

<sup>1</sup> NATAŠA TUCOVIĆ  
<sup>2</sup> ZORICA RADULOVIĆ  
<sup>3</sup> ANĐELKA KARIĆ  
<sup>4</sup> MIRAN ČUK  
<sup>2</sup> NENAD IPAČ  
<sup>2</sup> DRAGOJLO OBRADOVIĆ

<sup>1</sup> MDD IMLEK, mlekara Vršac  
<sup>2</sup> Poljoprivredni fakultet,  
 Beograd  
<sup>3</sup> MDD IMLEK, služba razvoja  
<sup>4</sup> MTC Slovenija

637.354.82:637.047

## PRIMENA PROBIOTIKA U PROIZVODNJI EDAMSKOG SIRA

Paralelno sa povećanjem proizvodnje funkcionalne hrane povećava se i interes za proizvode koji sadrže probiotike. Neprikosnoveni lider u toj oblasti su sigurno fermentisana mleka ali i ostali prehrambeni proizvodi, među koje spadaju i sirevi, sve više privlače pažnju. Poznato je da postoje velike razlike među namirnicama u pogledu održavanja vijabilnosti ćelija probiotika i ste strane sirevi ispunjavaju čitav niz kriterijuma za neophodnih za preživljavanje probiotskih sojeva. Prema tome imajući u vidu pH sireva, oksidoredukcioni potencijal, hemijski sastav, strukturu, puferska svojstva neosporno je da sirevi mogu biti dobri vektori za prenos probiotika. Iz tog razloga u ovom radu je primenjena starter kultura koja se sastojala od FD-DVS DCC-240 i probiotske kulture FD DVS *Bifidobacterium lactis* BB-12 i FD DVS *Lactobacillus acidophilus* La 5 u proizvodnji edamskog sira.

**Ključne reči:** probiotici • edamski sir • vijabilnost • funkcionalna hrana

### UVOD

Proizvodnja visoko kvalitetne funkcionalne hrane sa pojedinim sojevima koji pripadaju vrstama laktobacila i bifidobakterija predstavlja veoma komple-

ksan 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 nestarterske mikroflore (6). S tim u vezi sve veće interesovanje privlači mogućnost primene probiotika u proizvodnji sireva (8, 11). Neosporna je činjenica da pH, sadržaj masti, oksidoredukcioni potencijal i uslovi skladištenja predstavljaju solidan preduslov za produženu vijabilnost ćelija probiotika u određenim sirevima. Kod sireva se pH kreće u rasponu 4,8–5,6 što je bitna razlika u odnosu na fermentisana mleka gde je pH 3,7–4,3 što opet s druge strane pogoduje preživljavanju probiotika a naročito bifidobakterija koje su veoma senzitivne na povećanje kiselosti. Isto tako zrenje polutvrdih i tvrdih sireva, koje traje nekoliko nedelja ili meseci, odvija se pod skoro anaerobnim uslovima što pogoduje mikroaerofilnim i anaerobnim ćelijama probiotika. Pored toga struktura sirnog testa kao i relativno visok sadržaj masti doprinose boljoj zaštiti probiotika prilikom prolaska kroz gastrointestinalni trakt (7).

Međutim jedan od ključnih preduslova za uspešnu primenu probiotika jeste težnja da se izmene u tradicionalnom tehnološkom procesu proizvodnje izbegnu ili svedu na minimum,

što bi nesumnjivo snažno pospešilo ekspanziju ovakvih proizvoda. Ovo je sigurno jedan od razloga što je broj podataka o primeni probiotika u proizvodnji sireva ograničen.

Kod proizvodnje polutvrdih i tvrdih sireva vrlo bitna svojstva su momenat dodavanja probiotika i procenat preživljavanja nakon dogrevanja gruš. 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 (9). S druge strane ima podataka o vise nego uspešnoj primeni kod čedra, ementalera i gaude (8, 10, 4, 5, 3, 14, 15, 2). 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 ćelija u stolici kod osoba koje su konzumirale ove sireve (13). Imajući sve ovo u vidu u ovom radu je ispitano u kojoj je meri u našim uslovima moguća primena probiotika za proizvodnju edamskog sira.

### MATERIJAL I METODE

Proizvodnja sira je vršena primenom standardne tehnologije u mlekari Vršac, MDD Imlek. Pasterizovanom mleku (4644 l) ohlađenom na 31,5°C dodata je kultura FD-DVS DCC-240 (CHR Hansen) i probiotske kulture FD

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

DVS *Bifidobacterium lactis* BB-12 (CHR Hansen) i FD DVS *Lactobacillus acidophilus*, La 5 (CHR Hansen). Za proizvodnju je korišćeno sirilo u prahu Hanilase L 2235 (CHR. Hansen). Nakon formiranja i sečenja gruša odliveno je 2300 l surutke a dodato 1200 l tople vode t 43°C tako da je dogrevanje gruša vršeno na 38°C i konačni pH je iznosio 6,47. Presovanje je trajalo 1,20 min, a pH pogača je iznosio 5,64. Salamurenje je vršeno u bazenima (t salamure 13°C), a finalni pH pogača je bio 5,38. Ispitivanje broja ćelija navedenih sojeva vršeno je u određenim intervalima u toku roka trajanja navedenog sira. Broj ćelija *Lactobacillus acidophilus* određivan je na MRS-IM agaru sa 10% rastvora maltoze (20%) a inkubacija je anaerobna (Gas Pack, BBL) na 37°C u toku 3 dana. Broj ćelija *Bifidobacterium lactis* na je na MRS-IM agaru sa 10% rastvora maltoze (20%) plus: 0,5% rastvora A – 0,01 % dikloksalina, 1% rastvora B – 10% litijum hlorid, 0,5 rastvora C – 10% cistein hidrohlorida. Inkubacija je bila kao i u prethodnom slučaju.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Proizvodnja sira je vršena sa koncentrovanim kulturama za direktnu inokulaciju tako da je koncentracija probiotskih bakterija koje su dodate mleku bila je veća od  $0,5 \cdot 10^{10}$  a nakon presovanja pogača iznosila je  $3,7 \cdot 10^7$  za *Lactobacillus acidophilus* La 5 i  $2,9 \cdot 10^6$  za *Bifidobacterium lactis* BB 12. Na ovaj način se postiže visoka koncentracija probiotika mleku što je i preduslov za adekvatno prisutvo probiotika u finalnom proizvodu. Isto tako primenjena kultura DCC 240 pripada generaciji najnovijih kultura koje brzo vrše fermentaciju uz istovremeno produkovanje arome čime se u određenom stepenu sprečava pojava gorkog ukusa (12). Rezultati dinamike vijabilnosti primenjenih sojeva *Bifidobacterium lactis* BB-12 i *Lactobacillus acidophilus* La 5, čija je probiotska aktivnost u brojnim istraživanjima dokazana (1), prikazani su na grafikonu 1.

Iz grafikona se jasno vidi da je stepen preživljavanja ćelija probiotika u prvih 120 dana bio veći od  $10^6$  čime su apsolutno ispunjeni kriterijumi o minimalnoj koncentraciji probiotika koja dovodi do željene probiotske aktivnosti. Iz navedenih podataka jasno je da

su najveći padovi, kada je u pitanju soj *L. acidophilus* La 5, bili nakon 15 i 120 dana odnosno vrednosti su varirale od  $7,5 \cdot 10^7$  do  $0,54 \cdot 10^5$ . Kod soja bifidobakterija drastičan pad od 1,2 log je zabeležen tek posle 120 dana a vrednosti su varirale od  $6,77 \cdot 10^6$ – $5,0 \cdot 10^5$ . Ako se navedeni podaci uporede sa literarnim može se zapaziti da je kod tvrdog italijanskog sira Canestrato Pugliese posle 2 meseca broj ćelija *B. bifidum* bio u granicama  $10^6$  a *B. longum*  $10^5$  pri čemu su početne koncentracije iznosile  $10^7$  (3). Kod proizvodnje gaude sa *Bifidobacterium* Bo i sojem *Lactobacillus acidophilus* broj ćelija laktobacila je nakon 9 nedelja opao za 2 log a bifidobakterija za 1 log (10). Kod čedra proizvedenog iz mikrofiltriranog obranog mleka uz dodatak pavlake fermentisane sa *Bifidobacterium infantis* broj navedenih bakterija je bio veći od  $10^6$  i posle 4 meseca a metabolitska aktivnost ovih bakterija bila zapažena u toku celog perioda zrenja pri čemu nije došlo do odstupanja u senzornim karakteristikama (4).

Jedan od najvećih komercijanih uspeha probiotika u proizvodnji sireva jeste primena LGG (*L. rhamnosus*) soja kao dopunske kulture kod ementalera sa manjim sadržajem masti proizvedenog u Finskoj. Koncentracija LGG kulture u zreloom GEFILUS siru bila je  $>10^7$  cfu/g što je veća vrednost u odnosu na broj ćelija startera. Ementaler proizveden sa istom kulturom se pojavio ove godine i u Belgiji. Sve ovo ukazuje da primena probiotika u sirarstvu ima perspektivu. Pri tome je neophodno voditi

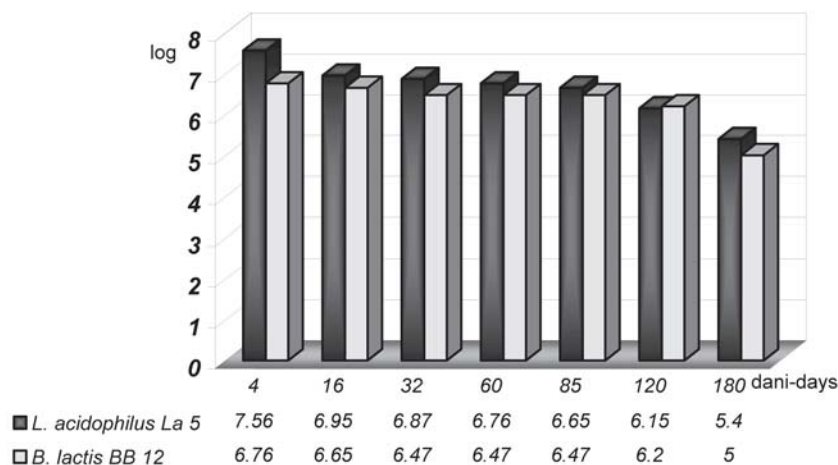
računu o koncentraciji inokuluma, stepenu preživljavanja u toku zrenja, međusobnom uticaju sa primenjenim starterom a da istovremeno ne dođe do odstupanja u senzornim karakteristikama. Kada je u pitanju ovo poslednje edamer proizveden u mlekari Vrsac je posedovao sva ona svojstva koja se traže od kvalitetnog sira.

## ZAKLJUČAK

U ovom trenutku, i pored nekoliko komercijalnih proizvoda, primena probiotika u proizvodnji sireva se nalazi u početnoj fazi. Međutim neosporno je da sirevi imaju određene prednosti kao nosači probiotika a to su viši pH, sadržaj masti kao i zaštita prilikom prolaza kroz gornje regije gastrointestinalnog trakta, a isto tako anaerobni uslovi u sirnom testu predstavljaju povoljnu sredinu za razviće navedenih bakterija. Ova ispitivanja su to potvrdila i edamski sir se pokazao kao dobar vektor za održavanje probiotika, pri čemu je koncentracija ćelija navedenih sojeva i nakon 4 meseca bila veća od  $10^6$  što predstavlja graničnu vrednost za ispoljavanje pozitivnih zdravstvenih efekata.

## LITERATURA

1. Anon (2004): Probiotic effects of *Bifidobacterium lactis* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus*, La 5, an overview, ed. CHR. Hansen.
2. Boylston, T.D., Vinderola, C.G., Ghodoussi H.B. and Reihemer, J.A. (2004): *Incorporation bifidobacteria into cheeses, challenges and rewards*. International Dairy Journal, 14, 375–387.



Slika 1. DINAMIKA VIJABILNOSTI ĆELIJA (log cfu/g) PROBIOTSKIH SOJEVA U EDAMSKOM SIRU

Figure 1. VIABILITY (log cfu/g) OF PROBIOTIC STRAINS IN EDAM CHEESE

3. Corbo, M. R., Albenzio, M., De Angelis, M., Sevi, A., & Gobbetti, M.(2001). *Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bi.dobacteria*. J. of Dairy Sci., 84, 551-561.
4. 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.
5. Dinakar P. & Mistry V.V. (1994): *Growth and viability of Bifidobacterium bifidum in cheddar cheese*. J. Dairy Sci. 77, 10, 2854-2864.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Ghoddusi H.B. and R.K. Robinson(1996): *The test of time*. Dairy Ind. Int., 61, 25
10. 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.
11. Obradović, D., Radin, D., Puđa, P. Karić, A.(2003): *Primena probiotika u proizvodnji sireva-stanje i perspektive*. Preh. Ind. 1-2, 7-11.
12. Petersen, M.H. (2003): *New generation of starter cultures for continental cheeses*. European Dairy Congress Ljubljana, presentation.
13. Saxelin, M. (2002): LGG Summatim, Valio Ltd. 48.
14. Stanton C. And Ross P.(1999): *New probiotic cheddar cheese*. End of project report 1999, DPRC No. 29.
15. Vinderola C.G., Prosello W., Ghilberto D. and Reinhelmer 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

<sup>1</sup>Nataša Tucović, <sup>2</sup>Zorica Radulović, <sup>3</sup>Anđelka Karić, <sup>4</sup>Miran Čuk, <sup>2</sup>Nenad Ipač, <sup>2</sup>Dragojlo Obradović

<sup>1</sup>MDD IMLEK, Dairy Vršac, <sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Belgrade, <sup>3</sup>Service for development MDD IMLEK, <sup>4</sup>MTS Slovenija

Traditionally, the most popular food delivery system for probiotic strains has been freshly fermented milk, as well as unfermented milk with cultures added. However, in the development of functional dairy products, cheese could offer certain advantages as a delivery system of live probiotics to the gastrointestinal tract, which is the target organ. Limited research on the incorporation of probiotic bacteria to different types of cheeses has shown that cheese is a viable carrier of these bacteria. However, in order to reach that target, viable cell count of 10<sup>6</sup> cfu/g for the probiotic in the final product may require some technological changes both in selection of the appropriate species and strains, and in supporting the cells to maintain their viability throughout storage before consumption. Our results have shown that this is possible in the case of Edam cheese which could be used as an adequate carrier of probiotic bacteria. The cultures of bifidobacteria, *L. acidophilus*, and DCC 240 used in a combination, demonstrated satisfactory survival during 120 days. In all cases, final numbers of viable cells were still above the levels suggested to produce their claimed health benefits.

**Key words:** probiotics • Edam cheese • viability • functional food