrži 0,1 i.j./ml. Kolika je koncentracija penicilina u mešanom mleku?

$$M_1 > M_2, K_1 > K_2$$

$$K_m = \frac{M_1 \times K_1 + M_2 \times K_2 + \dots}{M_1 + M_2 \dots}$$

$K_1 = 0,2$ i.j./ml mleka
 $K_2 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $M_1 = 20$ ml mleka
 $M_2 = 10$ ml mleka

$$K_m = \frac{20 \times 0,2 + 10 \times 0,1}{20 + 10}$$

$K_m = 0,16$ i.j./ml mešanog mleka

Koncentracija penicilina je 0,16 i.j./ml mešanog mleka.

2. Količina jednog kontaminiranog mleka je veća, a u njemu je manja koncentracija antibiotika:

$$(M_1 > M_2, K_1 < K_2 \text{ ili } M_2 > M_1, K_2 < K_1)$$

Primer 2: Ukupno 20 ml mleka br. 1 sadrži 0,1 i.j. penicilina/ml, a količina mleka br. 2 iznosi 10 ml i sadrži 0,2 i.j./ml. Kolika je koncentracija penicilina u mešanom mleku?

$$M_1 > M_2, K_1 < K_2$$

$$K_m = \frac{M_1 \times K_1 + M_2 \times K_2 + \dots}{M_1 + M_2 \dots}$$

$K_1 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $K_2 = 0,2$ i.j./ml mleka
 $M_1 = 20$ ml mleka
 $M_2 = 10$ ml mleka

$$K_m = \frac{20 \times 0,1 + 10 \times 0,2}{20 + 10}$$

$K_m = 0,13$ i.j./ml mešanog mleka

Koncentracija penicilina je 0,13 i.j./ml mešanog mleka.

3. Količine prvog i drugog kontaminiranog mleka su jednake, a koncentracija antibiotika u jednom mleku je veća:

$$(M_1 = M_2, K_1 > K_2 \text{ ili } M_1 = M_2, K_2 > K_1)$$

Primer 3: Ukupno 10 ml mleka br. 1 sadrži 0,2 i.j. penicilina/ml, a količina mleka br. 2 iznosi 10 ml i sadrži 0,1 i.j./ml. Kolika je koncentracija penicilina u mešanom mleku?

$$M_1 = M_2, K_1 > K_2$$

$$K_m = \frac{M_1 \times K_1 + M_2 \times K_2 + \dots}{M_1 + M_2 \dots}$$

$K_1 = 0,2$ i.j./ml mleka
 $K_2 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $M_1 = 10$ ml mleka
 $M_2 = 10$ ml mleka

$$K_m = \frac{10 \times 0,2 + 10 \times 0,1}{10 + 10}$$

$K_m = 0,15$ i.j./ml mešanog mleka
 Koncentracija penicilina je 0,15 i.j./ml mešanog mleka.

4. Količine jednog i drugog kontaminiranog mleka su jednake, kao i koncentracije antibiotika u njima:

$$(M_1 = M_2, K_1 = K_2)$$

Primer 4: Ukupno 10 ml mleka br. 1 sadrži 0,1 i.j. penicilina/ml, a količina mleka br. 2 iznosi takođe 10 ml i sadrži 0,1 i.j./ml. Kolika je koncentracija penicilina u mešanom mleku?

$$M_1 = M_2, K_1 = K_2$$

$$K_m = \frac{M_1 \times K_1 + M_2 \times K_2 + \dots}{M_1 + M_2 \dots}$$

$K_1 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $K_2 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $M_1 = 10$ ml mleka
 $M_2 = 10$ ml mleka

$$K_m = \frac{10 \times 0,1 + 10 \times 0,1}{10 + 10}$$

$K_m = 0,1$ i.j./ml mešanog mleka

Koncentracija penicilina je 0,1 i.j./ml mešanog mleka.

5. Količina jednog kontaminiranog mleka je veća, a koncentracije antibiotika su jednake:

$$(M_1 > M_2, K_1 = K_2 \text{ ili } M_2 > M_1, K_1 = K_2);$$

Primer 5: Ukupno 20 ml mleka br. 1 sadrži 0,1 i.j. penicilina/ml, a količina mleka br. 2 iznosi 10 ml i sadrži 0,1 i.j./ml. Kolika je koncentracija penicilina u mešanom mleku?

$$M_1 > M_2, K_1 = K_2$$

$$K_m = \frac{M_1 \times K_1 + M_2 \times K_2 + \dots}{M_1 + M_2 \dots}$$

$K_1 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $K_2 = 0,1$ i.j./ml mleka
 $M_1 = 20$ ml mleka
 $M_2 = 10$ ml mleka

$$K_m = \frac{20 \times 0,1 + 10 \times 0,1}{20 + 10}$$

$K_m = 0,1$ i.j./ml mešanog mleka
 Koncentracija penicilina je 0,1 i.j./ml mešanog mleka.

Slične podatke daje i Vuković (2008) o podjednakom uticaju jedne i druge količine kontaminiranog mleka, kao i koncentracije penicilina u svakom mleku, pri njihovom međusobnom mešanju.

ZAKLJUČAK

Na osnovu izvršenih ispitivanja i proračuna, može se zaključiti da je moguće izračunati koncentraciju antibiotika u mešanom mleku, pri mešanju dve ili više kontaminiranih količina. Pri tome, koncentracija penicilina je iznad proseka početnih koncentracija kada je količina jednog mleka veća i kada je u njoj koncentracija antibiotika veća. Suprotno tome, koncentracija antibiotika je ispod proseka početnih koncentracija kada je količina jednog mleka veća, a koncentracija antibiotika u njemu je manja. Koncentracija antibiotika je na nivou proseka početnih koncentracija kada je količina jednog i drugog mleka jednaka, a koncentracija antibiotika u jednom mleku je veća kada je količina jednog i drugog mleka jednaka i kada su koncentracije u jednom i drugom mleku jednake ili kada su količine jednog i drugog mleka različite, a koncentracije antibiotika su jednake.

LITERATURA

1. Carter G. G. (1977): Methods for the determination of residual penicillin in milk and milk products. Assoc. of Food and Drug officials, quarterly Bulletin, 41 (3), 189-195.
2. Leali L. et al (1963): Study of antibiotics and inhibitory substances in milk. I antibiotics. Late, 37 (10), 762- 768.
3. Miljković Višeslava (1977): Higijena i tehnologija mleka, str. 123-127.
4. Superlab (2003): Antibiotici u mleku, str.18-25.
5. Vuković V. (1999): Determination of penicillin residues in milk by using the modified Resa-surine method. 2. Slovenian Congres, with International Participation" Milk and dairy products", Portorož, Slovenija, Book of abstracts, str. 65.
6. Vuković V (2008): Kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika u mleku. Monografija, Autorsko izdanje, str. 175; Beograd, Antika. CIP 637.12.074:543.062. 637.12.07.068: 615.33 ISBN 978-86-911481-1-9.
7. Vuković V. (1995): Kvantitativni nalazi rezidua penicilina u mleku posle intrauterine aplikacije u dozi od 400.000 i.j.. 8. Savetovanje veterinaru Srbije, Zlatibor. Zbornik kratkih sadržaja radova, rad br. 111, str. 158.
8. Vuković V (2008): Razblaženja uzorka mleka za kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika. Monografija, Autorsko izdanje, str. 125; Beograd, Antika. CIP 637.12.07.068:615.33; 637.12.074:543.062. ISBN 978-86-911481-0-

SUMMARY**ANTIBIOTICS RESIDUES CONCENTRATION AFTER MIXING CONTAMINATED VOLUMES OF MILK**

Nikola J. Pavlovic, Vujadin J. Vukovic

Institute of Veterinary Medicine of Serbia, Belgrade

A possibility of calculation of the penicillin residues concentration in mixed milk after mixing two contaminated volumes of milk is described in this study. The influence of starting volumes of milk and antibiotic concentrations on the penicillin concentration in mixed milk (4) has also been presented.

Key words: residues • antibiotics • milk • penicillin • concentration • mixing

¹VUJADIN J. VUKOVIĆ²ANKA J. KASALICA¹Naučni Institut za veterinarstvo
Srbije, Beograd²Zavod za mlekarstvo, Beograd

STRUČNI RAD

UDK: 637.07:637.12:577.18

IZRAČUNAVANJE MINIMALNE KOLIČINE REZIDUA ANTIBIOTIKA U MLEKU

Rezidue antibiotika u mleku uglavnom se dokazuju kvalitativnim biološkim metodama detekcije. Međutim, među mogućnosti kvantitativnog dokazivanja rezidua antibiotika u mleku dolazi i razblaživanje mleka bilo kojom kvalitativnom biološkom metodom detekcije. Uzorci mleka se razblažuju do vrednosti između poslednjem sumnjivog ili pozitivnog i prvog negativnog nalaza.

Ključne reči: mleko • antibiotici • rezidue
• minimalna koncentracija

UVOD

Rezidue antibiotika dospevaju u mleko na različite načine (posle terapije, naknadnom kontaminacijom, namernim dodavanjem itd.) (1, 2, 5). U tako kontaminiranom mleku, rezidue se dokazuju kvalitativnim biološkim metodama (3, 4), ali i kvantitativno korišćenjem specifičnog kvantitativnog postupka.

Ovo se odnosi na bilo koju kvalitativnu metodu i rezidue bilo kog antibiotika u mleku (6,7).

Pri tome, potrebno je da se zna koja metoda se koristi, o kojoj vrsti rezidua se radi i koji je nivo osetljivosti korišćene metode za rezidue odgovarajućeg antibiotika.

MATERIJAL I METODI

U laboratorijskim uslovima korišćeno je obrano sterilno mleko koje ne sadrži rezidue antibiotika (kao negativna kontrola, kao mleko za kontaminaciju i kao mleko za pravljenje razblaženja), zatim, dva često korišćena antibiotika: penicilin i oksitetraciklin, a od metoda detekcije: metoda Rezazurin testa.

1. Metode detekcije

Za izvođenje metode Rezazurin testa, iz sterilisane bočice, uz plamenik, sterilnom pipetom se otpipetira 10 ml prethodno promešanog mleka u sterilnu epruvetu sa gumenim zaptivačem, zatim se takvo mleko pasterizuje 5 minuta na temperaturi od 80°C, a zatim rashlađuje do sobne temperature. U tako rashlađeno mleko se dodaje vodeni rastvor rezazurina u koncentraciji mase od 0,5 g/L sterilisane destilovane vode. Dalje, dodaje se i 1 ml *Streptococcus thermophilus*-a, kao test mikroorganizma (18 časova stara kultura) razređenog sa obranim sterilnim mlekom u odnosu 1:1. Kod obranog sterilnog mleka za razblaživanje test mikroorganizma prethodno se isključi eventualno prisustvo rezidua antibiotika. Ovako pripremljen uzorak mleka u epruveti promeša se na vibratoru ili ručno, označi, stavi u metalni stalak i inkubira tokom dva časa na temperaturi od 45°C. Nakon 1 i 1,5 časova od početka inkubacije sadržaj epruvete se meša tri puta okretanjem epruvete. Posle dvočasovne inkubacije rezultati se čitaju na način predviđen za ovu metodu: bela boja - negativan nalaz (-), azurno-plava ili ružičasta boja - pozitivan nalaz (+), a pre-

lazna boja između azurno -plave ili ružičaste i bele boje je sumnjiv nalaz (+/-). Nivo osetljivosti ove metode je 9 i.j./L (sumnjiv nalaz), odnosno 10 i.j./L (pozitivan nalaz) za penicilin i 0,1 mg/L (sumnjiv nalaz), odnosno 0,2 mg/L (pozitivan nalaz) za oksitetraciklin (3,5).

2. Kontaminirano mleko

Obrano sterilno mleko je kontaminirano neodređenim količinama penicilina i oksitetraciklina.

3. Postupak izračunavanja minimalne koncentracije rezidua antibiotika u mleku

Nakon dobijanja odgovarajućih nalaza pri korišćenju metode Rezazurin testa, pravljenе su različite vrednosti razblaženja uzorka mleka sve do dobijanja zadnje vrednosti razblaženja sa sumnjivim ili pozitivnim nalazom. Tada može da se izračuna minimalna koncentracija rezidua antibiotika u mleku korišćenjem formule (prema Vukoviću) (6,7):

$$K_{\min} \geq R_a \times n$$

gde je:

K_{\min} - minimalna koncentracija rezidua antibiotika u mleku (u i.j. ili $\mu\text{g/ml}$ mleka);

R_a - poslednja vrednost razblaženja koje daje sumnjiv ili pozitivan nalaz (koliko puta);

n - nivo osetljivosti metode detekcije za sumnjiv ili pozitivan nalaz (u i.j. ili $\mu\text{g/ml}$ mleka).

Adresa autora:

Dr Vujadin Vukovic, Naučni Institut za veterinarstvo Srbije, Auto put 3, Novi Beograd
tel.: 011/3191-273, e-mail: nivs@scnet.rs

REZULTATI I DISKUSIJA

1. Izračunavanje minimalne koncentracije penicilina u mleku

Uzorak mleka je kontaminiran penicilinom, što je potvrđeno korišćenjem metode Rezazurin testa. Zatim je nakon pravljenja niza razblaženja: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 i 100 puta - prvi niz, dobijeno da razblaženje od 60 puta daje pozitivan nalaz, a razblaženje od 70 puta daje negativan nalaz. Onda je napravljen drugi niz: 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68 i 69 puta. Utvrđeno je da razblaženje od 64 puta je poslednje koje daje sumnjiv nalaz, a razblaženje od 65 puta je dalo negativan nalaz. Nivo osetljivosti ove metode za penicilin je 0,009 i.j./ml mleka (sumnjiv nalaz), a 0,01 i.j./ml (pozitivan nalaz).

Koliko iznosi minimalna koncentracija penicilina u ml uzorka mleka?

Izračunavanje minimalne koncentracije na osnovu drugog niza

$$K_{\min} \geq R_a \times n$$

$$R_a = 64 \text{ puta}$$

$$n = 0,009 \text{ i.j./ml mleka (sumnjiv nalaz)}$$

$$K_{\min} \geq 64 \times 0,009$$

$$K_{\min} \geq 0,576 \text{ i.j./ml mleka}$$

Minimalna koncentracija penicilina je jednaka ili veća od 0,576 i.j./ml mleka.

Izračunavanje minimalne koncentracije samo na osnovu prvog niza

$$K_{\min} \geq R_a \times n$$

$$R_a = 60 \text{ puta}$$

$$n = 0,01 \text{ i.j./ml mleka (pozitivan nalaz)}$$

$$K_{\min} \geq 60 \times 0,01$$

$$K_{\min} \geq 0,6 \text{ i.j./ml mleka}$$

U tom slučaju minimalna koncentracija penicilina je jednaka ili veća od 0,6 i.j./ml mleka.

2. Izračunavanje minimalne koncentracije oksitetraciklina u mleku

Uzorak mleka je kontaminiran oksitetraciklinom, što je potvrđeno korišćenjem metode Rezazurin testa. Zatim je nakon pravljenja niza razblaženja: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 i 100 puta - prvi niz, dobijeno da razblaženje od 20 puta daje pozitivan nalaz, a razblaženje od 30 puta daje negativan nalaz. Onda je napravljen drugi niz: 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 i 29 puta. Utvrđeno je da je razblaženje od 22 puta poslednje koje daje pozitivan nalaz, a razblaženje od 23 puta je dalo negativan nalaz. Nivo osetljivosti ove metode za oksitetraciklin je 0,1 µg/ml mleka (sumnjiv nalaz), a 0,2 µg/ml mleka (pozitivan nalaz).

Koliko iznosi minimalna koncentracija oksitetraciklina u ml uzorka mleka?

2.1. Izračunavanje minimalne koncentracije na osnovu drugog niza:

$$K_{\min} \geq R_a \times n$$

$$R_a = 22 \text{ puta}$$

$$n = 0,2 \text{ µg/ml mleka (pozitivan nalaz)}$$

$$K_{\min} \geq 22 \times 0,2$$

$$K_{\min} \geq 4,4 \text{ µg/ml mleka}$$

Minimalna koncentracija oksitetraciklina je jednaka ili veća od 4,4 µg/ml mleka.

2.2. Izračunavanje minimalne koncentracije samo na osnovu prvog niza

$$K_{\min} \geq R_a \times n$$

$$R_a = 20 \text{ puta}$$

$$n = 0,2 \text{ µg/ml mleka (pozitivan nalaz)}$$

$$K_{\min} \geq 20 \times 0,2$$

$$K_{\min} \geq 4,0 \text{ µg/ml mleka}$$

U tom slučaju, minimalna koncentracija oksitetraciklina je jednaka ili veća od 4,0 µg/ml mleka.

U dostupnoj literaturi nisu pronađeni podaci sa kojima bi se dobijeni nalazi mogli prodiskutovati.

ZAKLJUČAK

Delimičnom modifikacijom postojećih bioloških metoda detekcije, uz postupke pravljenja razblaženja, moguće je kvantifikovati koncentraciju rezidua antibiotika u mleku. Za to je neophodno:

- nalaz približnog ili pravog razblaženja uzorka mleka,
- nivo osetljivosti korišćene metode za odgovarajući antibiotik,
- korišćenje formule za proračun.

LITERATURA

1. Adams R.H. (1995): Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 7. edition Iowa State Univ. Press/Ames, Iowa.
2. Jezdimirovic M. (2000): Veterinary Pharmacology. Faculty of Vet.Med., Belgrade 514.
3. Leail L. (1963): Study of antibiotics and inhibitory substances in milk. I Antibiotics. Late, 37 (10), 762-768.
4. Mc Clary D.G. (1984): B. stearothermophilus disc assay detection of penicilin in milk of dairy cows after postestruual i.u. infusion. Am.J. of Vet.Resear. 453, 416-419.
5. Vukovic V. (1991): Residue resorption and secretion of penicillin, streptomycin and oxytetracycline in milk after intrauterine administration. Doctoral thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, 144.
6. Vuković V (2008): Kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika u mleku. Monografija, Autorsko izdanje, str. 175; Beograd, Antika. CIP 637.12.074:543.062. 637.12.07.068:615.33 ISBN 978-86-911481-1-9.
7. Vuković V (2008): Razblaženja uzorka mleka za kvantitativno dokazivanje rezidua antibiotika. Monografija, Autorsko izdanje, str. 125; Beograd, Antika. CIP 637.12.07.068:615.33; 637.12.074:543.062. ISBN 978-86-911481-0-2.

SUMMARY

DETERMINATION OF MINIMAL CONCENTRATION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN MILK

¹Vujadin J. Vuković, ²Anka J. Kasalica

¹Institute of Veterinary Medicine of Serbia, Belgrade, ²Institute of Dairy Science, Belgrade

Residues of antibiotics in milk are commonly determined by qualitative biological detection methods. However, among all possibilities of quantitative determination of antibiotic residues in milk, the method of preparing milk dilutions can be used, along with any qualitative biological detection method (5,6,7).

Purpose of sample dilutions is to obtain values between last ambiguous or positive and first negative result.

Key words: milk • antibiotics • residues • minimal concentration

¹DŽULIJANA TOMOVSKA
¹NIKOLA HRISTOVSKI
¹STEFČE PRESILSKI
²NATALIJA TOMOVSKA

¹Univerzitet "Sv. Kliment Ohridski",
 Fakultet za biotehnički nauki,
 Bitola, R. Makedonija
²Univerzitet "Sv. Kiril i Metodi",
 Prirodno matematički fakultet,
 Institut za Hemija, Skopje, R.
 Makedonija

NAUČNI RAD

UDK: 636.085.1:637.12:637.04

ISHRANA KAO FAKTOR KOJI UTIČE NA HEMIJSKI SASTAV MLEKA

UVOD

Hrana za životinje predstavlja materijal koji se sastoji od velikog broja hemijskih jedinjenja, organske i neorganske prirode, od kojih životinje koriste hranljive materije potrebne za održavanje života, reprodukciju, rast i razvoj. Kod visokoproduktivnih krava u laktaciji potrebno je da se obezbedi najmanje 19–21% ADF u obroku. NDF predstavlja materijal iz koga su izgrađeni ćelijski zidovi biljnog materijala, stoga u obroku treba da bude 28–30% NDF.

U radu je poseban akcenat dat ispitivanjima sadržaja masti, proteina, laktoza i suve materije u mleku dobijenom u zimsko-prolećnom periodu (januar, februar, mart i 12 dana u aprilu) sa jedne farme. Režim ishrane krava u toku 300 dana bio je sledeći: ishrana krave u toku laktacije, ishrana krave u toku zasušivanja i ishrana teladi. Analiziran je uzorak mleka u toku zimsko-prolećnog perioda da bi se ispitalo uticaj ishrane na hemijski sastav mleka. Hemijska ispitivanja su izvršena primenom spektrofotometrijske metode, sa laktoskopom. Svi ispitivani parametri kvaliteta mleka imaju maksimalnu vrednost u aprilu, izuzetak je sadržaj masti čiji je maksimum u februaru, a minimum u aprilu. Varijacije sastava dokazuju da je ishrana glavni faktor koji utiče na hemijski sastav mleka. Isхранa je najbolje izbalansirana u aprilu tokom 12 dana, i tada je kvalitet mleka bio najbolji.

To pokazuje količina proteina čiji je sadržaj u tom periodu najveći.

Ključne reči: ishrana krava • zimsko-prolećni period • mleko • parametri kvaliteta

Najveća važnost u stočarskoj proizvodnji poklanja se ishrani. Sastojci hrane za životinje podeljeni su u nekoliko grupa. Energetske sastojke čine: ugljeni hidrati (šećer, škrob, celuloza, hemi-celuloza); masti, proteini, organske kiseline, alkohol. Strukturalni sastojci su: gradivni sastojci (organski – proteini, esencijalne aminokiseline, esencijalne masne kiseline i neorganski – voda, kalcijum, fosfor, magnezijum, kalijum, natrijum, hlor, sumpor). Voda, ugljeni hidrati, masti, proteini, vitamini i mineralne materije su osnovni hranljivi sastojci koji u ishrani igraju važnu ulogu, a pored toga imaju osobiti značaj prilikom ocenjivanja hrane za životinje. Ispitivana je uloga nekih od ovih sastojaka u hrani za životinje, a isto tako i proizvodi koji se dobijaju, odnosno oni sa visokom biološkom vrednošću kao što je mleko.

Masti predstavljaju organska jedinjenja koja se ne rastvaraju u vodi. U ukupnoj masi masti najzastupljenije su prave ili neutralne masti. U organizmu one imaju osobitu ulogu: predstavljaju izvor energije, strukturalni materijal (ulaze u sastav ćelije i tkiva), obezbeđuju organizmu esencijalne masne kiseline, izvor su provitamina, nosioci su vitamina rastvorljivih u mastima. Često se prilikom sastavljanja obroka za životinje ne vodi računa o količinama masti koje su potrebne za zadovoljenje životinih funkcija. Međutim, masne kiseline: linolna, linolenska i arahidonska su nezamenjive, odnosno esencijalne, tako da organizam nije u stanju da ih sintetizira. Sastav masti u hrani za životinje izbalansiran je na sadržaj esencijalnih masnih kiselina.

Proteini su organska jedinjenja koja pored vodonika, kiseonika i azota sadrže sumpor, fosfor, gvožđe i jod. Životinje mogu izgraditi proteine samo iz belančevina koje primaju iz hrane za životinje. Ovaj podatak je od osobite važnosti za ishranu domaćih životinja. Jedan deo esencijalnih aminokiselina životinje unose hranom, a deo se sintetizira u organizmu. Proteini iz hrane za životinje nemaju isti efekat iskorišćenja kod životinja pri određenoj produkciji. Zbog ovog podatka formiran je pojam biološke vrednosti proteina - broj koji pokazuje koliko telesnih proteina se sintetizira u 100 g proteina iz hrane za životinje. Biološka vrednost proteina hrane za životinje je veća ako se u životinji sintetiše veća količina proteina iz 100 g hrane. Oko 50% unetih proteina u hrani organizam pretvara u proteine mikroflora. Poznato je da preživi pomoću mikroflora mogu da koriste neproteinski azot i od njega sintetiziraju aminokiseline koje iskorištavaju u ishrani. Tako na primer urea se primenjuje u ishrani goveda i ovaca, i to u količini od 1/4 do 1/3 potrebnog azota kod krava 150 g dnevno, za petomesečna grla 20–50 g, a za mlada goveda 20 g uree na 100 kg telesne mase.

Ugljeni hidrati imaju važnu ulogu u ishrani životinja ne samo zato što su najzastupljeniji, već su i glavni izvor energije. Ova jedinjenja najzastupljenija su u hrani za životinje koja je biljnog porekla. U životinjskom organizmu prisutno je oko 1% navedenih jedinjenja. Ugljeni hidrati kod biljke imaju istu ulogu kao proteini kod životinja, a to je uloga u strukturalnom i potpornom materijalu. Sa aspekta ishrane najvažniji je škrob koji kod žitarica može biti zastupljen i do 70%.

Adresa autora:
 Dr Džulijana Tomovska, Univerzitet Sv. Kliment Ohridski, Bitola, Fakultet za biotehnički nauki, Bitola, R. Makedonija, Tel: ++ 389 75 207 886
 E-mail: dzulitomovska@yahoo.com

Skrob i prosti ugljeni hidrati su lako svarljive materije za monogastrične životinje, a celuloza je slabo svarljiva. Krajni produkt digestije ugljenih hidrata je glukoza, a ređe galaktoza i fruktoza. Neki ugljeni hidrati predstavljaju sastavni deo nekih tkiva, a kod mlečnih životinja služe za sintezu mlečne masti.

U praksi je raširen postupak da se obrok krava podeli na dva dela: osnovni i dopunski. Sastavljanje osnovnog obroka vrši se na bazi potreba u hranljivim materijama za grupu prosečne telesne mase i najniže mlečnosti u nekom zapatu. Ovaj deo obroka sastoji se pretežno od kabaste hrane. Grla čija je proizvodnja veća, podmiruju svoje potrebe delom iz osnovnog obroka a delom iz dopunskog. Osnovni obrok dobijaju sva grla u zapatu, dok se dopunski normira prema proizvodnji. Dopunski obrok se sastavlja kao smeša koncentrata čiji 1kg zadovoljava potrebe za proizvodnju od 2-5 kg mleka (4% MKM – metabolički koeficijent iskorišćenja mleka). Krave su grupisane prema količini proizvodnje mleka. Svaka grupa dobija količinu dopunskog obroka prema tome koliko mleka daje. Poslednjih godina u svetu se dosta populariše korišćenje kompletnog obroka u kome se putem odgovarajućih miksera između kabasta i koncentrovana hrana. Primena kompletnih obroka može da ima određenih prednosti zbog jednostavnosti organizacije ishrane, malog utroška ljudskog rada i olakšane manipulacije sa životinjama, ali takva ishrana može da bude nešto skuplja od standardne. Tehnologija ishrane može u znatnoj meri da utiče na proizvodnju mleka krava u laktaciji, posebno kada je reč o grlima sa visokim genetskim kapacitetom. Pod tehnologijom se podrazumeva kompletan pristup ishrani koji se na nekoj farmi sprovodi, a ne samo ispunjavanje određenih preporuka i normativa.

Prema istraživanjima Grubića i Adamovića (2008) posebno mesto u izbalansiranom obroku zauzima odnos strukturalnih i nestrukturalnih hidrata. U strukturne spadaju ADF (acid detergent fiber) i NDF (neutral detergent fiber), dok nestrukturalne pretežno čini žitni skrob. Vrednost ADF danas je prihvaćena kao zamena za sirovu celulozu. U obroku visokoproizvodnih krava u laktaciji treba obezbediti najmanje 19-21% ADF u obroku. NDF predstavlja materijal od koga su izgrađeni ćelijski zidovi biljnog materijala. Zato u obroku treba da bude 28-30%

NDF. Kabasta hrana treba da obezbeđuje bar 21% NDF u suvoj materiji obroka, a 24% ako kukuruzna silaža čini više od ¼ SM obroka. Količina NDF iz kabaste hrane treba da bude 0,9% TM (telesna masa) krave, odnosno 70% od ukupnog NDF u obroku. U obroku krava treba da bude nestrukturalnih ugljenih hidrata 35-42% (što znači 30-40% skrob). Davanje većih količina šećera i lako fermentišućih ugljenih hidrata može dovesti do acidoza i pada udela mlečne masti. Najbolji pokazatelj pravilnog odnosa strukturalnih i nestrukturalnih ugljenih hidrata je pH koji ne treba da bude ispod 6,0. Ne manje značajan za uspešnu fermentaciju u buragu je odnos razgradivih i nerazgradivih proteina. Međutim, nije dovoljno samo ispuniti odnos razgradivih i nerazgradivih proteina, mora se povesti računa i o tome koliko su aminokiseline zastupljene u obroku. Kod krava koje daju više od 30 kg mleka (4% MKM na dan) potrebno je da se daje i izvesna količina (oko 0,50 kg na dan) hraniva animalnog porekla, ili mogu da se koriste i neka druga hraniva koja sadrže veći udeo nerazgradivih proteina (kukuruzni gluten), takođe i pojedine amino kiseline (najčešće metionin i lizin) u protektiranom, odnosno zaštićenom obliku. Cilj uključivanja ovih romponenti u obrok je balansiranje amino kiselina u obroku, odnosno postizanje njihove optimalne proporcije za proizvodnju mleka.

MATERIJAL I METODI

Ispitivan je hemijski sastav mleka krava tretiranih istom ishranom u toku nekoliko meseci. Poseban osvrt dat je ispitivanjima sadržaja masti, proteina, laktoze i suve materije u zimsko-prolećnom periodu (januar, februar mart i 12 dana u aprilu) kod krava sa jedne farme. Režim ishrane krava je bio sledeći: ishrana krava u toku laktacije, ishrana krava u toku zasušivanja i ishrana teladi.

Ishrana krava u toku laktacije odvijala se u tri faze:

- Ishrana u prvoj fazi (početak laktacije) 60-70 dana;
- druga faza (najveća mlečnost) 70-140 dana;
- treća faza (opadanje mlečnosti) 140-305 dana.

Ishrana u prvoj fazi u prva 3 dana; dnevni obrok sastojao se od najkvalitetnijeg sena 3kg, najkvalitetnije silaže 10-15 kg, koncentrata do 3,5 kg. Is-

hrana od 3 do 15 dana je sledeća: dnevni obrok je sastavljen od najkvalitetnijeg sena, najkvalitetnije silaže, koncentrata oko 0,5-1 kg na dan do željene količine, a ne veće od 60% suve materije u obroku. Ishrana od 15-70. dana: obroci su se sastojali od kabaste i koncentrirane hrane za krave telesne mase od 550-600 kg. Ishrana u drugoj fazi od 15-70. dana: u cilju da se proizvede odgovarajuća količina mleka životinjama se daje najkvalitetnija hrana, obrok treba dobro izbalansirati, ne sme biti naglih promena u ishrani i ne sme biti stresova kod krave. Ishrana u trećoj fazi od 140-305. dana: obroci krava od 600 kg telesne mase (TM) koja daje na dan 20 L mleka sa 3,75% MM (mlečna mast).

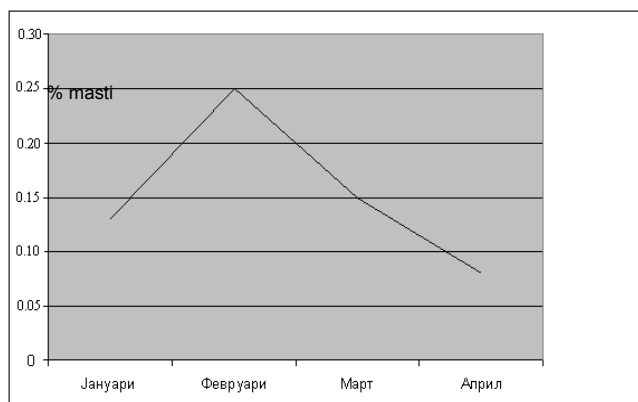
Ishrana zasušene krave do 60 dana pred telenje - smanjuje se obrok hrane za životinje; 15 dana pre telenja počinje korišćenje koncentrata 2,5-3,8 kg dnevno, koncentrat je ograničen na 0,5-1,0% TM (telesna masa).

Ishrana teladi uključuje ishranu kolostrumom, zatim napojivanja, ishrana sa koncentratom, ishrana sa kabastom hranom. Ishrana sa kolostrumom traje 1-3 dana. Osobina kolostruma je da je lako svarljiv, hranljiva vrednost je za 40% veća od običnog mleka, sadrži antitela i pokazuje otpornost organizma, bogato je karotinom i vitaminom E. Ishrana teladi za napojivanje podrazumeva: od prvog do petog dana oko dnevno 5 L mleka, ista dnevna količina zamenjena je za 5 L mleka, a broj napojivanja 4 puta na dan. Od šestog do tridesetog dana dnevna količina mleka do 8 L, a dnevna količina zamena za mleko do 6 L, broj napojivanja 3 puta na dan. Od tridesetog do pedesetog dana dnevna količina mleka do 3 L, a dnevna količina zamena za mleko do 4L, broj napojivanja dva puta na dan. Od pedesetog do devedesetog dana ne daje se mleko, a dnevna količina zamena za mleko do 3 L, broj napojivanja jedan put na dan. Ukupna dnevna količina mleka u toku 90 dana je bila 350 L, ukupna dnevna količina zamena za mleko je 450L.

Za ispitivanje hemijskog sastava mleka: sadržaj masti, proteini, laktoze i suve materije korišćena je spektrofotometrijska metoda sa laktoskopom. Laktoskop predstavlja spektrofotometar koji analizira sadržaj mleka i mlečnih produkata pomoću infra-red tehnologije. Laktoskop omogućava brzu, ultrapreciznu determinaciju hemijskih komponentata i radi na bazi FTIR

Tabela 1. SADRŽAJ MASTI U MLEKU
Table 1. FAT CONTENT IN MILK

Broj dana u mesecu	Mast (%)			
	Januar	Februar	Mart	April
01.	4.030	3.664	3.932	3.926
02.	4.121	3.730	3.617	3.971
03.	4.010	3.688	3.997	3.923
04.	4.069	3.333	3.810	3.914
05.	4.010	3.639	3.908	3.835
06.	3.982	0.00	3.630	4.002
07.	4.002	3.913	3.898	3.900
08.	3.909	3.577	3.746	3.928
09.	3.900	3.536	3.764	3.982
10.	3.803	3.476	3.660	3.905
11.	4.003	3.505	3.853	/
12.	3.749	3.553	3.865	3.777
13.	3.844	3.628	4.061	4.126
14.	3.942	3.811	3.927	
15.	3.947	3.485	3.971	
16.	4.072	3.680	3.951	
17.	3.913	3.803	3.968	
18.	3.928	3.837	4.105	
19.	3.955	3.626	3.921	
20.	3.853	3.843	3.924	
21.	3.865	3.465	4.073	
22.	3.780	3.595	3.967	
23.	3.840	3.266	3.855	
24.	3.624	3.355	3.578	
25.	3.749	3.670	/	
26.	3.853	3.621	4.031	
27.	3.643	3.677	3.966	
28.	3.735	3.713	4.050	
29.	3.667	3.756	3.863	
30.	3.629		3.997	
31.	3.821		3.942	



Slika 1. PROMENA SADRŽAJA MASTI U MLEKU
Figure 1. CHANGE OF FAT CONTENT IN MILK

(Fourier Transform Infrared) tehnologije. Laktoskop može izmeriti 80-120 uzoraka/h. Takođe, sadrži i opcije za ispitivanje sledećih parametara: masti u pavlaci (0-55%), proteina u mleku (0-15%), ugljenih hidrata u smeši za sladoled (0-2,5%), suve materije u koncentrovanom mleku (0-50%). Jedna od prednosti aparata je 50 nezavisnih kalibracija uzorka zapremine 8 ml, na temperaturi i do 40°C.

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni.

REZULTATI I DISKUSIJA

Količina masti, proteina, laktoze i suve materije analizirana je svaki dan od 1 januara do 13 aprila. Vrednosti su prikazane tabelarno i može se videti da svaki dan variraju parametri

kvaliteta mleka. Prosečne vrednosti analiziranih parametara prikazane su pojedinačno za svaki parametar kvaliteta mleka u toku tri i po meseca monitoringa.

Iz grafičkog prikaza uočavaju se maksimalne i minimalne vrednosti svake komponente mleka. Kada se pogleda vrsta i količina ishrane krave u ispitivanom periodu zaključuje se da količina komponenata značajno zavisi od ishrane krave.

Statističkom obradom rezultata (primenom programa Microsoft Office Excel) za sadržaj masti u mleka za 1. mesec (januar), 2. mesec (februar), 3. mesec (mart) i 4. mesec (12 dana aprila) dobijeni su sledeći podaci:

N-broj dana u mesecu, x - % masti, \bar{x} - broj prosečna mast na dan, $\pm SD$ - standardna devijacija, CV (%) - koeficient varijacija:

$$N_1=31 \quad x_1 = 121,168 \quad \bar{x}_1=3,908, \\ \pm SD = 0,130 \quad CV=3,32\%$$

$$N_2=29 \quad x_2 = 101,444 \quad \bar{x}_2=3,498 \\ \pm SD = 0,255 \quad CV=7,28\%$$

$$N_3=30 \quad x_3 = 116,801 \quad \bar{x}_3=3,893 \\ \pm SD = 0,159 \quad CV=4,54\%$$

Iz slike 1 vidi se da je najveći procenat masti u februaru, što je rezultat ishrane u navedenom periodu, odnosno korišćenja bogate kabaste hrane i primene veće količine koncentrata, do 3,5kg.

$$N_4=12 \quad x_4 = 47,189 \quad \bar{x}_4=3,932 \\ \pm SD = 0,081 \quad CV=2,060\%$$

Statistička obrada rezultata sadržaja proteina u mleku za svaki mesec:

$$N_1=31 \quad x_1 = 103,818 \quad \bar{x}_1=3,348 \\ \pm SD = 0,0874 \quad CV=2,610\%$$

$$N_2=29 \quad x_2 = 100,818 \quad \bar{x}_2=3,062 \\ \pm SD = 0,2239 \quad CV=7,312\%$$

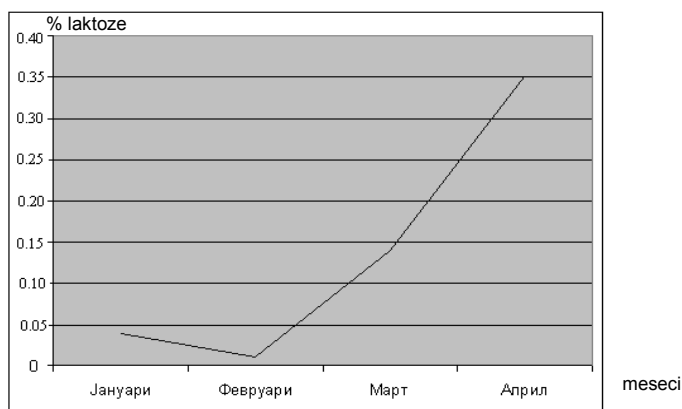
$$N_3=30 \quad x_3 = 95,083 \quad \bar{x}_3=3,067 \\ \pm SD = 0,2146 \quad CV=6,997\%$$

$$N_4=12 \quad x_4 = 39,0806 \quad \bar{x}_4=3,062 \\ \pm SD = 0,2751 \quad CV=8,984\%$$

Iz slike 2 vidi se da je najveći procenat proteina isti kao za sadržaj masti u toku sredine februara, što je rezultat konzumiranja hrane u toku navedenih dana bogatiji proteinima, kabaste hrane i koncentrata. Mali pad proteina je u martu, a zatim u aprilu

Tabela 2. SADRŽAJ PROTEINA U MLEKU
Table 2. PROTEINE CONTENT IN MILK

Broj dana u mesecu	Proteini (%)			
	Januar	Februar	Mart	April
01.	3.369	3.247	3.215	3.329
02.	3.407	3.389	3.251	3.251
03.	3.382	3.294	3.290	3.297
04.	3.483	3.325	3.253	3.343
05.	3.420	3.312	3.233	3.407
06.	3.372	0.00	3.228	3.320
07.	3.374	3.248	3.166	3.336
08.	3.384	3.353	3.278	3.407
09.	3.394	3.244	3.236	3.295
10.	3.376	3.248	3.257	3.295
11.	3.409	3.289	3.279	/
12.	3.383	3.360	3.285	3.306
13.	3.328	3.350	3.315	3.220
14.	3.374	3.309	3.291	
15.	3.386	3.341	3.468	
16.	3.351	3.299	3.264	
17.	3.299	3.311	3.295	
18.	3.331	3.278	3.318	
19.	3.346	3.330	3.261	
20.	3.369	3.288	3.292	
21.	3.408	3.378	3.235	
22.	3.316	3.275	3.241	
23.	3.303	3.040	3.204	
24.	3.304	3.051	3.294	
25.	3.331	3.289	3.274	
26.	3.333	3.306	3.368	
27.	3.286	3.318	3.265	
28.	3.341	3.329	3.314	
29.	3.349	3.256	3.338	
30.	3.310		3.335	
31.	3.333		/	



Slika 3. PROMENA SADRŽAJA LAKTOZE U MLEKU
Figure 3. CHANGE OF LACTOSE CONTENT IN MILK

ponovo dolazi do povećanja količine proteina.

Statistička obrada rezultata sadržaja laktose u mleku za svaki mesec:

$N_1=31$ $x_1=142,398$ $\bar{X}_1=4,4593$
 $\pm SD=0,0492$ $CV=1,073\%$
 $N_2=29$ $x_2=132,314$ $\bar{X}_2=4,562$
 $\pm SD=0,01170$ $CV=0,256\%$

$N_3=30$ $x_3=137,939$ $\bar{X}_3=4,49$
 $\pm SD=0,14669$ $CV=3,297\%$

$N_4=12$ $x_4=55,158$ $\bar{X}_4=4,242$
 $\pm SD=0,3332$ $CV=8,329\%$

Iz slike 3 vidi se da se najmanji procenat laktose dobija sredinom februara, a zatim dolazi do rapidnog povećanja, koje je obrnuto povećanju količine proteina i masti. Svakako i tu

je ishrana glavni faktor koji utiče na sadržaj laktose u mleku.

Statistički podaci za suhu materiju (SM) mleka su:

$N_1=31$ $x_1=251,687$ $\bar{X}_1=8,8118$
 $\pm SD=0,557$ $CV=6,87\%$

$N_2=29$ $x_2=240,775$ $\bar{X}_2=8,302$
 $\pm SD=0,324$ $CV=3,913\%$

$N_3=30$ $x_3=250,712$ $\bar{X}_3=8,313$
 $\pm SD=0,292$ $CV=3,521\%$

$N_4=12$ $x_4=103,773$ $\bar{X}_4=7,982$
 $\pm SD=0,681$ $CV=8,543\%$

Sadržaj suve materije mleka u februaru i martu je najniži, dok u aprilu dostiže maksimum, slično kao i sadržaj laktose.

Iz rezultata prikazanih na slici 5 vidi se da sadržaj svih komponenta mleka povećava i dostiže maksimum u mesecu aprilu, isključujući sadržaj masti čiji maksimum je u februaru, a minimum u aprilu.

Isto tako, i sadržaj proteina se povećava u februaru, a u martu dolazi do naglog pada, dok u aprilu dostiže maksimum. Laktosa ima obrnuti rast u odnosu na proteine i mast u mleku, u februaru je najmanje zastupljena, dok u martu i aprilu dostiže maksimum. Količina suve materije u februaru i martu je najmanja, dok u aprilu dostiže maksimum.

Analize sadržaja osnovnih sastojaka mleka pokazuju da su dobijeni rezultati posledica načina ishrane životinja. Ukoliko se promeni način ishrane, količina hrane kao i vrsta ishrane, rezultati će biti drugačiji. Može se zaključiti da je ishrana glavni faktor koji utiče na sadržaj komponenta u mleku.

ZAKLJUČAK

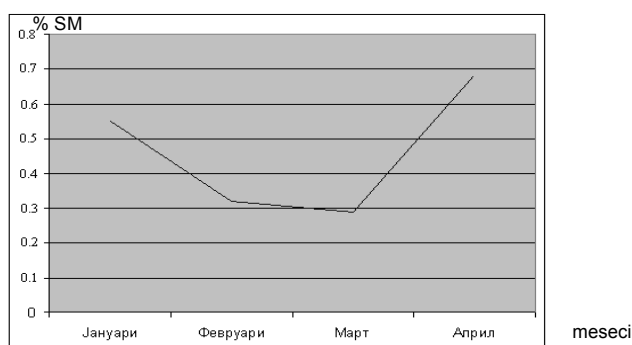
U Evropi, i kod nas, za merenje proizvodnih potencijala hrane koriste se skrobni ekvivalent, odnosno hranljive jedinice koji su izvedene iz sistema skrobne vrednosti i predstavljaju količinu energije hrane koja, posle svih gubitaka u toku digestije i metaboličkih procesa, preostaje životinjama za ugrađivanje u produkte (meso, mleko).

Hraniva su se nekad koristila pojedinačno, a danas je to retko, zato ne postoji nijedna hrana za životinje koja u potpunosti može da zadovolji potrebe životinja za hranljivim materijama.

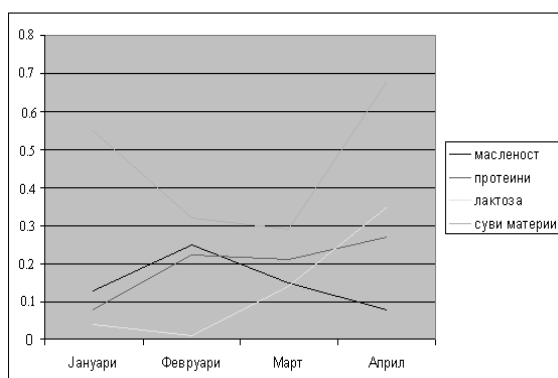
Ukoliko je veća raznolikost u ishrani toliko je bolja ishrana životinja, zato što omogućava bolje kombinacije krmiva pri sastavljanju obroka.

Tabela 4. SADRŽAJ SUVE MATERIJE (SM) MLEKA
Table 4. TOTAL SOLIDS CONTENT IN MILK

Broj dana u mesecu	SM (%)			
	Januar	Februar	Mart	April
01.	8.634	8.494	8.521	8.620
02.	8.706	8.748	8.591	8.553
03.	8.675	8.586	8.654	8.663
04.	8.864	8.626	8.593	8.678
05.	8.784	8.628	8.581	8.779
06.	8.710	0.00	8.585	8.622
07.	8.704	8.528	8.464	8.644
08.	8.730	8.690	8.632	8.678
09.	8.736	8.523	8.570	8.789
10.	8.713	8.545	8.603	8.638
11.	8.679	8.627	8.603	/
12.	8.682	8.706	8.604	8.599
13.	8.630	8.671	8.651	8.510
14.	8.692	8.613	8.598	
15.	8.718	8.641	8.333	
16.	8.705	8.617	8.565	
17.	8.591	8.633	8.639	
18.	8.665	8.565	8.679	
19.	8.682	8.610	8.530	
20.	8.689	8.621	8.612	
21.	8.766	8.719	8.536	
22.	8.652	8.623	8.566	
23.	8.621	8.254	8.490	
24.	8.599	8.258	8.625	
25.	8.652	8.653	/	
26.	8.666	8.638	8.591	
27.	8.618	8.649	8.738	
28.	8.670	8.687	8.562	
29.	8.674	8.595	8.630	
30.	8.610		8.668	
31.	8.662		8.698	



Slika 4. SADRŽAJ SUVE MATERIJE MLEKA
Figure 4. CHANGES OF MILK TOTAL SOLIDS CONTENT MILK



Slika 5. PROMENE ISPITIVANIH KOMPONENATA MLEKA
Figure 5. CHANGES OF MILK COMPONENTS

Od ukupnih troškova u stočarskoj proizvodnji 60-70% otpada na trošak hrane. Zato je potrebno bolje poznavanje hemijskog sastava i hranljive vrednosti hrane za životinje, kao i balansiranje sadržaja proteina, mineralnih materija i dr.

Raznolikost hrane po sastavu i strukturi ukazuje na potrebe pronalazjenja jednostavnijih i efikasnijih načina za iskazivanje njihove hranljive vrednosti, odnosno utvrđivanje njihovog proizvodnog potencijala. Poređenjem rezultata analize svih parametara kvaliteta mleka u ispitivanom periodu odnosno u zimsko-prolećnom periodu, može se konstatovati da je najbolje izbalansirana ishrana u aprilu. Time je i kvalitet mleka bolji, što se može objasniti činjenicom da je u tom periodu konzumiranja hrane najveća količina proteina koji imaju važnu ulogu u povećanju hranljive vrednosti mleka.

LITERATURA

1. Campling, R.C., and Lean, I.J.: Food characteristics that limit voluntary intake. In Nutritional Physiology of Fat Animals (J.A.F.Rook and P.C. Tomas, eds), New York and London (1983).
2. Jovanović, R.: Ishrana domaćih životinja, Novi Sad (1993).
3. Bogdanov, P.: Ishrana na životini, Bitola, (2007)
4. Forbes, J.M.: Physiology of food regulation of fod intake. In Nutritional Physiology of Farm Animals (J.A.F.Rook and P.C.Tomas, eds), London(1983).
5. Aleksić, D., Grubić, G. i Pavličević, S.: Savremeni principi ishrane visokoproizvodnih krava, Veterinarski glasnik,47(4-5),227-236 (2007).
6. Grubić, G., Adamović, M.: Sistem ishrane krava (2.deo), Ishrana visokoproizvodnih krava, Beograd (2003).
7. Koljajić, V., Đorđević, N., Grubić, G. & Pavličević, A.: Ishrana krava kao faktor proizvodnje mleka i njegovog sastava. Prehrambena industrija-mleko I mlečni proizvodi, 11, (2000).
8. Ostojić, M.: Nasledne osobine mlečnosti krava u zavisnosti od nivoa proizvodnje. Hrana i ishrani, Zbornik naučnih radova Instituta PKB agroekonomika (2005) Vol 11, No3-4 pp15-24
9. Ostojić, M.: Silaža lucerka u ishrana krava, Lucerka u ishrani, Zbornik naučnih radova Instituta PKB, Arhiva za poljoprivredne nauke, 62,220,275-284 (2005).
10. Rafall Jinez-Flores: Trend in Research fo Alternate Uses of Milk fat, Journal of Dairy Scienc Vol. 80, No.10 (1997)
11. Razavi, S.M.A., Mansavi, S.M., Mortzavi, S.A., Dynamic prediction of milk ultrafiltration performance: A neutral network approach, Vol.58, issue18, (2003), 4185-4195.
12. Ferreira, L.S., Trierweiler, J.O., Folly, R.O.M.: A lactose fia biosensor system for monitoring and process control, Braz. J. Chem. Eng. Vol.21, No2, Sao Paolo (2004).
13. Mariaca, R., Bosset, J.O.: Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products, Federal Dairy Research Institue/FAM CH-309 Iait.(1997) 77,13-40.

14. Chiatolo, V., Maldonato, R., Bruno, M., Dupont, D., Coulon, J.B.: Chemical composition and coagulation properties of modicana and holstein cow's milk, *Ann. Zootech.* 49(2000) 497-503.
15. Brawn, J.B.: The chemistry of lipids, *Annual Review of Biochemistry*, Vol.15: 93-118, (1946).
16. Fox, P.F., McSeeny P.L.H., *Dairy Chemistry and Biochemistry; Lactose, Milk proteins, milk lipids*, Vol 3: 21-67, 201-210. Department of Food Chemistry University College Cork, Ireland (1998).

SUMMARY

NUTRITION AS A FACTOR OF INFLUENCE ON CHEMICAL COMPOSITION OF MILK

¹Julijana Tomovska, ¹Nikola Hristovski, ¹Stefče Presilski, ²Natalija Tomovska

¹University "Sv. Kliment Ohridski", Faculty for Biotechnical Sciences, Bitola, R. Makedonija

²University "Sv. Kiril i Metodi", Faculty of Science, Institute for Chemistry, Skopje, R. Macedonia

Animal feed consists of considerable number of chemical compounds, organic and inorganic wherefrom animals use nutraceuticals necessary for life, growth and reproduction. In a meal of high production cow in lactation, it is necessary to provide a minimum of 19-21% ADF.

NDF represents material of which plant cell walls are constructed, so the meal has to contain 28-30% NDF. Emphasis has been put on research of fat, protein, lactose and total solids in milk during winter/spring period at a particular farm.

During the 300-day period, feeding regime was as follows: cow feeding regime during lactation, cow feeding regime after lactation and the feeding regime of calves. The obtained milk samples were analyzed by spectrophotometry and lactoscope. All researched parameters had maximal value in April, while fat content had its maximum in February and minimum in April. The variations in milk composition prove that animal feed in the main factor influencing milk composition. The best balanced feed was in April during a 12-day period, when milk quality was best. Namely, protein content is highest during this period.

Key words: cow feed • winter/spring period • milk • quality parameters

¹GORDANA DIMITROVSKA
²SONJA SRBINOVSKA
¹STEFČE PRESILSKI

¹University "St. Kliment Ohridski",
 Faculty of Biotechnical Sciences,
 Bitola, R. Macedonia,

²University "Sv. Kiril i Metodi", Faculty
 of Agricultural Sciences and Food,
 Skopje, R. Macedonia

SCIENTIFIC PAPER

UDK: 637.12:636.234:637.06(497.17)

CORRELATION DEPENDANCE BETWEEN SOMATIC CELLS AND TOTAL COUNT OF BACTERIA IN COW MILK OF HOLSTEIN – FRIESIAN BREED ON FARM IN THE REGION OF PELAGONIA

This work examines cow milk of Holstein – friesian breed during six – month period of first and second lactation on a farm in the region of Pelagonija. Somatic cell count in milk and total count of bacteria was examined.

Somatic cells are natural milk ingredients and their number should not exceed 400 000/ml. Increase of this number is a result of infection of the mammary gland and high bacteria number in milk. The average value of somatic cells in the milk of first lactation was 219 491/ml and in the milk of second lactation was 275 817/ml.

The total count of bacteria was 146 111/ml in first lactation and 218 194 /ml in second lactation period. These results confirm the existence of linear correlation between somatic cells and total count of bacteria with statistical meaning.

In the milk of first lactation collar correlation dependence exists with coefficient $r = 0,938$ in first month.

Linear correlation between somatic cells and total count of bacteria in second lactation was with statistical meaning in first, fifth, sixth month $r = 0,510$; $r = 0,697$; $r = 0,717$.

Key words: milk • somatic cells • total count of bacteria • Holstein – Friesian breed

INTRODUCTION

One of the most important factors which influence the increasing of the number of somatic cells in milk is infection of the mammary gland caused either by the bacteria over the nipple's canal (galactogenic); over damaged skin (limphogenic) and over blood (chematogenic). Usually provoke *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalacticae*, *Streptococcus uberis*, *pyogenes*, *Dysgalacticae* and coliform bacteria. They can increase the number of somatic cells to the 1.000 000/ml. Increasing the bacteria number, damage the udder as result of that; somatic cells increase. If the number of somatic cells is over 400 000/ml the milk is mastitic, and the consequences are: low milk secretion, change in chemical composition and physical, bacteriological and technical characteristics of the milk.

MATERIAL AND METODS

In this study cow milk of Holstein – Friesian breed in first and second lactation was examined. Examination was during of six months of lactation. Cow were observed in control conditions on farm with 860 cow capacity in Pelagonia region in R. Macedonia in the same conditions and diet.

Total count of somatic cells was examin and continual twice in one month at the same samples of milk with direct microscope metod for determination of somatic cells number.

During that are useful major reagent:

- a. - methilen blue-chlorid
 - 0,5g ethil alcohol
 - 40 ml xylene
 - 4 ml glacial acet acid in erlenmayer cup of 200 ml. It is putting in cup in which there is no evaporation.
- b. - Microbiological analysis of all samples once per month

Microbiological analysis exerted for state of health to milk as product according in ordinances in Statute 45 of year 1983. Milk preparation for microbiological testing was 20 gr of milk, mix with 180 ml physiological solution.

The further procedure was as proscribed.

RESULTS AND DISCUSION

From the chat in the Table number 1 it may be seen that large variation during all months at breed in first and second lactation with reference to total bacteria count appears. From our research it can be notice that in the both lactation percent of somatic cells and total bacteria count was larger in the start of lactation.

Average values of somatic cells in second lactation is higher, 275 817/ml and in first lactation 219 491 /ml. There is increased number of somatic cells in forth, fifth and sixth month (Table 1 and Graphic 1).

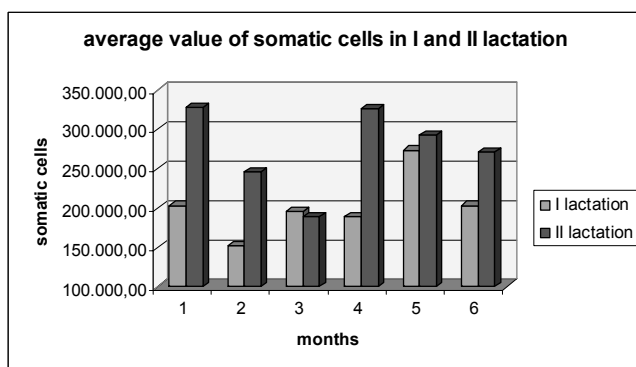
Breed in first lactation has total count of bacteria: 100 000 – 204 166/ml milk and coefficient variation 22.46 - 77.77%.

Breed of second lactation have higher value of total bacteria count: 218 194/ml; while in first lactation average

Correspondant author:
 Gordana Dimitrovska, University "St. Kliment Ohridski", Faculty of Biotechnical Sciences, Bitola, R. Macedonia

Table 1. PARAMETERS OF SOMATIC CELLS IN I AND II LACTATION

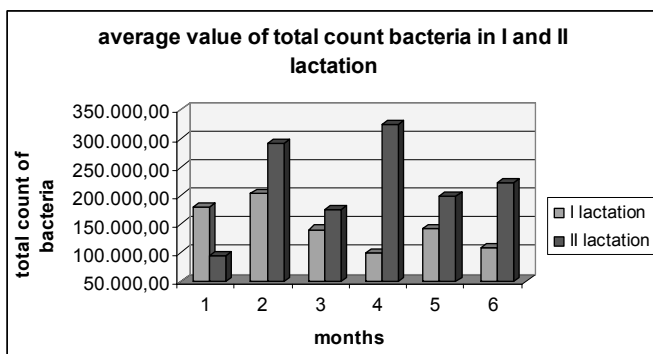
months	n	I lactation			II lactation		
		\bar{x}	S	cv (%)	\bar{x}	S	cv (%)
1	12	203.174,20	53.975,30	26,57	328.845,80	298.972,90	90,92
2	12	151.960,00	64.402,80	42,38	245.769,20	242.675,70	98,74
3	12	195.081,20	75.868,60	38,89	189.156,20	126.887,70	67,08
4	12	188.908,30	72.501,20	38,38	326.625,00	161.096,70	49,32
5	12	273.722,50	63.331,60	23,14	293.385,00	820.28,8	27,96
6	12	203.174,20	53.975,30	26,57	271.120,80	77.125,20	28,45
total values	72	219.491,40	113.734,70	51,82	275.817,00	183.959,30	66,7



Graphic 1. AVERAGE VALUE OF SOMATIC CELLS IN I AND II LACTATION

Table 2. PARAMETERS OD TOTAL COUNT OF BACTERIA IN I AND II LACTATION

months	n	I lactation			II lactation		
		\bar{x}	S	cv (%)	\bar{x}	S	cv (%)
1	12	180.833,33	124.787,70	69,01	95.000,00	72.550,92	76,37
2	12	204.166,67	158.771,32	77,77	291.666,67	84.834,96	29,09
3	12	140.833,33	46.015,48	32,67	175.833,33	98.577,00	56,06
4	12	100.000,00	22.462,09	22,46	325.000,00	133.994,57	41,23
5	12	141.666,67	47.258,16	33,36	199.166,67	137.010,84	68,79
6	12	109.166,67	31.176,43	28,56	222.500,00	84.436,64	37,95
total values	72	146.111,11	92.695,25	63,44	218.194,44	126.505,87	57,98



Graphic 2. AVERAGE VALUE OF TOTAL BACTERIA COUNT IN I AND II LACTATION

value is 146 111/ml, in percentage 60.92%. (Table 2 and Graphic 2)

Breed in second lactation has average value of total bacteria count from 95.000/ml to 325 000/ml and coefficient of variation 29,09 – 76, 37%. Breed in second lactation have higher value of total bacteria count in second, fourth, sixth month compared with breed in first lactation because of minimize resistance of this breed.

The higher number of bacteria in this month is result of higher number of mastitic diseases e.t. infections of the mammary gland. The bacteria which are identified in mastitic breed are from the group of *Staphylococcus*.

During July the values of the total count of bacteria are higher and that is as the result of higher outside temperature. The stress of higher temperature and moisture stimulate bacteria number and infection in summer period.

There is a lot of variations in total count of bacteria during six months depending of the conditions of animals cohabitation and subjective factor - humans.

It is confirmed that there is linear correlation between somatic cells and total count of bacteria. Breed of first lactation collar correlation dependence was with coefficient $r=0,938$ in the first month, breed in the second lactation had correlation dependence with statistical meaning in first, fifth, and sixth month $r=0,510$; $r=0,697$, $r=0,717$. To accomplish a lower number of somatic cells and bacteria Garcia, 2004 in his studies indicate of 2 key factors: cleaning and adequate hold and transport of the milk. In this context Yayaro et al., 2004 and Zdrinka Cacic et al., 2003 concluded that the somatic cells and total count of bacteria in milk may be indicators of breed control, health udder of the animal and milk quality.

Total bacteria count are in normal limits and in that case in first and second lactation, milk satisfy our standards and standards of E.U. for milk quality. With increase of somatic cells over 400 000/ml milk is mastitic tells Antunac. N. et al., 1997, and consequences are reduced milk secretion, changes in chemical composition, physical, bacteriological and technological properties of the milk (Majic, 1989).

Table 3: DEPENDENCE BETWEEN SOMATIC CELLS AND TOTAL COUNT OF BACTERIA IN I AND II LACTATION

month	corellation coefficient in I lactation	corellation coefficient in II lactation
1	0,938	0,510
2	0,236	0,055
3	0,007	0,116
4	0,024	0,433
5	0,452	0,697
6	0,357	0,717
total count	0,4386	0,2362

CONCLUSION

1. Average value of the total count of somatic cells during first lactation was 219 491/ml, during second lactation 275 817/ml over the six-month lactation period, so a conclusion can be drawn that breed during second lactation produced higher values of somatic cells as a result of mastitic diseases.

2. Average value of the total count of bacteria from breed during the first lactation was 146 111/ml and from the breed during second lactation was

218 194/ml, so the higher value of total count of bacteria during second lactation result of higher number of bacteria causing mastitis.

3. It is confirmed that there is linear correlation between somatic cells and total bacteria count with statistical meaning from breed of first lactation collar correlation dependance with coefficient $r = 0,938$ in the first month, from breed in the second lactation is correlation dependance with statistical meaning in first, fifth, and sixth month $r = 0,510$; $r = 0,697$, $r = 0,717$.

4. To milk quality of infected udder must be payed attention for better control, diagnosis of mastitis diseases on time, respect the higienical standards linked with holding and keeping of breeds in farms.

REFERENCES

1. Antunac N. Jasmina Lukac - Havranek, Dubravka Samarzija (1997): Somatske stanice i njihov utjecaj na kakvocu i preradu mleka. *Mljekarstvo* 47 (3): 183-193. Zagreb
2. Garsia Alvaro D. (2004): Somatic cells and high bacteria counts: How to deal with them. *Dairy Science* ExEx 4031 Jayarao B. M., Pillai S.R., Sawant
3. Jayarao B. M., Pillai S. R., Sawant A. A., Wolfgang D.R. and Hegde N. V. (2004): Guidelines for monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial counts. *Journal of Dairy Science* 87: 3561-3573
4. Majic, B. (1989): Kontrola mlijeka u odnosu na mastitise krava sa kratkim osvrtom na program suzbijanja mastitisa u Hrvatskoj. *Separat*.
5. Cacic Z., Kalit S., Cacic, M., (2003): Somatske stanice i cimbenici koji utjecu na njihov broj u mlijeku. *Mljekarstvo* 53 (1) 23-36, Zagreb
6. Harmon R.J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 77: 2103-2112
7. Menzies Frazer D. and Mackie Dermot P (2001): Bovine toxic mastitis: risk factors and control measures. *Irish Veterinary Journal*, volume 54: 30-37

IZVOD

ZAVISNOST BROJA SOMATSKIH ĆELIJA I UKUPNOG BROJA BAKTERIJA U KRAVLJEM MLEKU HOLŠTAJN-FRIZIJSKE RASE SA FARME U PELAGONIJI

⁴Gordana Dimitrovska, ²Sonja Srbinovska, ¹Stefče Presilski

University "St. Kliment Ohridski", Faculty of Biotechnical Sciences, Bitola, R. Macedonia

Ispitivan je ukupan broj somatskih ćelija i ukupan broj bakterija u mleku Holštajn - frizijske rase nakon prve i druge laktacije sa farme u Pelagoniji tokom šest meseci.

Ukupan broj bakterija u mleku iznosio je 146 111/ mL nakon prve laktacije i 218 194/ mL nakon druge laktacije. Rezultati pokazuju linearnu korelaciju broja somatskih ćelija i ukupnog broja bakterija. U mleku nakon prve laktacije koeficijent korelacije visok je i iznosi 0,938.

U drugoj laktaciji statistički je značajna zavisnost broja somatskih ćelija i ukupnog broja bakterija i iznosi u prvom, petom i šestom mesecu 0,510, 0,697 i 0,717, respektivno.

Ključne reči: mleko • Holštajn - frizijska rasa • somatske ćelije • ukupan broj bakterija

UPUTSTVO AUTORIMA

Časopis **PREHRAMBENA INDUSTRIJA – MLEKO I MLEČNI PRIZVODI** objavljuje pregledne naučne i stručne radove, prikaze iz industrijske prakse, prikaze savremene tehnološke opreme, zatim knjiga i drugih stručnih izdanja, privredne vesti i tehnološke novosti.

Rad treba da je izložen jasno i da sadrži sledeće delove: **Izvod** (do 200 reči), **Ključne reči**, **Uvod**, **Materijal i metodi**, **Rezultati i diskusija**, **Zaključak**, **Literatura** i **Izvod** na engleskom jeziku (**Summary**), do 250 reči.

Na prvoj strani dati predlog autora za kategoriju rada (naučni ili stručni) i naslov (koji ne treba da sadrži simbole, formule i skraćenice). Ispod naslova rada navesti ime, srednje slovo i prezime svakog autora, bez titula, zvanja i funkcija. Ispod imena autora navesti u najkraćem obliku nazive i mesto institucija u kojima rade autori. Pri kraju prve strane navesti punu adresu jednog autora, zvanje, e-mail i telefon.

Preporučuje se da celokupan rukopis, uključujući priloge, ne bude veći od 15 strana.

Pridržavati se Međunarodnog sistema jedinica (SI), Zakona o mernim jedinicama i merilima, i uobičajene hemijske nomenklature.

Spisak literature daje se po abecednom redu i prilaže na odvojenom listu. Skraćene nazive časopisa treba navoditi prema Međunarodnom kodeksu za skraćivanje naslova periodičnih publikacija.

Reference se navode na sledeći način:

ČASOPISI: Buriti, F.C.A., da Rocha, J.S. and Saad, S.M.I.: Incorporation of Lactobacillus acidophilus in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15 (2005) 1279-1288.

KNJIGE: Tamime, A.Y. and Robinson, R.K.: *Yoghurt Science and Technology*, Woodhead publishing limited, Cambridge, England, p. 619 (2004).

POGLAVLJE U KNJIZI: Kindstedt, P., Carić, M., Milanović, S.: Pasta Filata Cheeses. Chapter 11, in: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 3rd ed.: Major Cheese Groups-vol. 2, eds. P.F. Fox et al., Elsevier Science Ltd., London (2004) pp. 251-277.

ZBORNIK RADOVA: Fox, P.F., Kelly, A.L.: Milk proteins: Technological aspects, *International Dairy Symposium "Recent Developments In Dairy Science and Technology"*, Isparta-Turkey, 24-28 May 2004, Proceedings, p.17.

TEZA (Ph.D., M.Sc.): prezime, inicijali imena.: naslov doktorske disertacije ili magistarske teze, naziv univerziteta, godina.

Pri pisanju literature u **tekstu** navesti prezime autora, bez inicijala i godinu publikacije. Primeri:

1. Steventon, Donald and Gladden (1994) izučavali su efekte... ili
2. Slične rezultate publikovali su i drugi autori (Anderson, Douglas, Morrison & Weiping, 1990).
3. Ako se navodi više rezultata istog autora u isto vreme, poređati datume po redu. Koristiti slova posle godine da bi se naznačilo više publikacija od istog autora iste godine:

"Više studija (Johnson, 1988, 1990a, 1990b, Johnson et al.1995a, 1995b) pokazalo je isti rezultat."

Na posebnom listu, na kraju rukopisa, dati izvod na engleskom jeziku (SUMMARY) do 250 reči koji treba da sadrži: naslov rada, ime i prezime svakog autora, naziv institucije u kojoj autori rade (na engleskom), važnije pojmove (Key words) na engleskom jeziku.

Sve nazive **tabela** i **slika** i upise u njima u tekstu napisati **i na engleskom jeziku**.

Tehnički detalji u vezi sa pisanjem radova za časopis PREHRAMBENA INDUSTRIJA

Radove pisati u Wordu. Format strane je **A4** sa marginama od **25 mm**. Koristiti font **Times New Roman** veličine **12 pt**, a Izvod na srpskom i engleskom veličine **10 pt**. Naslove pisati velikim slovima veličine **12 pt (bold)**, a podnaslove malim slovima veličine **12 pt (bold)**. Reči ne rastavljati. Ilustracije i tabele postaviti na svoja mesta u tekstu. Ilustracije treba da su u crno-belom tehnici i treba ih dati još i u posebnom **grafičkom fajlu (ne u Wordu)**. Ako je vektorska grafika u pitanju, u obzir dolaze formati ***.cdr** i ***.wmf**, a za bitmapiranu grafiku preporučuju se formati ***.bpm** ili ***.tif** u rezoluciji od najmanje **300 dpi**. Kolor ili crno-bele fotografije, ukoliko ih ima u radu, treba dostaviti u ***.jpg** formatu. Takođe, sve grafikone koji su urađeni pomoću Microsoft Office Excel programa dostaviti u originalnom excel formatu. Ako se u ilustracijama koriste neki nestandardni fontovi treba ih **pretvoriti u krive (curves)**.

Radove slati na CD–u i jednu 'hard' kopiju na adresu: Prof. dr Spasenija Milanović, glavni urednik (Prehrambena industrija-Mleko i mlečni proizvodi), Tehnološki fakultet, 21000 Novi Sad, Bul. cara Lazara 1 i na e–mail adresu: mlekoff@uns.ns.ac.yu.

Svi radovi podležu recenziji. Konačnu odluku o kategorizaciji i štampanju rada donosi Uredništvo časopisa.