

<sup>1</sup> DRAGOJLO B. OBRADOVIĆ  
<sup>1</sup> DRAGOSLAVA D. RADIN  
<sup>1</sup> PREDRAG D. PUĐA  
<sup>2</sup> ANĐELKA KARIĆ

<sup>1</sup> Institut za prehrambenu  
 tehnologiju i biohemiju,  
 Poljoprivredni fakultet,  
 Beograd

<sup>2</sup> Služba razvoja MDD PKB  
 IMLEK

637.3:637.047/.05

Proizvodnja sireva predstavlja jednu od najvitalnijih grana mlekarske industrije sa godišnjom stopom rasta od 2%, čemu sigurno pogoduje i globalizacija svetskog tržišta. Kada je u pitanju primena probiotika u sirarstvu, tu stvari, za razliku od fermentisanih napitaka, nisu dovoljno ispitane. Imajući u vidu pH sireva, oksidoredukcioni potencijal, hemijski sastav, strukturu, puferska svojstva, neosporno je da sirevi mogu biti dobri vektori za prenos probiotika. Međutim, trenutno je suviše mali broj sireva sa probioticima na tržištu, ali zato podaci dobijeni na osnovu eksperimenata deluju ohrabrujuće. S druge strane, nedostatak validnih medicinskih istraživanja o delovanju probiotika koji su konzumirani sa sirevima, takođe čini ovu oblast nedovoljno ispitanom. Ako se ima u vidu da proizvodnja funkcionalne hrane ima permanentnu ekspanziju, a da mlečni proizvodi tu zauzimaju vidno mesto, da se očekivati da će i sirevi sa probioticima dati doprinos tom trendu.

**Ključne reči:** Probiotici • Sir • Funkcionalna hrana

## UVOD

Proizvodnja funkcionalne hrane beleži permanentan porast a jedan od glavnih motora ovog trenda je primena probiotika u industriji mleka (15, 18). S druge strane, sigurno je da je globa-

## PRIMENA PROBIOTIKA U PROIZVODNJI SIREVA – STANJE I PERSPEKTIVE

lizacija svetskog tržišta nezaustavljiv proces pa je i to doprinelo da se broj proizvoda sa probioticima stalno uvećava. Da bi se navedenim povećanim zahtevima izašlo u susret, paleta proizvoda od mleka koji sadrže spomenute mikroorganizme stalno se proširuje. Neosporno je da i dalje najveću pažnju privlače fermentisana mleka. Međutim, u poslednje vreme teza da i neki drugi proizvodi mogu da posluže kao nosači probiotika, sve više dobija na aktuelnosti. U tu grupu spadaju razni tipovi sireva, dezerti, sladoled, fermentisani proizvodi na bazi soje, sokovi parafarmaceutski preparati itd. (11, 12). Sojevi koji se koriste su humanog porekla, jer su fiziološki najprikladniji, i najčešće pripadaju rodovima *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* odnosno vrstama *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii*, *L. reuteri*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, kao i *Enterococcus faecium*.

Proizvodnja visokokvalitetne funkcionalne hrane sa pojedinim sojevima koji pripadaju vrstama laktobacila i bifidobakterija predstavlja veoma kompleksan zadatak za industriju hrane, pogotovo kada se mleko koristi kao substrat za fermentaciju. Ako se ima u vidu da je sirarstvo najsloženija grana mlekarske industrije u kome učestvuje veliki broj enzima različitog porekla, sigurno je da je uloga mikroorganizama u ovim procesima nezamenljiva i zato je logično zašto se tolika pažnja poklanja aktivnosti kako starterske tako i nestarterke mikroflora (6). Kako su ispitivanja na čedru pokazala da u toku zrenja dolazi do permanentnog povećanja ne-

starterskih bakterija mlečne kiseline kao što su *L. plantarum*, *L. casei*, *L. brevis* i *P. pentosaceus*, a takođe i enterokoka koje neosporno produktima svog metabolizma utiču na formiranje senzornih svojstava sira, došlo se na ideju da se navedeni mikroorganizmi koriste kao dopunske kulture da bi se proces zrenja ubrzao (13). S tim u vezi postavlja se pitanje u kojoj bi meri probiotici mogli da posluže kao dopunske kulture. Na to pitanje teško je dati definitivan odgovor ali je činjenica da se vrše permanentno ispitivanja i da na tržištu postoji određen broj sireva sa probioticima. Imajući sve ovo u vidu, ovaj rad ima za cilj da da pregled dosadašnjeg stanja u ovoj oblasti i da ukaže na perspektive primene probiotika u sirarstvu.

## SADAŠNJE STANJE

Ako bi se izvršilo poređenje sa fermentisanim mlekom vidljivo je da sirevi, kao nosači probiotika, imaju određene prednosti. Poznato je da sirevi imaju viši pH a i povećan puferski kapacitet sprečava rast kiselosti, što apsolutno odgovara probioticima, pogotovo bifidobakterijama. Isto tako struktura sira u koju su uklopljeni proteini i mast štiti probiotske bakterije prilikom prolaska kroz gornje delove gastrointestinalnog trakta. Kada je *Bifidobacterium bifidum* korišćen kao dopunska kultura u proizvodnji čedra, broj ćelija je iznosio  $2 \cdot 10^7$  cfu/g posle 6 meseci zrenja, pri čemu apsolutno nije došlo do odstapanja u organoleptičkim svojstvima sira (5). Starter koji se sa-

Adresa autora: Prof. dr Dragojlo Obradović, Institut za prehrambenu tehnologiju i biohemiju, Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun, Nemaњina 6.

stojao od *L. acidophilus* i *B. lactis* primenjen u proizvodnji gaude doprineo je formiranju manjih peptida i slobodnih aminokiselina, ali su primećene izraženije lipolitičke promene (11). Koncentracija ćelija startera bila je nakon 70 dana zrenja veća od  $10^6$  cfu/g a aktivnosti kultura doprineo je i dodatak 0,3 % hidrolizata mleka. Za proizvodnju čedra korišćen je i soj *Bifidobacterium lactis* BB 12 sa preživljavanjem ( $=10^8$ cfu/g) a u drugom slučaju *L. paracasei*. U oba ogleđa zaključeno je da čedar može da bude solidan vektor za davanje probiotika potrošaču (14, 8). U ovom drugom radu pokazano je da sojevi *L. paracasei* korišćeni kao dodatne kulture apsolutno odgovaraju svojoj nameni. Istaknuto je da uprkos malom inokulumu ovi sojevi postižu visoku koncentraciju u toku 8 meseci zrenja ( $> 10^8$  cfu/g).

Isto tako, primenom RAPD-PCR tehnike (randomly amplified polymorphic DNA-PCR analysis) omogućena je diferencijacija probiotskih sojeva u odnosu na nestartersku floru bakterija mlečne kiseline. Zatim, zapažen je povećan sadržaj slobodnih masnih kiselina, ali se to nije negativno odrazilo na osnovne senzorne karakteristike kao što su ukus i miris. Istovremeno, nisu potrebne nikakve izmene u tehnološkom procesu. Čedar je proizveden iz mikrofiltriranog obranog mleka uz dodatak pavlake fermentisane sa *Bifidobacterium infantis* i broj navedenih bakterija je bio veći od  $10^6$  i posle 4 meseca, a metabolička aktivnost ovih bakterija bila zapažena u toku celog perioda (4). Probiotici su primenjeni u proizvodnji belog sira u salamuri (10) i kotidža ali je primećeno rapidno opadanje broja ćelija bifidobakterija posle 15 dana. Autori su zaključili da je pH sira odgovoran za tako slab procenat preživljavanja (3). Posebno interesantni su ogleđi sa dopunskim starterima, odnosno sojevima *Enterococcus faecium*, koji su pokazali izuzetno povoljan uticaj na ukus i miris čedra (8) kao i vrlo dobar stepen preživljavanja čak nakon 15 meseci. Međutim, imajući u vidu sposobnost enterokoka da prenose rezistenciju na antibiotike, ostaje otvoreno pitanje koliko su ovi eksperimenti bezbedni.

Proizvodnja mekog sira Fresco iz ultrafiltriranog mleka sa probiotskim sojevima *L. acidophilus*, *B. bifidum* i *L. casei* u kombinaciji sa klasičnim star-

Slika 1. DINAMIKA PREŽIVLJAVANJA *L. paracasei* NFBC 338 I NESTARTERSKIH BAKTERIJA MLEČNE KISELINE U TOKU ZRENJA SIRA ČEDRA (16)

terima pokazala se vrlo uspešnom. I posle dva meseca preživljavanje je bilo zadovoljavajuće a to se pripisuje relativno visokoj pH vrednosti i povećanom sadržaju proteina.

Jedan od najvećih komercijanih uspeha probiotika u proizvodnji sireva jeste primena LGG (*L. rhamnosus*) soja kao dopunske kulture kod ementalera sa manjim sadržajem masti (1). Koncentracija LGG kulture u zreloom GEFILUS siru bila je  $>10^7$  cfu/g, što je veća vrednost u odnosu na broj ćelija startera (sl. 2). Sve što je izneto predstavlja više nego ubedljiv putokaz da sa daljim korišćenjem probiotika u sirarstvu treba intenzivno nastaviti, jer su razlozi za ovako nešto više nego ubedljivi. Ovome treba dodati i najnovije podatke da LGG kultura doprinosi i smanjenju karijesa zuba (2).

Imajući u vidu činjenicu da su i propionske bakterije izolovane iz humanog fecesa kao i da postoje podaci o sposobnosti ovih bakterija da kolonizuju crevni trakt, pojavio se interes za njihovu primenu kao probiotika. Prvi re-

zultati daju za pravo ovakvim očekivanjima, o čemu svedoči naglo interesovanje za ovu oblast. Izučavanje primene propionskih bakterija kao starter kultura je danas izuzetno aktuelno. Propionske bakterije imaju značajnu ulogu u produkciji aromogenih jedinjenja sireva kao što su peptidi i amino kiseline, koji su rezultat autolitičke aktivnosti što dovodi do nakupljanja prolina kao i nekih volatilnih produkata razgradnje aminokiselina. Isto tako, korišćenjem laktata stvara se propionska kiselina i  $CO_2$  što dovodi do formiranja šupljika, a to u stvari predstavlja srž proizvodnje određenog broja sireva, kao što su ementaler, grojer itd.

## PREDNOSTI I OGRANIČENJA PRIMENE PROBIOTIKA U SIRARSTVU

Neosporno je da probiotske bakterije moraju da ispune osnovne tehnološke zahteve kada se koriste u proizvodnji sireva. Iznad svega, koncentracija ćelija mora biti odgovarajuća u momentu konzumiranja pri čemu ne sme da dođe do odstupanja u senzornim karakteristikama. Iz tog razloga u nekim slučajevima je neophodna i modifikacija tehnološkog postupka. Isto tako, posebno je važno da se proizvodi sa probioticima čuvaju u ohlađenom stanju, jer se time održava koncentracija ćelija probiotika, a takođe i interakcija probiotika sa osnovnim sastojcima namirnica. Ovaj stepen interakcije zavisi od sadržaja i vrste ugljenih hidrata, stepena hidrolize proteina, hidrolize mlečne masti koja uslovljava i pojavu nižih masnih kiselina. Prema tome, proteolitička i lipolitička svojstva probi-

Slika 2. SIR EMENTALER – GEFILUS PROIZVEDEN SA LGG KULTUROM

Figure 2. EMENTAL TYPE GEFILUS CHEESE MADE WITH LGG CULTURE

otskih bakterija mogu da imaju značajan uticaj na formiranje senzornih osobina.

S druge strane, međusobni uticaj probiotika i starter kultura takođe mora da se uzme u obzir, i stepen interakcija prvenstveno zavisi od momenta dodavanja probiotika, odnosno da li se oni dodaju pre ili posle fermentacije. Ako se dodaju posle fermentacije logično je da snižavanje temperature dovodi do usporavanja biohemijskih procesa, čime se mogućnost pojave navedenih uticaja u velikoj meri smanjuje. Međutim, za vreme zrenja sigurno je da može da dođe do određenih uticaja koji se na različite načine mogu manifestovati.

U slučaju da se probiotici dodaju nakon fermentacije, fiziološko stanje ćelija probiotika je od primarnog značaja za preživljavanje u toku zrenja i skladištenja. Na ovo utiče nekoliko faktora:

1. Nutritivne karakteristike podloge za razviće probiotika u odnosu na nutritivna svojstva sira;
2. Da li je došlo do izdvajanja biomase u toku logaritamске ili stacionarne faze;
3. Uslova koji dovode do prelaska u stacionarnu fazu;
4. Načina postupanja sa probiotcima nakon izdvajanja biomase.

Odgovori na ova pitanja u velikoj meri se mogu dobiti na osnovu dosadašnjih iskustava sa komercijalnom proizvodnjom starter kultura.

### PRIMENA PROBIOTIKA U PROIZVODNJI SVEŽIH SIREVA

Ako se ima u vidu tehnološki proces proizvodnje svežih sireva, može se reći da ovi sirevi predstavljaju više nego pogodne vektore za prenos probiotika. Navedeni sirevi nemaju zrenje, čuvaju se na temperaturama hlađenja, rok trajanja je relativno kratak. Kao najbolji primer može da posluži sir kotidž. Kod ovog sira dodavanje probiotika može da se vrši zajedno sa starterom ili kada se dodaje pavlaka. U prvom slučaju jedan deo ćelija probiotika može da ode zajedno sa surutkom a takođe dogrevanje grušā negativno bi se odrazilo na preživljavanje. Druga alternativa čini se realnijom, jer se tačno zna koncentracija probiotika koja se dodaje, izbegava se negativan efekat

dogrevanja i nakon dodavanja može odmah da se pristupi hlađenju. Kao primer za ovaj pristup može da posluži ranije spomenuta proizvodnja argentinskog Fresco sira (19).

### PRIMENA PROBIOTIKA U PROIZVODNJI SIREVA SA ZRENJEM

Kod ove proizvodnje sva ona razmatranja koja se odnose na sveže sireve moraju se takođe uzeti u obzir. To se prvenstveno odnosi na momentat dodavanja i procenat preživljavanja nakon dogrevanja grušā. Međutim, kod ovih sireva produženi period zrenja predstavlja dodatni problem. Kod nekih sireva preživljavanje probiotika nije bilo baš zadovoljavajuće a isto tako primećeno je i izvesno odstupanje od standardnih senzornih osobina (10). S druge strane, ima podataka o više nego uspešnoj primeni kod čedra, ementalera i gaude (9, 11, 17, 4, 5). Kod najispitivanije probiotske bakterije *Lactobacillus rhamnosus* GG, koja se u Finskoj koristi za veći broj proizvoda (brend GEFILUS) između ostalih i ementalera i gaude, pokazalo se da izvanredno preživljava u siru, što je dokazano i visokim sadržajem u stolici kod osoba koje su konzumirale ove sireve (sl. 3).

### ZAKLJUČAK

Primena probiotika u sirarstvu, i pored nekoliko komercijalnih proizvoda, još uvek se nalazi u eksperimentalnoj fazi. Međutim, evidentno je da postoje određene prednosti u pogledu ove primene i to je prvenstveno posledica pH sira, oksidoredukcionog potencijala, vijabilnosti ćelija u dužem vremenskom intervalu, strukture sira i puferkog kapaciteta. Ono što u ovom trenutku nedostaje jesu validna medicinska istraživanja koja bi opravdala ovu primenu. Istovremeno nije jasno koje su to minimalne količine sira, koje bi se svakodnevno konzumirale, da bi se dobili željeni zdravstveni efekti. Sigurno je da će se na ova pitanja dobiti odgovor u dogledno vreme, ali ono što je do sada postignuto uliva nadu da će funkcionalnost sireva i na ovaj način biti potvrđena.

Slika 3. UPOREDNI PREGLED SADRŽAJA LGG U PROZVODIMA (BUTTERMILK, SURUTKA, SIR, KAPSULE, SOK I MLEKO) I STOLICI NAKON SVAKODNEVNOG KONZUMIRANJA OVIH PROIZVODA (SAXELIN)  
Figure 3. *Lactobacillus* GG DOSES OBTAINED FROM GEFILUS-PRODUCTS AND *Lactobacillus* GG LEVELS IN STOOLS, WHEN THE PRODUCTS ARE TAKEN DAILY.

## LITERATURA

- Anon. (2000): First ripened cheese with LGG. Valio LGG Action 2, 4-5.
- Anon. (2000): LGG offers dental care. Valio LGG Action 2, 10-11.
- Blanchette I., Roy D., Belanger G and S.F. Gauthier (1996): Production of cottage cheese using dressing fermented by *Bifidobacteria*. J. Dairy Sci. 79, 8-15.
- Daigle A., † Roy D., Belanger B., and Vuille-mard J.C. (1999) : Production of probiotic cheese using enriched cream fermented *Bifidobacterium infantis*. J. Dairy Sci.. Vol. 82, 1081-1091.
- Dinakar P. & Mistry V.V. (1994): Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. J. Dairy Sci. 77 , 10, 2854-2864.
- Fox P.F. and Cogan T.M. (2000): Cheese: Scientific highlights of the 20<sup>th</sup> century. The 6<sup>th</sup> cheese symposium, Cork, 83-122.
- Gardiner G., Ross P.R., Wallace J.M., Scanlan F.P., Jägers P.J.M., Fitzgerald G., Collins J.K. and Stanton C. (1999): Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of cheddar cheese. J. Agric. Food Chem. Vol 47, No 12, 4907-4916.
- Gardiner G., Ross R.P., Collins J.K., Fitzgerald G. and Stanton C. (1998): Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. Appl. Environ. Microbiol., Vol 64, No.6, 2192-2199.
- Gardiner G., Stanton C., Lynch P.B., Collins J.K., Fitzgerald G. and Ross P.R. (1999): Evaluation of Cheddar Cheese as a food Carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. J.Dairy Sci.Vol 82, No7, 1379-1387.
- Ghoddusi H.B. and R.K. Robinson (1996): The test of time. Dairy Ind. Int., 61, 25.
- Gomes, A. M. P. and Malcata, F. X. (1999): *Bifidobacterim* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Sci. & Techn. 10, 139-157.
- Knorr D. (1998) Technology aspects related to microorganisms in functional foods. Trends in Food Sci. and Tchnol. 9, 296-306.
- Mc Breaty S.J., Ross P.R., Auty M.,Wallce J.M., Collins J.K., Fitzgerald G., and Stanton C. (1999): Development of cheddar cheese with improved flavor containing viable bifidobacteria. 29<sup>th</sup> Annual Food Science & Technology Research Conference, Cork, Book of abstracts 69.
- Sanders M.L. and Huis int Veld J.(1999): Bringing a probiotic-containing food to the market; microbiological, product, regulatory and labeling issues. Antonie van Leeuwenhoek, 76, 293-315.
- Saxelin, M. (2002): LGG Summatim, Valio Ltd. 48.
- Stanton C. And Ross P.(1999): New probiotic cheddar cheese. End of project report 1999, DPRC No. 29.
- Vanderhoof J.A. (2001): Probiotics – future directions. Am. J. Clin. Nutr. 73 (suppl): 1152S-5S.
- Vinderola C.G., Prosello W., Ghilberto D. And Reinheimer J.A. (2000) Viability of probiotic (*L. Acidophilus*, *Bifidobacterium* and *L. casei*) and nonprobiotic flora in Argentinian Fresco cheese. J. Dairy Sci. Vol. 83, 1905-1911.

## SUMMARY

## APPLICATION OF PROBIOTICS IN CHEESE MANUFACTURING – STATE AND PERSPECTIVE

Dragojlo B. Obradović<sup>1</sup>, Dragoslava D. Radin<sup>1</sup>, Predrag D. Puđa<sup>1</sup>, Anđelka Karić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of food technology and biochemistry, Faculty of Agriculture, Beograd,

<sup>2</sup>Service for development MDD PKB IMLEK

Traditionally, the most popular food delivery systems for probiotic strains have been freshly fermented milks, as well as unfermented milks with cultures added. However, in the development of functional dairy products, Cheese could offer certain advantages as delivery systems of live probiotics to the gastrointestinal tract, which is the target organ. Cheeses having a higher pH than fermented milks and providing a more stable milieu could support long-term survival. Furthermore, the matrix and high fat content of cheeses may protect the organisms during passage through the gastrointestinal tract. There are relatively few reports concerning cheese as a carrier of probiotics, even though there are small number of probiotic cheeses currently on the market worldwide. Having in mind all of these data, it is proposed that cheese could be an effective vehicle for delivery of probiotics to the consumer.

**Key words:** Probiotics • Cheese • Functional food