Industrijska proizvodnja probiotičkih mliječnih napitaka

Horvat, Sandra

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:772866

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Sandra Horvat

Industrijska proizvodnja probiotičkih mliječnih napitaka

završni rad

Osijek, 2014.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Završni rad

Industrijska proizvodnja probiotičkih mliječnih napitaka

Nastavni predmet

Tehnologija prerade sirovina animalnog podrijetla

Predmetni nastavnik: prof. dr.sc. Jovica Hardi

Studentica: Sandra Horvat (MB: 3704/12)

Mentor: prof. dr.sc. Jovica Hardi

Predano:

Pregledano:

Ocjena: **Potpis mentora:**

_____ _____

INDUSTRIJSKA PROIZVODNJA PROBIOTIČKIH MLIJEČNIH NAPITAKA

SAŽETAK

Fermentirani mliječni napitci su proizvodi koji imaju puno veću hranjivu i zdravstvenu vrijednost od svježeg mlijeka. Znatno su probavljiviji zbog djelomično razgrađenih sastojaka mlijeka pod utjecajem enzima mikrobnih kultura i nastalih metabolita tijekom fermentacije. Mliječni proizvodi fermentirani probiotičkim bakterijama imaju dodatnu zdravstvenu vrijednost. Naime, uslijed ubrzanog tempa života, stresa, korištenja antibiotika i raznih drugih lijekova, kod ljudi može doći do poremećaja ravnoteže crijevne mikroflore. Tada se smanjuje broj korisnih bakterija, dok istovremeno raste broj bakterija čiji produkti metabolizma mogu biti toksični i izazvati probavne probleme. Probiotičke bakterije, od kojih su najčešće one iz rodova *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, dobro preživljavaju prolaz kroz probavni sustav ljudi, a kad se žive nađu u crijevima, mogu rekolonizirati probavni trakt i ponovno uspostaviti crijevnu mikrofloru. Popularnost probiotičkih mliječnih napitaka sve je veća, ne samo zbog njihovih organoleptičkih svojstava, već i zbog nutritivne vrijednosti i zdravstvenog učinka.

Ključne riječi: fermentirani mliječni napitci, probiotičke bakterije, nutritivna vrijednost

PRODUCTION OF FERMENTED DARY PRODUCTS

SUMMARY

Fermented milk beverages are products that have a much higher nutritional value of than milk. They are much easier to digest due to partly decomposed milk constituents by enzyme microbial cultures and metabolites produced during fermentation. Dairy products has been fermented with probiotic bacteria and it proposed to have additional health value. Namely, due to the accelerated pace of life, stress, use of antibiotics and various other drugs in humans may disturb the balance of intestinal microflora. It reduce the number of beneficial bacteria, while the number of simultaneously increasing in the number of bacteria whose metabolic products can be toxic and cause digestive problems. Probiotic bacteria, some of which are commonly those of the genera *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, can survive digestive pathway in humans, and may recolonize digestive tract and re-establish intestinal microflora. The popularity of probiotic dairy products is increasing, trend not only because of their organoleptic properties, but also because of the nutritional value and impact to the health.

Key words: fermented milk beverages, probiotic bacteria, nutritional value

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. POVIJESNI OSVRT NA RAZVOJ FERMENTIRANIH MLIJEČNIH NAPITAKA 3
3. PROBIOTICI, PREBIOTICI I SIMBIOTICI 5
   - 3.1. Pojam crijevne mikroflore 5
   - 3.2. Probiotici i njihovo djelovanje 5
     - 3.2.1. Vrste probiotika 6
       - 3.2.1.1. Laktobacili 7
       - 3.2.1.2. Bifidobakterije 9
     - 3.2.2. Povoljni učinci probiotika 10
   - 3.3. Prebiotici 11
   - 3.4. Simbiotici 11
4. MLIJEČNO-KISELA FERMENTACIJA 12
   - 4.1. Homofermentativni put laktoze u mliječnu kiselinu 12
   - 4.2. Podjela i glavne vrste fermentiranih mliječnih napitaka 13
   - 4.3. Uloga mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline 13
   - 4.4. Uloga termofilne kulture bakterija mliječne kiseline 14
   - 4.5. Uloga terapijske kulture bakterija mliječne kiseline 15
   - 4.6. Mješovite kulture bakterija mliječne kiseline i kvasaca 15
5. PROIZVODNJA FERMENTIRANIH MLIJEČNIH NAPITAKA 16
   - 5.1. Odabir mlijeka 17
   - 5.2. Standardizacija mlijeka 17
   - 5.3. Homogenizacija mlijeka 18
   - 5.4. Toplinska obrada mlijeka 18
   - 5.5. Inokulacija mlijeka 19
   - 5.6. Inkubacija mlijeka 19
   - 5.7. Hlađenje i pakiranje proizvoda 21
   - 5.8. Čuvanje proizvoda 21
6. FERMENTIRANI PROBIOTIČKI MLIJEČNI NAPITCI 23
   - 6.1. Kefir 23
     - 6.1.1 Kultura za proizvodnju kefira 23
   - 6.2. Kumis 24
     - 6.2.1. Kultura za proizvodnju kumisa 24
   - 6.3. Acidofilno mlijeko 25
   - 6.4. Probiotički jogurt b.Aktiv LGG 26
7. ZAKLJUČAK 28
8. LITERATURA 29

1. UVOD

Fermentirani mliječni proizvodi poznati su ljudima već nekoliko tisuća godina. Od davnina se opisuju kao potencijalni lijek za razne poremećaje rada probavnog sustava. Tradicionalni procesi fermentacije mlijeka znanstveno su istraženi kako bi se razjasnile promjene tijekom fermentacije i omogućila izolacija, klasifikacija i proizvodnja mikrobnih kultura, te da bi se omogućila industrijska proizvodnja fermentiranih mliječnih proizvoda ujednačene kvalitete.

Fermentacija se općenito može definirati kao proces koji dovodi do biokemijskih promjena organskih sastojaka djelovanjem enzima mikroorganizama (oksidacijsko-redukcijske reakcije), najčešće bez kisika (katkad i u njegovoj prisutnosti), uz oslobađanje energije. Proces mliječno-kiselog vrenja laktoze mlijeka u mliječnu kiselinu djelovanjem enzima bakterija mliječne kiseline vrlo je složen i odvija se postupnom razgradnjom laktoze, pri čemu nastaju brojni među proizvodi i energija.

Fermentirano mlijeko ima puno veću hranjivu i zdravstvenu vrijednost od svježeg mlijeka. Otprilike je dvaput probavljivije zbog djelomice razgrađenih sastojaka mlijeka pod utjecajem enzima mikrobnih kultura i nastalih metabolita tijekom fermentacije. Nastala mliječna kiselina potiče sekreciju sluzi i korisnih enzima, te udvostručuje resorpciju Ca, P i Mg, a potiče probavu masti i ostalih hranjivih tvari. Osim toga, fermentirano mlijeko održava ravnotežu normalne crijevne mikroflore (inhibira rast štetne, a potiče rast korisne), te posjeduje terapijska svojstva u slučaju nekih bolesti probavnog sustava, dijareje i alergijskih reakcija, ali preporučuje se i osobama netolerantnim na laktozu.

Razne vrste fermentiranih mlijeka proizvode se zahvaljujući odabiru mikrobnih kultura i mnogih funkcionalnih dodataka koji posjeduju određena terapijska svojstva. Prednost imaju proizvodi s probiotičkim bakterijama (uz minimalno 10^6 živih stanica/mL, a taj terapijski minimum za svaku prisutnu vrstu mora se zadržati u probiotiku tijekom navedenoga ukupnog roka trajanja), pogotovo sa sojevima kojima su već odavno klinički dokazana mnoga terapijska svojstva, osobito za normalizaciju crijevne mikroflore i jačanje imuniteta. Posebna je prednost probiotičkih bakterija što dobro preživljavaju u ljudskom probavnom sustavu, povećavaju

aktivnost enzima važnih za probavu, a smanjuju aktivnost fekalnih enzima i onih koji sudjeluju u kancerogenim procesima. Osim toga, konzumiranjem proizvoda odabrani sojevi probiotičkih bakterija, osobito uz prebiotike, mogu obnoviti ili uspostaviti cjelovitu crijevnu mikrofloru koja je često oštećena ili poremećena zbog ubrzanog ritma života, stresa ili nakon infektivnih bolesti, kemoterapije i slično. Tada postaje vrlo važna uloga unosa živih probiotičkih bakterija koje stimuliraju imunološki sustav ljudskog organizma.

Bitno je istaknuti, ako se dulje vrijeme u ljudski organizam unosi dovoljno veliki broj živih bakterija mliječne kiseline ili bifidobakterija (oko 10^9 CFU/dnevno), izoliranih iz probavnog sustava može se očekivati povoljan učinak na zdravlje (iznad granica normalne prehrane). Danas se fermentirano mlijeko često obogaćuje i nekim drugim funkcionalnim dodacima koji poboljšavaju njegovu terapijsku vrijednost u borbi protiv mnogih bolesti.

2. POVIJESNI OSVRT NA RAZVOJ FERMENTIRANIH MLIJEČNIH NAPITAKA

Francuski kemičar Louis Pasteur (1822.-1895.) dokazao je da fermentacija nastaje djelovanjem mikroorganizama, a da je za pojedini tip vrenja odgovorna određena vrsta. Pasteur otkriva bakterije mliječno-kiselog vrenja (1857.), uzročnike alkoholnog vrenja (kvasce) (1858.) i bakterije maslačnog vrenja (1861.). Ustanovio je (1860.-1864.) da se djelovanjem topline mikroorganizmi mogu uništiti (pojam pasterizacije) i da se tako može spriječiti nekontrolirano vrenje. Razvoj biokemije, mikrobiologije i tehnologije omogućio je da se fermentacija mlijeka provodi pomoću odabranih mikroorganizama poznatih karakteristika i da se u kontroliranim uvjetima mogu proizvoditi fermentirana mlijeka željenih senzorskih svojstava.

Iako je od davnine najproučavaniji fermentirani napitak jogurt, on postaje popularan tek krajem 19. i početkom 20. stoljeća. Njegova se popularnost djelomično može objasniti znanstvenim otkrićima Tissiera i Moroa, te Metchinkoffa. 1984. godine znanstvenici Goldin i Gorbach su iz humanog organizma izolirali soj *Lactobacillus rhamnosus* (tzv. LGG). Tissier je izolirao *Bacillus bifidus communis* (danas poznat kao *Bifidobacterium bifidum*), mikroorganizam koji je dominantan u fecesu dojenčadi hranjene majčinim mlijekom, dok je Moro, otprilike u istom periodu, iz stolice dojenčadi hranjene majčinim mlijekom izolirao *Bacillus acidophilus* (danas poznat kao *Lactobacillus acidophilus*). Otkriće Tissiera da bifidobakterije imaju ključnu ulogu u djece hranjene majčinim mlijekom utemeljilo je hipotezu da su takve specifične bakterije važne u očuvanju zdravlja. 1906. godine Tissier je ukazao na kliničke prednosti modificirane mikrobne populacije u dojenčadi s probavnim infekcijama. On je tvrdio da u dojenčadi, koja pati od dijareje, uzimanjem *Bacillus bifidus* bifidobakterije dolazi do kompetativne ekskluzije patogenih bakterija. Metchinkoff je naveo blagotvorno djelovanje bakterija mliječne kiseline *Bulgarian bacillus* (kasnije preimenovan u *Lactobacillus bulgaricus*). Blagotvorno djelovanje jogurta na dugovječnost bez starenja potvrđena je i kod Kavkažana, koji takve proizvode konzumiraju u velikoj mjeri. Japanski liječnik Shirota svoja je istraživanja fokusirao na selekcionirani soj intestinalne bakterije (soj *Lactobacillus casei*) koja preživljava prolaz kroz probavni sustav. Istraživanja Tissera, Moroa i Metchinkoffa pobudila su veliki interes znanstvenika i liječnika o korisnom djelovanju određenih mikroorganizama koji mogu kolonizirati ljudski probavni trakt i eventualno u njemu inhibirati mikroorganizme koji proizvode toksine. Iako je došlo do prave

poplave znanstvenih studija o ljekovitoj djelotvornosti bakterija mliječne kiseline iz fermentiranih mlijeka, sve do prve polovice prošlog stoljeća nije se znalo da *Lb. acidophilus* bolje kolonizira ljudski probavni trakt i tamo se razmnožava za razliku od bakterija standardnih jogurtnih kultura *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Za bakterije probavnog sustava tako je usvojen naziv „probiotičke bakterije“, a potiče od grčke riječi „probios“ što znači „bitne za život“. Brojne istraživačke studije u tom području, te spoznaje vezane uz zdravstveni boljitak ljudi uzrokovan konzumiranjem fermentiranih mlijeka djelomično su utjecale na povećanje potrošnje takvih proizvoda u mnogim zemljama.

3. PROBIOTICI, PREBIOTICI I SIMBIOTICI

3.1. Pojam crijevne mikroflore

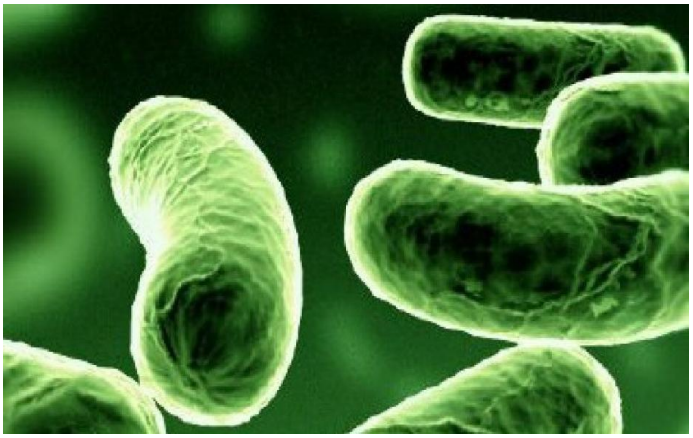
Gastrointestinalni sustav predstavlja složeni ekosustav u kojem se uspostavlja ravnoteža između domaćina i crijevne mikroflore koju čine fakultativni i obvezatni anaerobi. Približno 95% crijevne bakterijske populacije kod ljudi čine obvezatni anaerobi poput *Bifidobacterium, Clostridium, Eubacterium, Fusobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus i Bacteroides*, dok 1 do 10% crijevne populacije čine fakultativni anaerobi poput *Lactobacillus, Escherichia coli, Klebsiella, Streptococcus, Staphylococcus i Bacillus*. Aerobni mikroorganizmi nisu prisutni kod zdravih osoba s iznimkom *Psedomonasa* koji je prisutan u vrlo maloj količini. Većina bakterija je prisutna u debelom crijevu s bakterijskom koncentracijom od 10^{11} do 10^{12} CFU na mililitar. Crijevna mikroflora je važna za sazrijevanje imunološkog sustava, razvoj normalne crijevne morfologije, održavanje kroničnog i imunološki posredovanog upalnog odgovora, održavanje funkcije crijevne sluznice, obranu od alergena, te pomaže u prevenciji od pričvršćivanja patogenih mikroorganizama.

3.2. Probiotici i njihovo djelovanje

Probiotik je po definiciji živi mikrobni dodatak hrani koji pozitivno utječe na domaćina kroz poboljšanje balansa probavne mikroflore. Probiotici se danas često dodaju mliječnim proizvodima, posebice fermentiranim mliječnim proizvodima, mlijeku i siru. Bakterijske kulture koje se najčešće koriste u takvim proizvodima su one iz rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*.

Selekcija probiotičkih bakterija vrši se prema nekoliko kriterija, a osnovni su: sigurnost, mogućnost preživljenja u hrani i tijekom prolaska kroz gastrointestinalni sustav, te potencijalni terapijski i/ili preventivni učinak na određene bolesti. Znanstveno je dokazano da se konzumacijom proizvoda s probioticima može djelovati preventivno na nastanak dijareje, ublažiti tegobe dijareje, ali i uspješno terapijski tretirati oboljela djeca. Najveći broj istraživanja i studija u vezi zdravstvenog djelovanja probiotika rađen je upravo na akutnim dijarejama (proljevima) izazvanim rotavirusom. Ispitivanja su još 1990. započeli dr. Isolauri i suradnici, dokazavši da se obogaćivanjem standardne terapije bakterijom *Lactobacillus rhamnosus* GG smanjilo vrijeme trajanja i oštrina ovog neugodnog, često kod djece i fatalnog oboljenja. Veliki

broj znanstvenih istraživanja pokazao je da se konzumiranjem probiotika smanjuje učestalost putničkih proljeva. Budući da probiotici potiskuju rast i aktivnost patogenih bakterija u debelom crijevu, smanjuje se i razina nepoželjnih probavnih nusproizvoda i spojeva koji mogu uzrokovati rak debelog crijeva. Razmatraju se i potencijalni pozitivni učinci na alergije, konstipaciju sindrom iritabilnog kolona, te povoljan učinak na razinu kolesterola.



Slika 1 Probiotici

Probiotici pomažu u uspostavljanju ravnoteže (između tzv. „dobrih“ i „loših“ bakterija) u našim crijevima, jer mikroflora može postati poremećena uslijed bolesti, stresa, starenja, uzimanja antibiotika ili drugih lijekova, izlaganja toksinima, prekomjernoj konzumaciji alkohola, te čak i kod korištenja antibakterijskih sapuna. Probiotičke vrste kompetitivno inhibiraju stvaranje toksičnih supstancija i rast manje poželjnih vrsta natječući se za prostor i hranu. Dosadašnja znanstvena istraživanja upućuju da probiotici ne mogu zamijeniti uništenu prirodnu tjelesnu floru, međutim kao privremene kolonije mogu pomoći organizmu obavljajući iste funkcije kao prirodna flora, dajući prirodnoj flori dovoljno vremena da se oporavi. Probiotičke vrste se potom ubrzano zamjenjuju prirodno nastalom crijevnom florom.

3.2.1 Vrste probiotika

Najčešće korišteni probiotici su različite vrste roda *Bifidobacterium* (normalni stanovnici debelog crijeva, izolirano 30 vrsta) i *Lactobacillus* (normalni stanovnici crijeva i vagine, izolirano 56 vrsta) poput:

- *Bifidobacterium bifidum*
- *Bifidobacterium breve*
- *Bifidobacterium infantis*

- *Bifidobacterium longum*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus* GG.

Ostale vrste: *Lactococcus, Saccharomyces* (probiotički kvasac), *Enterococcus.*

Jogurt-bakterije, ali bez probiotičkog učinka:

- *Lactobacillus bulgaricus*
- *Streptococcus thermophilus.*

Ipak, najistraženiji probiotik je *Lactobacillus rhamnosus* GG, kojeg su bostonski mikrobiolozi Goldin i Gorbach izolirali 1985. godine iz ljudskog probavnog trakta i nazvali ga prema svojim inicijalima (LGG).

3.2.1.1. Laktobacili

Vrsta *Lactobacillus acidophilus* smatra se jednom od najznačajnijih probiotičkih bakterija roda *Lactobacillus .*
Lactobacillus acidophilus:

- izolirana iz probavnog trakta
- striktno homofermentativna
- mikroaerofilna (niska koncentracija kisika)
- pojedinačni štapići, oblik štapića: 0,6 do 0,9 μm x 1,5 do 6,0 μm
- tvori dugačke lance
- bolje iskorištava saharozu u odnosu na laktozu
- dobro podnosi kiselu sredinu
- dobro raste kod pH > 4
- proizvodi mliječnu kiselinu, vitamine, folnu kiselinu te antibiotike.

Slika 2 Lactobacillus acidophilus

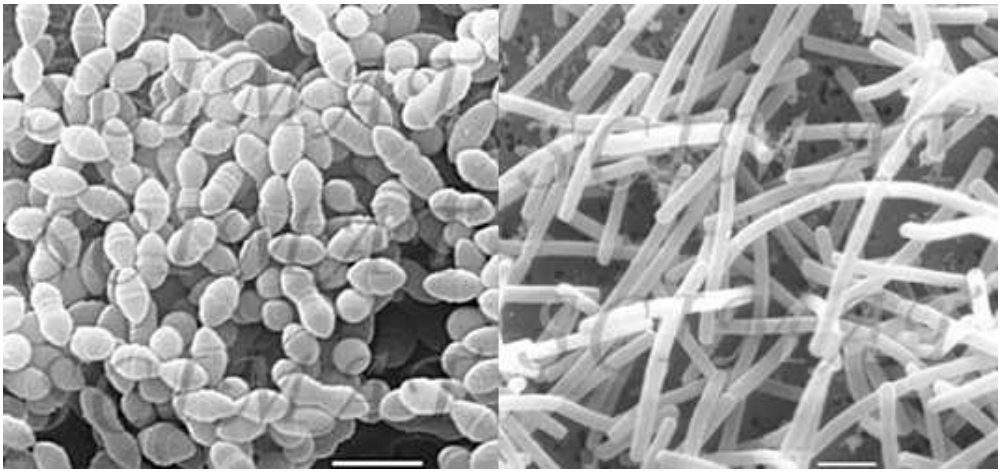
Lactobacillus acidophilus i *Lactobacillus delbrueckii* subsp*. bulgaricus* se koriste u proizvodnji acidofilnog mlijeka, inokuliraju se u sterilno mlijeko, a fermentacija se odvija kod 37 °C i traje sve dok se mlijeko ne zgruša.

Laktobacili su nesporogeni, G+, neflagelirani štapići ili kokobacili. Mogu biti aerotoleranti ili anaerobi, sa striktnim fermentativnim metabolizmom . Klasična podjela laktobacila zasniva se na njihovim fermentacijskim karakteristikama:

1. obvezno homofermentativnim
2. fakultativno heterofermentativnim
3. obvezno heterofermentativnim .

Iako su probiotička svojstva bakterija *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* spp. dobro poznata zbog prilično sporog rasta tih bakterijskih kultura u mlijeku ove bakterije nisu poželjne u mljekarskoj industriji, osobito zbog nedostatka okusa nastalog proizvoda. Da bi to izbjegli, u praksi se vrlo često te probiotičke bakterije kombiniraju s tipičnim mljekarskim bakterijama, najčešće s bakterijama jogurtne kulture, kako bi se skratilo vrijeme fermentacije i poboljšao okus proizvoda. Najčešće se koristi mješovita kultura s bakterijom *Streptococcus thermophilus* kao što je ABT-5 kultura.

Najčešće se koriste vrste: *thermophilus*, *lactis*, *diacetylactis*. One uglavnom stvaraju mliječnu kiselinu. Njihovo jako kiseljenje i razlaganje proteina najčešće omogućuje rast bakterija koje tvore aromu.

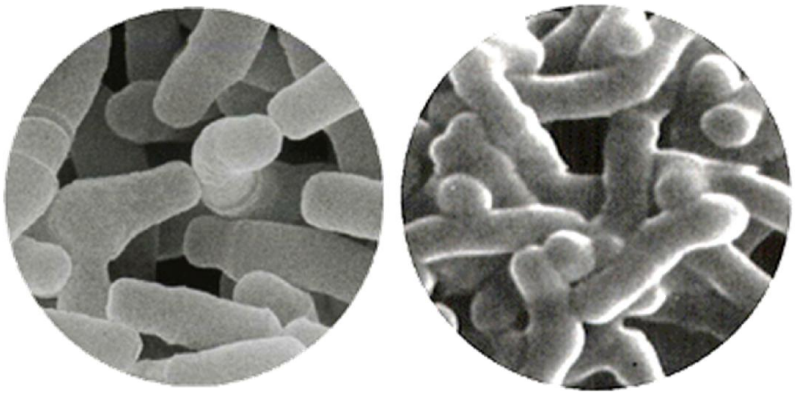


Slika 3 *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii*

3.2.1.2. Bifidobakterije

Bifidobakterije su štapićaste, fakultativno anaerobne, termofilne, G+, nepokretne, nesporogene bakterije. Bifidobakterije su osobito dominantan bakterijski rod prisutan u debelom crijevu zdravih ljudi. Optimalno rastu pri pH 6 do 7, a optimalna temperatura za rast je 37 do 41 °C, maksimalna 43 do 45 °C, a pri nižim temperaturama od 25 do 28 °C ne rastu. Zbog povoljnog učinka na crijevnu populaciju, vrste *B. longum, B. bifidum i B. lactis se* koriste u fermentaciji mliječnih proizvoda i farmaceutskih pripravaka.

Potrebno je napomenuti kako svaka vrsta (ali i soj) bifidobakterija posjeduje jedinstvena tehnološka svojstva: brzinu rasta, proizvode metabolizma, proteolitičku aktivnost i aromu fermentiranog proizvoda.



Slika 4 *Bifidobacterium longum* i *Bifidobacterium bifidum*

3.2.2. Povoljni učinci probiotika

Probiotici prvenstveno utječu na poboljšanje imunološke funkcije, održavanje normalne crijevne mikroflore, te preveniranje infekcije. Osim tih povoljnih učinaka na ljudski organizam, u mnogim istraživanjima je dokazan pozitivan utjecaj na specifične funkcije organizma. Budući da bakterije mliječne kiseline pretvaraju laktozu u mliječnu kiselinu, probiotici (ali opet samo određeni sojevi) mogu pomoći osobama s intolerancijom na laktozu da lakše konzumiraju određene namirnice.

U laboratorijskim testiranjima neki sojevi kao npr. *Lactobacillus bulgaricus* su pokazali antimutagena svojstva tako da vežu heterociklične amine koji su karcinogeni i koji se formiraju u nekim namirnicama. U većini testiranja kod ljudi je zapaženo da neki sojevi smanjuju aktivnost enzima β-glukuronidaza , a čija aktivnost u probavnom traktu generira karcinogene. Općenito u populacijskim studijama je zapažena niža incidencija karcinoma kolona kod populacija koje konzumiraju mnogo fermentiranih proizvoda.

Studije na životinjama su pokazale da *Lactobacillus acidophilus* smanjuje resorpciju kolesterola. U studijama na ljudima primijećena je mala redukcija ukupnog LDL kolesterola, ali samo kod ljudi s normalnim vrijednostima.

Smatra se da ima nekoliko dobrih učinaka na imunološku funkciju i to kompetitivnom inhibicijom patogena (natječu se za mjesto rasta), povećavaju broj plazma stanica koje produciraju IgA, povećavaju ili poboljšavaju fagocitozu, te povećavaju broj T-limfocita i prirodnih stanica ubojica. Smanjuju učestalost respiratornih infekcija, zubnog karijesa, pomažu kod akutne dijareje, rotavirusa kod djece i putne dijareje kod odraslih.

Antibiotic associated diarrhea tj. dijareja za vrijeme ili nakon uzimanja antibiotika je posljedica disbalansa u crijevnoj flori uslijed antibiotika koji su djelovali i na nju i na ciljane patogene. Antibiotici mijenjaju metabolizam ugljikohidrata i dolazi do smanjene absorpcije masnih kiselina s kratkim lancima i osmotskog proljeva kao posljedice. Osim toga na prazan prostor mogu se naseliti i neke patogene bakterije kao što je *Clostridium difficile*. Probiotici skraćuju vrijeme dijareje i smanjuju gubitak težine i danas se sve više propisuju uz antibiotsku terapiju. Probiotici moduliraju upalni i hipersensitivni odgovor kroz regulaciju funkcije citokina, te imaju povoljan učinak na prevenciju recidiva upalne bolesti crijeva.

3.3. Prebiotici

Za povećanje broja probiotičkih bakterija u probavnom sustavu, stimulaciju rasta i metaboličku aktivnost probiotičkih bakterija, jogurtu se dodaju i prebiotici.

Prebiotici se definiraju kao neprobavljivi sastojci hrane, koji u nepromijenjenom obliku dospijevaju u debelo crijevo i povoljno djeluju na rast i/ili aktivnost jedne ili više bakterijskih vrsta i time imaju povoljan zdravstveni učinak. Jednostavno rečeno, oni su hrana za probiotike.

Jedan od najpopularnijih prebiotika je inulin. Pomaže olakšavanju začepljenosti, boljoj apsorpciji kalcija i magnezija, stimulaciji imunosustava, sprječavanju intestinalnih infekcija, a moguća je i prevencija karcinoma. U prebiotike se još ubrajaju i fruktooligosaharidi i galaktooligosaharidi. Voće, osobito banane, također djeluju poput prebiotika, međutim, što je zrelije to je njihovo djelovanje slabije, pa se preporuča jesti što svježije voće.

Prebiotici prolaze kroz želudac i tanko crijevo nepromijenjeni i tek u debelom crijevu podliježu potpunoj fermentaciji od strane točno određenih bakterija (bifidobakterije, laktobacili). Anaerobnom fermentacijom prebiotika nastaju kratkolančane masne kiseline (octena, propionska i maslačna) koje snižavaju pH u debelom crijevu i time onemogućuju rast nepoželjnih bakterija, a pospješuju rast svih pozitivnih bakterija, od kojih se izdvajaju bifidobakterije kao najvažnije. Osim toga kratkolančane masne kiseline imaju važnu, pozitivnu ulogu za optimalan rad epitelnih stanica kolona i apsorpciju iona kalcija, magnezija i željeza. Osim ovog jedinstvenog učinka prebiotika, prebiotici potiču rast svih pozitivnih bakterija. Bifidobakterije (dominantna mikroflora probavnog trakta u novorođenčadi) su nepobitno važne za razvoj imunološkog sustava u djece, a time i vrlo važne u prevenciji i/ili liječenju mnogih bolesti (akutni proljev u djece, crijevne infekcije).

Kombinacija probiotičkih mikroorganizama i prebiotičkih sastojaka hrane poznata je pod imenom simbiotik. Ta kombinacija može stabilizirati i/ili poboljšati probiotički učinak pa su simbiotici koristan biološki pripravak u prevenciji gastrointestinalnih bolesti ljudi ili životinja.

3.4. Simbiotici

Probiotici su uglavnom aktivni u tankom crijevu, dok su prebiotici u debelom crijevu, a njihova kombinacija ima sinergistički efekt. Odgovarajuća kombinacija pre- i pro-biotika naziva se

simbioticima. Simbiotički pripravci su prehrambeni proizvodi koji na različite načine pozitivno utječu na zdravlje čovjeka te predstavljaju temelj funkcionalne hrane. Kombinacija probiotika i prebiotika može stabilizirati i poboljšati probiotički učinak.

Nova studija pokazuje da kombinacija probiotika i prebiotika može poboljšati kvalitetu života osoba oboljelih od ulceroznog kolitisa. U studiji je sudjelovalo 120 volontera podijeljenih u 3 skupine. Prva je skupina dobivala suplement probiotika, druga suplement prebiotika, dok je treća skupina dobivala kombinaciju probiotika i prebiotika, tj. simbiotik. Nakon 4 tjedna indvidualna suplementacija probioticima, odnosno prebioticima nije dovela do značajnog poboljšanja kvalitete života, za razliku od suplementacije simbioticima koja se pokazala vrlo uspješnom terapijom za osobe s ulceroznim kolitisom.

4. MLIJEČNO-KISELA FERMENTACIJA

Proces mliječno-kisele fermentacije laktoze u mliječnu kiselinu odvija se djelovanjem bakterija mliječne kiseline uslijed čega postupnom razgradnjom laktoze nastaju brojni međuprodukti i energija.

4.1. Homofermentativni put laktoze u mliječnu kiselinu

Bakterije mliječne kiseline (BMK) ne koriste laktozu mlijeka izravno, nego ju s pomoću laktoza-permeaze provode u svoju stanicu gdje s pomoću β-galaktozidaze (laktaze) cijepaju u glukozu i galaktozu. Neke BMK koriste fototransferazni sustav prijenosa laktoze koja tada ulazi u stanicu u obliku laktoza-fosfata gdje se cijepa pomoću enzima fosfo-β-D-galaktozidaze na glukozu i galaktoza-6-fosfat. Glukoza se dalje razgrađuje putem glikolize gdje se preko međuprodukata prevodi u piruvat. Redukcijom piruvata uz aktivnost laktat-dehidrogenaze nastaje mliječna kiselina (laktat). Ovaj put fermentacije laktoze u mliječnu kiselinu naziva se homofermentativni put laktoze u mliječnu kiselinu, a provode ga homofermentativne bakterije mliječne kiseline. Ove bakterije proizvode uglavnom mliječnu kiselinu (barem 90%) i vrlo malu količinu ostalih međuprodukata : diacetila, acetoina (acetilmetil karbinol), acetaldehida, etanola, te octene, maslačne, propionske i mravlje kiseline i druge tvari koje utječu na svojstvenu aromu proizvoda.

Heterofermentativne bakterije mliječne kiseline glukozu razgrađuju koristeći pentoza-fosfatni put prije EMP puta glikolize. Zbog toga proizvode manje količine mliječne kiseline (barem 50%),

a znatnije udjele ostalih proizvoda: hlapive kiseline (octena), nehlapive, karbonilne spojeve, etanol i CO_2, određujući više aromu proizvoda.

4.2. Podjela i glavne vrste fermentiranih mliječnih napitaka

- prema vrsti sirovine – fermentirano mlijeko, fermentirana stepka, fermentirano vrhnje
- prema vrsti vrenja (i primijenjenoj mikrobnoj kulturi)

    - mliječno-kiselo vrenje (bakterije mliječne kiseline)
    - mliječno kiselo / alkoholno vrenje (bakterije mliječne kiseline i kvasci)
    - mliječno kiselo vrenje / naknadno zrenje plijesni

- prema konzistenciji – vrlo tekući, pitki, tekući viskozni, ugušćeni, kruti, zamrznuti, u prahu
- prema dodacima – obični, aromatizirani, voćni, pjenušavi, vitaminizirani, desertni.

4.3. Uloga mezofilne kulture bakterija mliječne kiseline

Mezofilna kultura bakterija mliječne kiseline sastavljena je od homofermentativnih vrsta bakterija *Lactococcus* (noviji način za mliječne vrste bakterija *Streptococcus*, osim bakterije *Streptococcus thermophilus* koja je zadržala svoj naziv), te od heterofermentativnih bakterija *Leuconostoc*. Općenito, mezofilne bakterije mliječne kiseline rastu pri temperaturi od 10 do 40 °C, a optimalna temperatura je od 20 do 30 °C (ovisno o vrsti).

Spomenuta kultura bakterija sudjeluje u sljedećim procesima:

- koagulacija proteina – promjena konzistencije
- vrenje laktoze – nastanak kiselina
- vrenje limunske kiseline - nastanak tvari arome: diacetila, aldehida i CO_2
- proizvodnja sluzavih tvari.

Bakterije *L. lactis* subs. *lactis* i subs. *cremoris* proizvode inhibitorne tvari : mliječnu kiselinu, H_2, O_2, hlapive tvari koje osiguravaju prevlast željenih vrsta bakterija u mješovitoj kulturi, te tvari poput antibiotika – nizin koji ima inhibitorno djelovanje na bakterije roda *Enterococcus, Staphylococcus, Clostridium* i *Listeria.*

Tablica 1 Osobine i uloga mezofilnih bakterija mliječne kiseline

Mezofilne bakterije	Optimalni rast	Tip vrenja	Mliječna kiselina	Vrenje citrata	Potiče tvorbu
Lactococcus lactis subsp.*lactis*	oko 30 °C	homofermentativni	L(+) 0,5-0,8 %	+/-	kiselina (+ sluzave tvari
Lactococcus lactis subsp.*cremoris*	25 do 30 °C	homofermentativni	L(+) 0,5-0,8 %	-	kiselina (+ sluzave tvari
Lactococcus lactis subsp.*diacetylactis*	oko 30 °C	homofermentativni	L(+) 0,3-0,6 %	+	kiselina+tvari arome, CO_2
Leuconostoc spp.	20 do 25 °C	heterofermentativni	D(-) 0,1-0,2 %	+	tvari arome, CO_2

4.4. Uloga termofilne kulture bakterija mliječne kiseline

Termofilne kulture bakterija mliječne kiseline se optimalno razmnožavaju pri višim temperaturama (od 37 do 45 °C) i znatno brže proizvode kiselinu nego mezofilne bakterije. Tipična aroma fermentiranih mliječnih napitaka nastala djelovanjem termofilne kulture bakterija mliječne kiseline, tj. vrenjem mliječnog šećera potječe uglavnom od mješavine mliječne kiseline i karbonilnih spojeva, a najviše od karbonilnih spojeva.

Termofilne kulture bakterija mliječne kiseline sastavljene su od sojeva homofermentativnih vrsta bakterija *Lactobacillus* i *Streptococcus*. Upotrebljavaju se kao monokulture ili najčešće kao mješovite kulture uglavnom u proizvodnji jogurta i sličnih tipova fermentiranih mliječnih napitaka, a sastavljene su od bakterija „jogurtne kulture“ : *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Tablica 2 Osobine i uloga termofilnih bakterija mliječne kiseline

Termofilne bakterije	Optimalni rast	Tip vrenja	Mliječna kiselina	Proteolitički enzimi	Potiče tvorbu
Streptococcus thermophilus	40-45 °C	homofermentativni	0,6 do1%	+	laktata (L+) (tvari arome)
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus*	40-50 °C	homofermentativni	1,5 do2%	+	laktata (D-) (tvari arome)

4.5. Uloga terapijske kulture bakterija mliječne kiseline

Neke bakterije mliječne kiseline su dio mikrobne populacije probavnog sustava ljudi i životinja, te sudjeluju u njihovom metabolizmu. Od pojedinih vrsta iz rodova: *Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus* i *Propionibacterium*, samo se određene bakterije mliječne kiseline koje su izolirane iz probavnog sustava ljudi koriste za proizvodnju fermentiranih mliječnih napitaka. Posebno mjesto pripada fermentiranim mliječnim napitcima proizvedenim s odabranim sojevima bakterija *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium bifidum.*

Važne karakteristike odabranih sojeva bakterija:

- termofilne bakterije, osjetljive na kiselinu, poželjan dodatak promotora rasta
- neki sojevi tih bakterija proizvode sluzave tvari - poboljšavaju viskoznost proizvoda
- slaba proteolitička aktivnost
- proizvodnja inhibitornih tvari s bakteriostatskim i baktericidnim djelovanjem.

Tablica 3 Osobine i uloga odabranih bakterija mliječne kiseline probavnog sustava

Odabrane bakterije	Optimalni rast	Tip vrenja	Mliječna kiselina	Potiče tvorbu	Proteolitička aktivnost
Lactobacillus acidophilus	37 °C	homofermentativni	0,6-0,9%	mliječna (L,D ili DL)	vrlo slaba
Bifidobacterium bifidum	37 - 41 °C	heterofermentativni	0,4-0,9%	mliječna (L)+ octena	vrlo slaba

4.6. Mješovite kulture bakterija mliječne kiseline i kvasaca

Mješovite kulture, sastavljene od bakterija mliječne kiseline i kvasaca koriste se za proizvodnju kefira i kumisa kod kojih, zbog sastava kulture dolazi do mliječno-kiselog i alkoholnog vrenja.

U osnovnu mikrofloru kefirnih zrnaca uključene su različite vrste:

Vrste bakterija mliječne kiseline:

- *Lactococcus* spp.: *Lactococcus lactis* subsp.*lactis, Lactococcus lactis* subsp.*cremoris*
- *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei*
- *Leuconostoc* spp.: *Leuconostoc mesenteroides* subsp.*mesenteroides.*

Kvasci:

- *Candida kefyr*
- *Sacharomyces* spp.
- *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*
- *Torulospora delbruecki.*

5. PROIZVODNJA FERMENTIRANIH MLIJEČNIH NAPITAKA

Gotovo su iste glavne faze tehnološkog procesa proizvodnje fermentiranih mlijeka, bez obzira na vrstu proizvoda, a različita je uglavnom količina suhe tvari (ili mliječne masti) upotrijebljene sirovine ili vrsta primijenjene kulture. Bitno je proizvesti fermentirano mlijeko standardne kvalitete s karakterističnim senzorskim svojstvima, te provoditi kontrolirano vrenje u optimalnim uvjetima.

Odabir i obrada sirovine su najvažnije faze tehnološkog procesa proizvodnje fermentiranog mlijeka željene kvalitete:

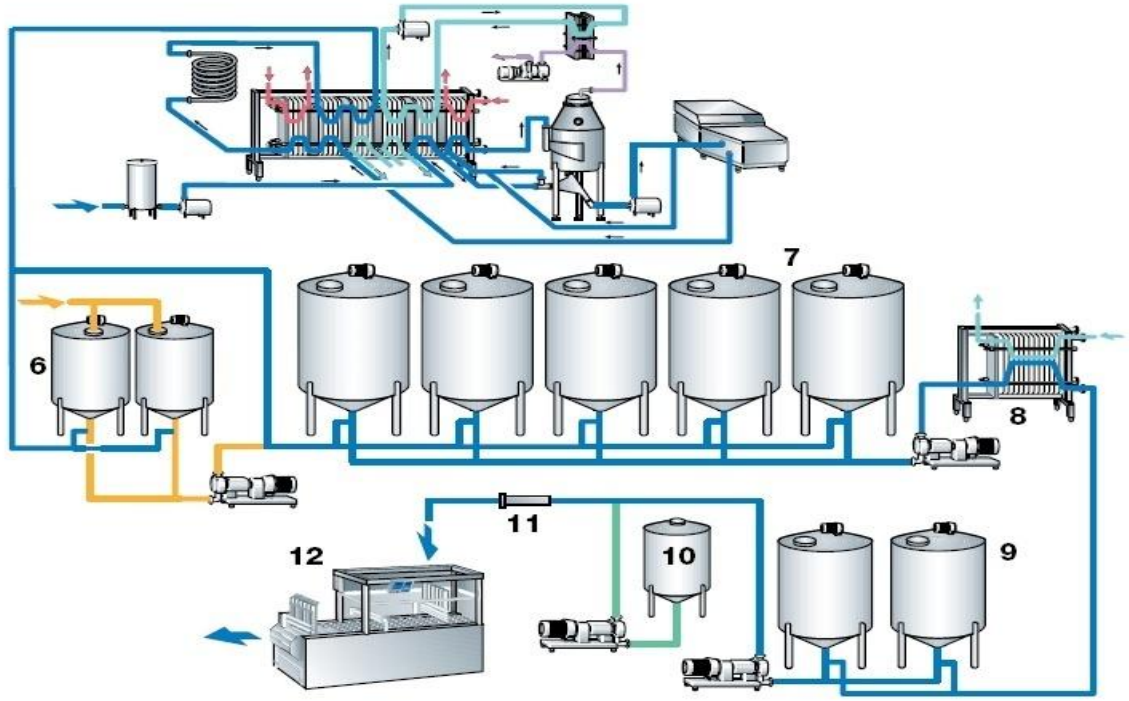
- standardizacija suhe tvari i mliječne masti
- obvezna homogenizacija
- visoka toplinska obrada.

Vrsta mikrobne kulture utječe na glavne značajke proizvoda, a određuje uvjete vrenja:

- temperatura unkubacije
- vrijeme trajanja inkubacije.

Što je temperatura inkubacije niža, dulje je vrijeme trajanja vrenja, što ovisi i o količini i aktivnosti kulture, te o vrsti mikrobne kulture. Pri uporabi mezofilne kulture, u kojih su niže optimalne temperature rasta bakterija ili kvasaca (20 do 30 °C), vrijeme inkubacije je vrlo dugotrajno (npr. kumis, kefir, kiselo mlijeko). Pri uporabi termofilne kulture (37 do 45 °C) inkubacija traje puno kraće (npr. jogurt), dok pri uporabi terapijske kulture (37-40°C) inkubacija opet može trajati puno dulje (mnogi probiotici), naročito uz primjenu monokulture.

Provedba glavnih faza u tehnološkom postupku proizvodnje odnosi se na bilo koje fermentirano mlijeko, jedino se mijenjaju početna sirovina, mikrobna kultura i uvjeti vrenja.



1-5 Priprema mlijeka za proizvodnju jogurta, 6 Tankovi s kulturom, 7 Tankovi za inkubaciju, 8 Pločasti hladnjak, 9 Pufer tankovi, 10 Tank za voće/aromu, 11 Mješač, 12 Pakiranje

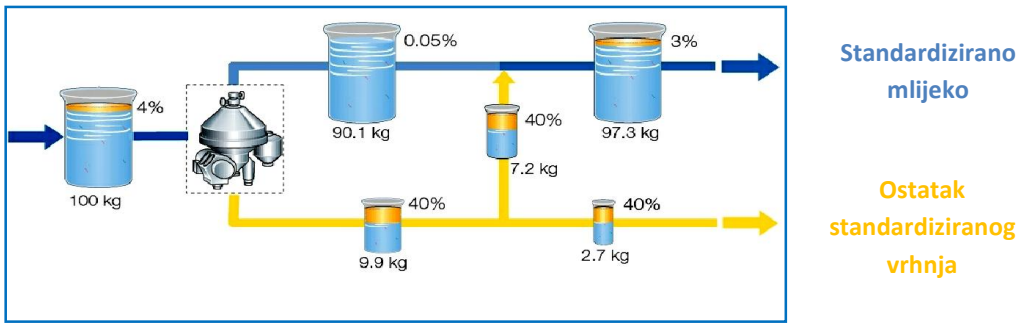
Slika 5 Shema linije proizvodnje fermentiranih mliječnih napitaka

5.1. Odabir mlijeka

U proizvodnji fermentiranih mlijeka treba odabrati mlijeko najbolje mikrobiološke kakvoće koje ne smije sadržavati antibiotike, kemijska sredstva i pesticide iznad dopuštenih granica, kao ni bakteriofage. Prema standardnim propisima mlijeko za proizvodnju fermentiranih napitaka ne smije sadržavati manje od 8,5% suhe tvari bez masti, a kiselost ne smije biti viša od 6,8 °SH ili niža od pH 6,5.

5.2. Standardizacija mlijeka

Standardizacijom se omogućava optimalni sadržaj suhe tvari i proteina u mlijeku što poboljšava konzistenciju proizvoda i hranjivu vrijednost. Provodi se separacijom mliječne masti na separatoru ili dodavanjem vrhnja. Novije mogućnosti provođenja standardizacije uključuju i primjenu ultrafiltracije.



Slika 6 Princip standardizacije masti u mlijeku

5.3. Homogenizacija mlijeka

Homogenizacija je postupak usitnjavanja i ujednačavanja veličine globula mliječne masti pod utjecajem visokog tlaka. U proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda prijeko je potrebna jer osim glavnog cilja- usitnjavanja i raspodjele mliječne masti utječe i na:

- povećanje viskoznosti i poboljšanje konzistencije fermentiranog proizvoda (homogenizacijom se globule mliječne masti usitnjavaju i apsorbiraju na micele kezeina što povećava viskoznost i ukupni efektivni volumen suspendiranih tvari)
- poboljšanje teksture gruša(glatka, bez pojave grudica) uz smanjeno izdvajanje sirutke (slabija sinereza proizvoda jer dovodi do djelomične denaturacije proteina sirutke te povećanja hidrofilnosti kazeina i kapaciteta vezanja vode zbog ineterakcije: protein - protein i kazein - globule masti)
- puniji okus proizvoda te bjelija boja (veća površina mliječne masti)
- poboljšanje probavljivosti proizvoda (sitnije globule masti i nježniji koagulum).

5.4. Toplinska obrada mlijeka

Toplinska obrada kao osnovni cilj ima uništenje patogenih mikroorganizama i što većeg broja saprofitnih mikroorganizama, te njihovih enzima. Provodi se pasterizacija mlijeka pri 90 °C, u trajanju od 5 do 10 minuta.

U proizvodnji fermentiranih mlijeka visoka toplinska obrada može utjecati na sljedeće pojave:

- denaturacija proteina sirutke i interakcija s kapa kazeinom te poboljšanje hidrofilnih svojstava proteina (veća sposobnost vezanja vode)
- oslobađanje SH-skupina (uglavnom iz B-laktoglobulina) koje pridonose karakterističnom okusu proizvoda i antioksidativnim svojstvima proizvoda
- djelomična hidroliza kazeina (otpuštanje glikopeptida od kapa kazeina), te blago povećanje slobodnih aminokiselina i peptida u proizvodu
- pretvorba aminokiselina u tvari arome
- preraspodjela Ca, Mg i P između koloidnih i topljivih oblika modifikacijom površinske strukture micela kazeina (kraće trajanje koagulacije mlijeka)
- smanjenje količine otopljenog kisika, dušika i CO_2 u mlijeku (mikroaerofilni uvjeti za rast mikrobne kulture).

Proteini sirutke pripojeni na kazein inhibiraju nakupljanje micela kazeina u mlijeku, te nakon vrenja nastaje povezana ali rastresita mreža proteina što otežava odvajanje sirutke. Time se povećava stabilnost i viskoznost stvorenog homogenog koaguluma.
Nakon toplinske obrade mlijeko se mora ohladiti na temperaturu pogodnu za inokulaciju i inkubaciju mikrobne kulture.

5.5. Inokulacija mlijeka

Inokulacija mlijeka provodi se određenim udjelom mikrobne kulture pri temperaturi optimalnoj za rast kulture, uz intenzivno miješanje. Proizvođači kultura obično navode potrebnu količinu inokuluma za određeni volumen mlijeka, ovisno o vrsti ponuđene kulture.

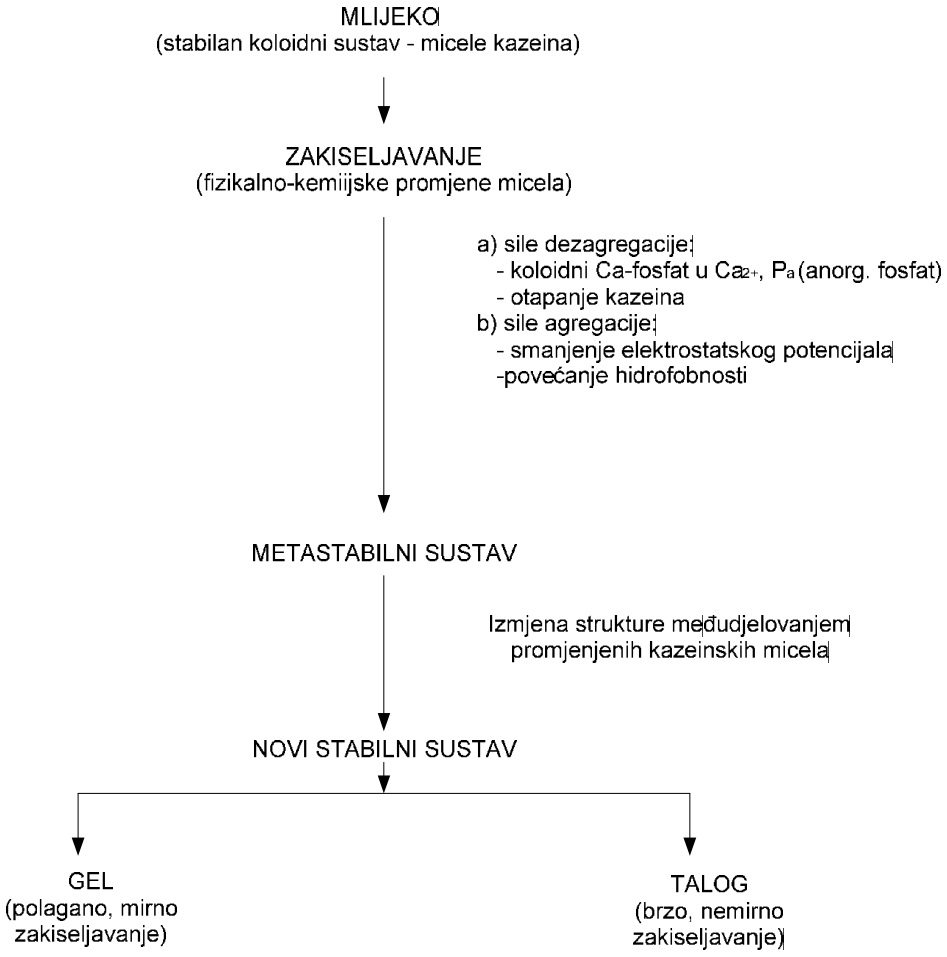
Prema Pravilniku o mlijeku i mliječnim proizvodima, mikroorganizmi starter kulture u proizvodu moraju biti aktivni do isteka roka valjanosti ili roka upotrebe proizvoda.

5.6. Inkubacija mlijeka

Inkubacija mlijeka i fermentacija se provode u spremniku za vrenje, prije punjenja u ambalažu, na temperaturi od 20 do 25 °C do oblikovanja čvrstog koaguluma. Trajanje inkubacije ovisi o temperaturi, te količini i aktivnosti dodane kulture, najčešće do 20 sati uz blago miješanje svaka 2 do 3 sata. Tijekom vrenja mlijeka nastala kiselina (mliječna i ostale) koja potiče glavne fizikalno- kemijske promjene micele kazeina:

- otapanje gradivnog koloidnog Ca-fosfata i Ca-kazeinata u topljivu kalcij-fosfatnu frakciju (Ca-laktat + topljivi Ca-fosfat)
- neutralizacija negativnog naboja micele i dehidratacija kazeina.

Te promjene micela tijekom zakiseljavanja mlijeka utječu na promjenu stabilnosti kazeinskog sustava koji daljnjim izmjenama strukture (metastabilni sustav) dovodi do agregacije micela te novog stabilnog stanja – oblikovanja trodimenzionalne „mreže gela“ – koaguluma mlijeka, pri pH vrijednosti izoelektričnog kazeina (pH oko 4,6). Postupno zakiseljavanje je vrlo važno za oblikovanje pravilne mreže gela jer brzo i nemirno zakiseljavanje dovodi do taloženja gruša (kao pri izravnom zakiseljavanju, npr u proizvodnji sira).



Slika 7 Tijek vrenja i oblikovanje gela

Nakon oblikovanja koaguluma dovoljne čvrstoće fermentirani proizvod se crpkom prebacuje u pločasti izmjenjivač topline gdje se hladi.

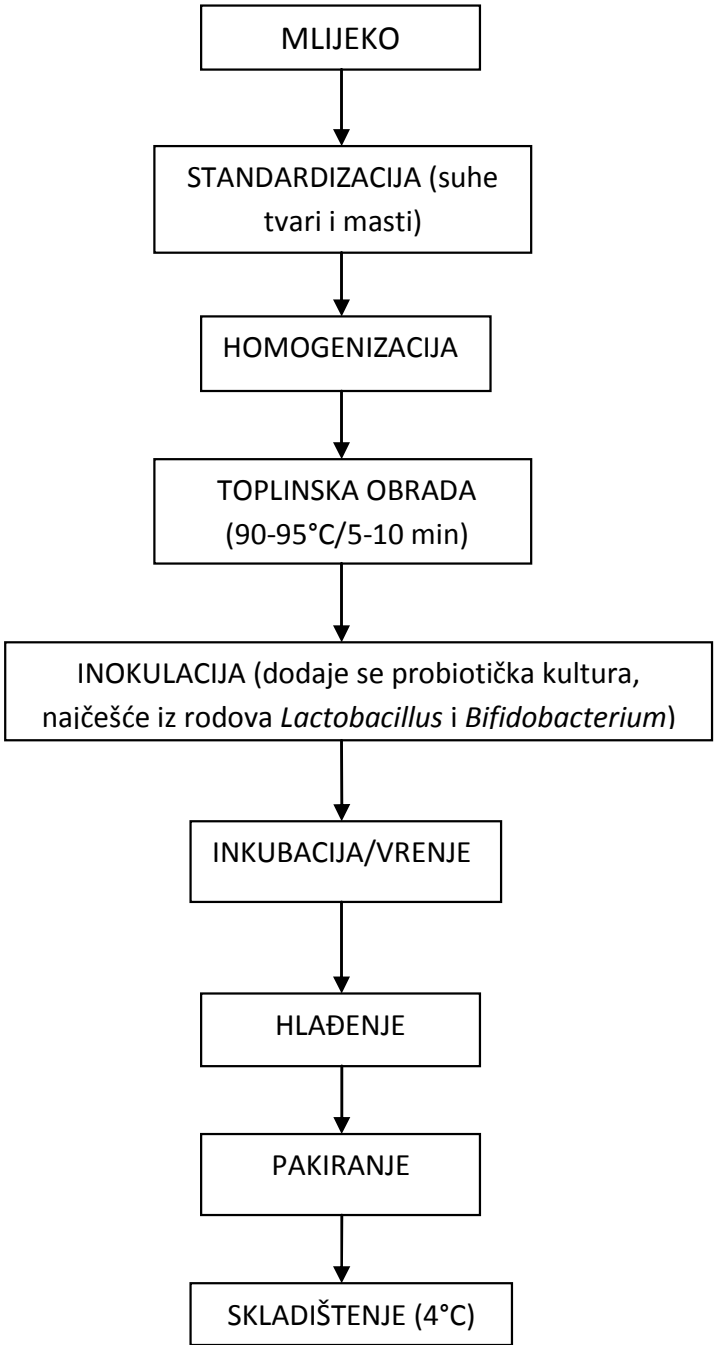
5.7. Hlađenje i pakiranje proizvoda

Produljenjem optimalnog trajanja fermentacije i povećane kiselosti, te utjecaja temperature vrenja moglo bi doći do stezanja nastalog gela i izdvajanja sirutke na površinu fermentiranog napitka. Da bi se izbjegle ovakve i slične promjene preporuča se hlađenje proizvoda u pločastim izmjenjivačima topline. Hlađenje se mora provoditi pažljivo jer prenaglo hlađenje također dovodi do sinereze. Hlađenje se sastoji od dvije faze: prvo hlađenje na 8 do 10 °C, oko 12 sati, te završno hlađenje ambalažiranog proizvoda na ispod 5 °C u hladnom skladištu.

Pakiranje fermentiranih mliječnih napitaka se obično provodi u plastične čašice koje se zatvaraju aluminijskim poklopcem ili u kartonsku ambalažu, ali u oba slučaja hermetički u aseptičkim uvjetima.

5.8. Čuvanje proizvoda

Čuvanje fermentiranih mliječnih napitaka od proizvodnje do potrošnje ponekad može trajati i do tri tjedna, a obuhvaća hladno skladištenje proizvoda u mljekari, lanac distribucije i čuvanje u kućanstvu. Za čuvanje svih vrsta fermentiranih mlijeka treba osigurati niže temperature (od 4 do 8 °C) kao što su u hladnjaku i vitrinama u prodajnom lancu. Do roka trajanja (označenog na ambalaži) fermentirani je mliječni proizvod obično najbolje kvalitete, ali se može čuvati i dulje – sve dok se senzorska svojstva (okus, miris, konzistencija, boja i opći izgled) ne promijene.



Slika 8 Shema proizvodnje probiotičkih mliječnih napitaka

6. FERMENTIRANI PROBIOTIČKI MLIJEČNI NAPITCI

6.1. Kefir

Kefir je mliječno-kiseli alkoholni napitak dobiven djelovanjem bakterija mliječne kiseline, kvasaca i bakterija octene kiseline u mlijeku. Kefir je najstariji proizvod s pozitivnim učinkom na zdravlje koji ima tisućljetnu tradiciju, podrijetlom s Kavkaza, a izvorno se proizvodio od ovčjeg mlijeka, a kasnije od kravljeg i kozjeg mlijeka. Naziv potječe od turske riječi „kef-ir“, što znači napitak za uživanje. Kada dulje stoji, kefir miriše na kvasac (germu), zbog toga što bakterije mliječno-kiselog vrenja tijekom fermentacije proizvode velike količine B vitamina. Vitamini B kompleksa, osobito B3 (niacin), sprječavaju upalu i atrofiju sluznica, osiguravaju rast i razvoj novih epitelnih stanica zajedno s provitaminom A i beta karotenom.

Proizvod nastaje djelovanjem kefirnih zrnaca, koje je prema legendi Muhamed dao ortodoksnom narodu. Muhamed je strogo zabranio da se tajna pripreme kefira daje van ortodoksne zajednice ili će, kako je rekao, zrnca izgubiti svoju magičnu moć. Možda je upravo zbog toga tajna pripreme kefira držana tako dugo u tajnosti. Tradicionalni kefir se radio u kožnim vrećicama. Mlijeko se ulijevalo jednom dnevno nakon čega je slijedila spontana fermentacija. Bio je običaj da se vreća objesi blizu vrata tako da je svatko tko ulazi ili izlazi gurne s ciljem da se tekućina pomiješa. Konačan proizvod je imao visok stupanj kiselosti i varirajući udio CO_2 i alkohola. Danas se kefir proizvodi u komercijalne svrhe diljem svijeta, a posebno je zastupljen u zapadnom dijelu Europe. U mnogim zemljama je zastupljena i tradicionalna domaća proizvodnja što dovodi do povećanja konzumacije kefira i promocije dobrobiti za zdravlje. Kefir je funkcionalna hrana i ujedno probiotik. Sve je veći broj slučajeva koji su potvrdili da ovaj jedinstveni napitak može pomoći u liječenju bolesti i infekcija.

6.1.1. Kultura za proizvodnju kefira

Za pripravu kulture u proizvodnji kefira koriste se kefirna zrnca koja predstavljaju skupinu nekoliko različitih bakterija i kvasaca uklopljenih u proteinski i ugljikohidratni kompleks. To su elastične, želatinozne granule, neujednačenog oblika, promjera 2 do 15 mm, nabrane ili hrapave površine, bijele do svijetlo žute boje (ako se uklopi malo mliječne masti). Oblikom podsjećaju na cvjetaču. Grubom analizom zrnaca ustanovljeno je da su sastavljena od skupine

bakterija, kvasaca, polisaharida i proteina. Bakterijsku populaciju čine tri roda: *Lactobacillus*, *Lactococcus* i *Leuconostoc*. *Acetobacter* se često spominje kao četvrti rod, no zbog slabe prisutnosti se ponekad izostavlja.

Rodovi kvasaca zastupljeni u mikroflori kefirnih zrnaca: *Candida*, *Sacharomyces*, *Kluyveromyces* i *Torulospora*.

Tijekom mnogih istraživanja uočena je simbioza između *Lactobacillus kefir* i *Candide* pri čemu *Candida* potpomaže rastu *Lactobacillusa* dok bakterije nisu stimulirale rast kvasaca. Spomenuta simbioza omogućava osiguravanje uniformiranosti i strukture tokom cijele godine tako da kefirna zrnca i kefir ostanu stabilni unatoč varijacijama u kvaliteti mlijeka i potencijalnoj prisutnosti antibiotika i drugih tvari.

Slika 9 Kefir, Vindija

6.2. Kumis

Kumis je fermentirani napitak sličan kefiru, podrijetlom iz Azije, a najviše se proizvodi u Rusiji. Izvorno se proizvodio od kobiljeg mlijeka (s prosječno 1,5% mliječne masti, 1,2% kazeina i 6,5% mliječnog šećera), a kasnije i od kravljeg mlijeka koje se usklađuje sa sastavom kobiljeg mlijeka za kojeg se drži da ima terapijska svojstva.

6.2.1. Kultura za proizvodnju kumisa

U pripravi kulture za proizvodnju kumisa koristi se mješavina termofilnih bakterija mliječne kiseline (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbruecki* ssp. *bulgaricus*) i kvasaca (*Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* ili var. *lactis*). Toplinski obrađeno te tipizirano mlijeko (prema uzoru na kobilje) cijepi se s 10 do 30% mješovite kulture za kumis te inkubira pri 26 do 28°C do postizanja željene kiselosti i količine alkohola (0,6 do 1% mliječne kiseline i 0,7 do 2,5% alkohola).

Nakon vrenja koagulum kumisa hladi se na 15 do 17°C i snažno miješa do potizanja glatke konzistencije. Nakon „zrenja“ pri sobnoj temperaturi za nekoliko se sati akumulira CO_2 te nastaje osvježavajući pjenušavi napitak. Kumis proizveden od kobiljeg mlijeka koristi se u liječenju nekih bolesti: želučanih tegoba, kroničnog bronhitisa, oboljenja vegetativnog živčanog sustava, tuberkuloze.

Slika 10 Kumis, Alpina

6.3. Acidofilno mlijeko

Acidofilno mlijeko je fermentirani mliječni napitak koji se izrađuje od punog ili obranog mlijeka, a dodaje mu se čista kultura *Lactobacillus acidophillus*. Ova se bakterija u mlijeku vrlo sporo razmnožava, pa se u proizvodnji acidofilnog mlijeka koristi sterilizirano mlijeko. Acidofilno mlijeko blago je kisela okusa i bez karakteristična mirisa, jer *L. acidophilus* pri kiseljenju ne stvara aromatične tvari.

Tehnološki proces proizvodnje sličan je proizvodnji jogurta. Razlika je u tome što se koristi sterilizirano mlijeko i druga bakterijska kultura. Ne može se koristiti pasterizirano mlijeko jer *L. acidophillus* sporo kiseli mlijeko (6 do 8 sati), pa se za to vrijeme u pasteriziranom mlijeku mogu razviti i drugi mikroorganizmi koji ometaju pravilnu fermentaciju.

Acidofilno mlijeko spada u ljekovite vrste mliječnih proizvoda jer je dokazano da povoljno djeluje na uklanjanje crijevnih i drugih bolesti u ljudi i životinja. Brojnim istraživanjima dokazano je antagonističko djelovanje *L. acidophillus* prema enterobakterijama, pogotovo predstavnicima roda *Eshericia* i *Proteus*.

Slika 11 Acidofilno mlijeko, Vindija

6.4. Probiotički jogurt b.Aktiv LGG

Najistraženiji i najpoznatiji probiotički proizvod je onaj s bakterijom *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) , kojeg su bostonski mikrobiolozi Goldin i Gorbach izolirali 1985. godine iz ljudskog probavnog trakta i nazvali ga prema svojim inicijalima (LGG). Budući da LGG preživljava visoku kiselost u želucu i naseljava ljudska crijeva, brzo uspostavlja poremećenu ravnotežu crijevne mikroflore i pojačava prirodnu crijevnu otpornost prema patogenim mikroorganizmima (vrlo je učinkovit u sprečavanju i liječenju proljeva, ali i niza drugih poremećaja i bolesti). Terapijska dnevna doza iznosi 100 grama probiotičkog proizvoda koji sadrži od milijun do deset milijuna živih stanica LGG-a po gramu proizvoda.

Brojna znanstvena istraživanja dokazala su njegov pozitivni utjecaj na zdravlje:

- jača obrambeni sustav organizma
- zaustavlja rast patogenih mikroorganizama
- sudjeluje u uklanjanju toksina iz tijela
- utječe na sniženje lošeg (LDL) kolesterola
- sudjeluje u proizvodnji kratkolančanih masnih kiselina
- poboljšava iskorištenje i utječe na metabolizam kalcija
- obnavlja sluznicu crijeva nakon terapije antibioticima
- ubrzava oporavak od alergija
- kontrolira naseljavanje bakterije *Heliobacter pylori* na sluznicu želuca
- smanjuje učestalost pojave raka debelog crijeva.

Slika 12 b.Aktiv LGG, Dukat

7. ZAKLJUČAK

Fermentirani mliječni napitci su najpopularniji komercijalni industrijski proizvodi zbog unosa probiotičkih mikroba u ljudski probavni sustav. U ovom završnom radu dan je pregled novijih spoznaja o probiotičkim fermentiranim mliječnim proizvodima, obuhvaćen je povijesni pregled, industrijska proizvodnja fermentiranih mliječnih napitaka, komercijalni probiotički mikroorganizmi te proizvodi, njihova terapijska svojstva kao i probiotički fermentirani proizvodi od kozjeg mlijeka.

Popularnost fermentiranih probiotičkih mliječnih napitaka raste, ne samo zbog njihovog mirisa i okusa, već zbog njihovog zdravstvenog učinka. On je povezan sa probiotičkim bakterijama i istraživanja na tom području pridonijela su komercijalnoj proizvodnji startera s probiotičkim bakterijama i proizvodnju široke palete različitih fermentiranih mliječnih proizvoda koji sadrže probiotičke bakterije.

Kako bi zaštitili sluznicu želuca i ojačali imunološki sustav svima se, a posebno starijoj populaciji, preporuča kontinuirana upotreba fermentiranih mliječnih proizvoda koji sadrže probiotike i prebiotike.

8. LITERATURA

Baković I.: Praćenje stupnja sinereze tijekom čuvanja fermentiranih mliječnih proizvoda. Diplomski rad. Prehrambeno-tehnološki fakultet. Osijek, 2009.

Kovačić L, Senta A: Fermentirani mliječni proizvodi u prehrani i dijetetici. Hrvatska akademija medicinskih znanosti. Zagreb, 1996.

Rosenzwig Jukić I.: Što su probiotici?.2007. http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/10929/sto-su-probiotici.html [06.08.2014.]

Tamime A Y, Božanić R, Rogelj I.: Probiotički fermentirani mliječni proizvodi. Mljekarstvo **53** (2) 111-134, 2003.

Tratnik Lj, Božanić R.: Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb, 2012.

Tratnik Lj.: Mlijeko – Tehnologija, biokemija i mikrobiologija. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb, 1998.

Verbanac D.: Probiotici i zdravlje. http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/23475/Probiotici-i-zdravlje.html [11.08.2014.]

Vinko I. i sur.: Fermentacija mlijeka različitim mikrobnim kulturama. Mljekarstvo **61** (2), 161-167, 2011.

Volarić I.: Fermentirano mlijeko – melem za dugovječnost ljudskog organizma. http://www.hmu.hr/index.php?option=com_content&view=article&id=326&Itemid=106&lang=hr [02.08.2014.]