

KVASCI I PLIJESNI - UZROČNICI KVARENJA FERMENTIRANIH MLIJEČNIH PROIZVODA

Panza, Lea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:254324>

Rights / Prava: [In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

LEA PANZA

**KVASCI I PLIJESNI – UZROČNICI KVARENJA
FERMENTIRANIH MLIJEČNIH PROIZVODA**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET
ZAVOD ZA HIGIJENU, TEHNOLOGIJU I SIGURNOST HRANE

PREDSTOJNIK

Izv.prof.dr.sc. Nevijo Zdolec

MENTORI

Prof.dr.sc. Vesna Dobranić

ČLANOVI POVJERENSTVA ZA OBRANU DIPLOMSKOG RADA

1. prof.dr.sc. Lidija Kozačinski
2. prof.dr.sc. Željka Cvrtila
3. prof.dr.sc. Vesna Dobranić
4. dr.sc. Tomislav Mikuš (zamjena)

Zahvala

Zahvaljujem svima koji su mi pomogli pri izradi ovog diplomskog rada. Posebno se zahvaljujem mentorici prof.dr.cs. Vesni Dobranić na strpljenju i svim savjetima bez kojih ovaj rad ne bi bio moguć. Zahvaljujem se svim kolegama i kolegicama koji su mi pomogli tokom studiranja a posebno ističem kolegice Doru Skok, Yasmin Idoneu Yeoman i Ivu Novak bez kojih moje studiranje ne bi bilo moguće. Dora hvala ti što si me trpila sve one sate učenja i plakanja, da nije bilo tebe ne bih nikada završila studij. Yasmin hvala ti što si nesebično dijelila svoje skripte i zrnca mudrosti kroz ove godine, tvoji savjeti su spriječili mnoge nepromišljene pokušaje odustajanja. Iva tvoja neumoljivost i upornost bila mi je uzor svih ovih godina. Tvoja podrška mi je značila više nego što možeš zamisliti. Zahvalna sam svojim roditeljima što su financirali sve moje padove i pritom nikada izgubili vjeru u mene. Sestri zahvaljujem posebno što me tolerirala u zajedničkom suživotu i bila uz mene kad je trebalo. Hvala Vam svima!

Sadržaj

1. UVOD	4
1.1 OPĆENITO O KVASCIMA I PLIJESNIMA	5
2. KVASCI	8
3. PLIJESNI	10
4. FERMENTIRANA MLIJEKA	12
5. VRHNJE I MASLAC	13
6. SIREVI	14
7. ZAKLJUČCI	16
8. SAŽETAK	17
9. SUMMARY	18
10. POPIS LITERATURE	19
11. ŽIVOTOPIS	24

1. UVOD

Fermentirana mlijeka su namirnice koje se već tisućljećima koriste za prehranu ljudi. Postoji mišljenje da su ljudi, vjerojatno još dok su bili pretežno samo nomadi i stočari, otkrili sasvim slučajno spontanu prirodnu fermentaciju za njih je to bio način čuvanja, a time i duža održivost za razne namirnice sa ciljem da se spriječi proces truljenja i da namirnica poprimi drukčija organoleptička svojstva.

Fermentirani proizvodi od mlijeka stvar su tradicije i u raznim zemljama i kod raznih naroda su različitih imena i karakteristika. U hladnijim predjelima kao što su skandinavske zemlje za fermentaciju koriste se mikroorganizmi koji sporije dovode do grušanja i daju proizvodima poseban okus i aromu. U zemljama s toplijim klimom koriste se proizvodi za čiji fermentaciju se upotrebljavaju mikroorganizmi koji se brže fermentiraju a odlikuju se kiselošću s izraženim okusom i aromom

Fermentirani proizvodi od mlijeka pripadaju grupi konzumnih proizvoda jer imaju sve sastojke mlijeka i obično su pripremljeni tako da se mogu odmah konzumirati. Hranjiva vrijednost ovih proizvoda je jednaka kao i mlijeka ali zbog djelomične razgradnje laktoze kod osoba intolerantnih na laktozu imaju prednost. Dobivanje fermentiranih proizvoda temelji se na fermentaciji laktoze pri čemu nastaje mliječna kiselina i drugi proizvodi fermentacije kao što su diacetil, etilni alkohol, octena kiselina i drugi.

Fermentacija se odvija pod utjecajem mikroorganizama a prema karakteristikama mikroorganizama dobivaju se različiti proizvodi. U proizvodnji određenih fermentiranih mliječnih proizvoda kao starter kulture koriste se kvasci u svrhu poboljšavanja svojstva proizvoda. Osim ove pozitivne uloge oni su česti zagađivači mliječnih proizvoda kada mogu prouzročiti nepoželjne promjene kao što su izgled, miris, okus proizvoda.

Fermentirana mlijeka radi svoje niske pH vrijednosti medija koji se kreće u rasponu od 4,2 do 4,6 nisu pogodan medi za razvoj bakterija koji mogu dovesti do kvarenja proizvoda (ROSSLAND I SUR 2005.; ROBINSON I SUR., 2002., 2006.). Kisela medij koji nastaje

fermentacijom omogućava rast kvasaca i plijesni koji mogu dovesti do promjene okusa i izgleda proizvoda.

Cilj ovog rada je prikazati najčešće uzročnike kvarenja mliječnih proizvoda i neželjene promjene koje izazivaju. Također razmotriti mogućnosti kontrole izvora kontaminacije i još više ukaže na važnost njihove kontrole u mljekarskoj industriji.

1.1 OPĆENITO O KVASCIMA I PLIJESNIMA

Gljivice (fungi, miceti) predstavljaju veliku heterogenu skupinu nižeg bilja. One su vrlo rasprostranjene u prirodi. Dosad je poznato otprilike 80.000 vrsta koje su svrstane u otprilike 2.900 rodova. Zajedno s bakterijama i algama pripadaju kolu Thallophyta ili steljnjacama. Za razliku od višeg bilja u njih nije diferenciran korijen, stabljika i list, premda neke imaju oblike koji podsjećaju na te dijelove biljaka. Dok alge sadržavaju klorofil koji im služi za sintezu hranjive tvari pomoću sunčeva svjetla (fotosinteza), gljivice su aklorofilni organizmi. Stoga se služe gotovom organskom tvari iz živih ili mrtvih organizama u prirodi. Oni su prema tome heterotrofni organizmi. Gljive su mikroskopskih i makroskopskih veličina. Ove prve nazivamo gljivicama.

Kvascima nazivamo jednostanične gljivice, dok višestanične gljivice čine morfološki vrlo bogatu skupinu zvanu plijesni. Stanice gljivica slične su stanicama višeg bilja, jer posjeduju jezgru, staničnu opnu i citoplazmu s različitim (inkluzijama). Od bakterija se razlikuju višim razvojnim stupnjem. U njih postoje dva funkcionalna aparata i to vegetativni i reprodukcijski. Prema svojoj morfologiji kvasci su jednostavniji, okruglih, ovalnih ili duguljastih stanica, a plijesni su sastavljene od nekoliko ili mnogo stanica, najčešće produžena valjkasta oblika kao vlakana ili niti što ih nazivamo hife. Skup hifa čini micelij. Hife imaju pregrade (septe) ili su bez njih (neseptirane hife).

S obzirom na način razmnožavanja gljivice dijelimo na one koje se razmnožavaju: a) spolnim i b) nespornim putem. Gljivice sa spolnim načinom razmnožavanja su tzv. prave gljivice ili *EUMYCETES*, dok ostale nazivamo gljivicama sličnim organizmima. Način reprodukcije te oblici ili tipovi spora u kvasaca čine osnovu za njihovu klasifikaciju odnosno

diferenciranje. Gljivicama slični mikroorganizmi ubrajaju se u skupinu tzv. nesavršenih gljivica (fungi imperfecti).

Kvasci su većinom jednostanični organizmi. Stanice kvasaca su okrugle, jajolike, oblika limuna, štapićaste ili vlaknaste. Njihova veličina vrlo je različita, široke su od 1 do 5 mikrometara, duge 3 do 30 pa i više mikrometara. Svaka vrsta kvasaca ima svoj osnovni oblik, koji ovisi o starosti kulture ili podlozi na kojoj se razvila. Kvasci su nepokretne gljivice, odnosno oni nemaju organela za pokretanje.

Razmnožavaju se aseksualnim putem ili seksualnim stvaranjem askospora. Najčešće se razmnožavaju pupanjem tijekom kojega na opni stanice nastaje izbočenje ili izraslina u koju ulazi jezgrina tvar i citoplazma. Pup, što ga još nazivamo blastospora, povećava se dok ne dosegne približno veličinu stanice „majke“, kada se odvaja kao samostalna jedinica. Prilikom pupanja ne dolazi do tvorbe potpunog pregratka između stanice majke i novonastale stanice, kao kod diobe. Razmnožavanje pupanjem traje u jednoj populaciji ili kulturi tako dugo, dok ima optimalnih uvjeta za razvoj gljivice (dovoljno hranjivih tvari, vlage, povoljna toplina, pH i dr.).

U pravih kvasaca (sporogenih) razmnožavanje uslijedi za vrijeme pupanja ili nakon pupanja. Spore se oblikuju u stanici zvanj ask (ascus) pa ih stoga nazivamo askosporama, a kvasci koji tvore takve spore nazivaju se askosporogenima. Askosporogeni kvasci ubrajaju se zajedno s drugim askosporogenim gljivicama (plijesnima) u skupinu gljiva mješinarke (*Ascomycetes*). U asku ima po jedna do osam spora, najčešće dvije do četiri. Kvasci su u prirodi vrlo prošireni. Nalaze se posvuda gdje ima ugljikohidrata, npr. biljnim sokovima, na voću itd., ali i u tlu, a također se nalaze kao simbionti ili paraziti u različitim vrsta životinja, sisavaca, ptica, insekata i dr. Ima ih u životinjskom i probavnom sustavu, na koži, a rjeđe u drugim organima (spolnim, dišnim, u vanjskom slušnom kanalu, vimenu i dr.) Životinje uzimaju kvasce hranom, pa se njihov sastav i količina znatno mijenja. Mnogi kvasci nemaju sposobnost razmnožavanja u tijelu životinja zbog za njih nepovoljne temperature. Neki, mogu invadirati tkivo i djelovati patogeno ako im temperatura odgovara. Kvasci su, kao i mnoge plijesni, uvjetno patogeni mikroorganizmi, odnosno mogu prouzročiti bolest ako postoje za njih određeni uvjeti (smanjenje otpornosti tkiva, nestanak antagonističke mikroflore – npr. nekih bakterija).

Kvasci, slično drugim mikroorganizmima, koriste različite elemente, kao ugljik, vodik, kisik, fosfor, sumpor, magnezij i dr. Kao izvor ugljika služe im ugljikohidrati, organske kiseline i drugi organski spojevi, a bjelančevine im služe kao izvor dušika. Kisik i vodik ne služe im samo za sintezu vlastite protoplazme, već i za druge životne funkcije stanica. Fosfor ima važnu ulogu u metabolizmu stanice gljivica, a služi u izgradnji nukleoproteina, fosfolipida i dr. U metabolizmu nema nekih bitnih razlika između kvasaca i plijesni. Međutim, postoje razlike u načinu razmnožavanja. U plijesni se vegetacijsko tijelo (thallus) sastoji od skupa razgranatih hifa koje se šire po nekoj podlozi (NAGLIĆ I SUR., 2005).

2. KVASCI

Kvasci su široko rasprostranjeni u prirodi. Za mljekarstvo su značajni kvasci koji se razmnožavaju preko askospora. jer oni stvaraju enzime koji razgrađuju sastojke mlijeka. Kvasci su acidofilni i razmnožavaju se pri pH 4-5. Oni smanjuju kiselost u sredini, i stvaraju uvjete za djelovanje proteolitičkih bakterija i ubrzavaju zrenje sireva. važno je napomenuti da se kvasci rijetko kada razmnožavaju u mlijeku za vrijeme pohrane mlijeka jer njihov rast nadvlada rast psihotropnih bakterija poput *Pseudomonas spp.* (FLEET,1990; VON NEUBECK I SUR.,2015).

Mlijeko se kontaminira kvascima iz vanjske sredine. Kvasci svojim enzimima razgrađuju sastojke mlijeka pa dovode do njegovog kvarenja. Neke vrste mogu uzrokovati i mastitise. Najčešće se kao uzročnici mastitisa navode vrste iz roda *Candida* (*C.albicans*, *C tropicalois* i *Cryptococcus neoformans*).Mogu se javiti nakon antibiotke terapije mastitisa. Zabilježeno je nekoliko vrsta gljivica koje uzrokuju mastitise u krave (RICHARD I SUR.,1980; WATTS,1988; COSTA I SUR.,1993; JENSEN I AALBAEK.,1994; ELAD I SUR.,1995; SHEENA I SIEGLER, 1995; LAGNEAU I SUR., 1996).

Međutim, LAUBSCHER I VILJOEN (1999) navode opasnost od gljivica koje su najčešće prisutne u mliječnoj sredini unatoč uobičajenoj sanitaciji i upotrebi sredstva za čišćenje. Gljivice poput *Debaryomyces hansenii*, *Candida versatilis*, *Torulasporea delbrueckii* i druge otporne su na izlaganje takvim sredstvima čak i nakon 60 minuta. Prilikom ispitivanja učinkovitosti komercijalnih sredstava za čišćenje i sanitaciju u sprječavanju rasta i uništavanja gljivica niti jedno sredstvo nije se pokazao dobro. Upravo zbog toga postoji pretpostavka da se gljivice mogu razmnožavati tijekom ciklusa čišćenja i sanitacije (LAUBSCHER I VILJOEN, 1999).

Veliki broj gljivica u mliječnim proizvodima možemo pripisati njihovoj sposobnosti da rastu na niskim temperaturama, mogućnost asimilacije odnosno fermentacije laktoze, asimilacije organskih kiselina poput jantarnog laktata i limunske kiseline, lipolitičke i proteolitičke aktivnosti, niske aktivnosti u vodi, otpornosti na jako slane koncentracije i otpornosti na sredstva za čišćenje u postupku sanitacije (FLEET, 1990; LAUBSCHER I VILJOEN, 1999).

Gljivice koje su najčešće izolirane iz mliječnih proizvoda su rodova *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Yarrowia* i *Candida Kluyveromyces*. Ovi rodovi najčešće su izolirani u sirevima i jogurtu (TUDOR I BOARD, 1993), dok su vrste *Candide* (*C.lustaniae*, *C. krusei*) izolirane samo u jogurtu (DEAK I BEUCHAT, 1996). Vrste *Yarrowie* nađene su u uzocima sireva, mlijeka i jogurta te se mogu pripisati njihovim značajnim lipolitičkim i proteolitičkim aktivnostima (WELTHAGEN I VILJOEN, 1998., 1999). Voćni jogurti su posebno skloni kvarenju, a kvarenje uzrokuje *Saccharomyces cerevisiae* (FLEET, 1990; FLEET I MIAN, 1987).

Za mljekarstvo značajne su slijedeće vrste **kvasaca**:

Askosporogeni kvasci

U ovu grupu pripada rod *Saccharomyces*. Najznačajnija vrsta iz ovog roda je *Saccharomyces lactis* koji fermentira šećer i stvara alkohol.

Asporogeni kvasci

Rod *Torulopsis*

Vrste iz ovog roda razgrađuju laktozu do etanola i CO₂ i mliječnu mast do masnih kiselina. Koristi se za proizvodnju kefira jer stvaraju karakteristična organoleptička svojstva tog proizvoda.

Najznačajnije vrste iz ovog roda su: *Torulopsis sherica*, *Torulopsis casei* i *Torulopsis amara*.

Torulopsis sherica razgrađuje laktozu uz stvaranje plina. Pojavljuje se u vrhnju, siru i kondenziranom mlijeku.

Torulopsis casei se razmnožava na površini sira Camambert i sprečava rast plijesni.

Penicillium camemberti.

Torulopsis amara razgrađuje laktozu i stvara gorak ukus u siru i mlijeku. Raste u prisutstvu velikih koncentracija šećera pa u kondenziranom mlijeku razgrađuje šećer uz stvaranje plina i dovodi do nadimanja limenki.

Rod *Candida*

Kvasci iz ovog roda razgrađuju glukozu, saharozu i maltozu. Neke vrste iz ovog roda razgrađuju mliječnu mast i dovode do užeglosti maslaca. Najznačajnije vrste su *Candida nigra* koja stvara crne pjege na površini ementalera i *Candida lipolytica* koja izaziva užeglost. *Candida*

Lacticondenci raste u prisutstvu visoke koncentracije šećera. Razgrađuje laktozu uz stvaranje plina, pa izaziva nedostatke u kondenziranom mlijeku.

Candida kefir upotrebljava se za proizvodnju kefira. Razgrađuje laktozu uz stvaranje CO₂ i alkohola.

3. PLIJESNI

Uz kvasce i plijesni su značajne u mljekarstvu. Neke vrste plijesne su štetne, jer dovode do kvarenja mlijeka i mlječnih proizvoda li stvaraju toksine štetne po zdravlje ljudi. S druge strane plijesne mogu biti korisne i upotrebljavaju se u proizvodnji sira.

Razmnožavaju se u širokom rasponu pH vrijednosti, razgrađuju ugljikohidrate, masti a neke plijesni mogu razgrađivati i bjelančevine., pogoduje im povišena kiselost kao i vlažnost.

Plijesni imaju vegetativni dio sastavljen od stanica poredanih u vidu niti koje se zovu hife. Hife grade micelij. Micelij ima izgled pamuka ili vunastog pokrivača koji se jasno zapaža golim okom u vidu različitih obojenih nakupina (bijeli, crnih, sivih smeđih zelenih).One se mogu nalaziti na zidovima izmuzišta i prostorija za obradu i preradu mlijeka.

Za mljekarstvo su najvažnije plijesni iz rodova: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Geotrichum*, a rjeđe se javljaju *Monilia*, *Rhizopus*, *Fusarium* i *Trichothecium*.

Rod *Penicillium*

Neke vrste iz roda *Penicillium* su štetne, jer izazivaju kvarenje mlječnih proizvoda, a neke su korisne i upotrebljavaju se proizvodnju sireva. *P. Commune*(podrumski plijesan) je najprostranjenija i ima zeleni micelij i jako izražen miris na plijesan. Štetna je jer na siru stvara zelenu skramu, a u maslacu izaziva užeglost. *P.glaucum* na siru stvara crne brazde i dovodi do truljenja. U maslacu izaziva neugodan miris.

Neke vrste iz roda *Penicillium* su korisne i upotrebljavaju se u proizvodnji sira: *P.camemberi* je plava plijesan sira camambert i bri koja u prvih osam dana raste kao bijela, a zatim prelazeu plavu plijesan.

P.candidum je bijela plijesan i koristi se za proizvodnju sira Camamber.

P.roqueforti je plavozelena plijesan i koristi se za proizvodnju plavih sireva, kao što su rokfor, gorgonzola i dr.

Rod *Aspergillus*

Plijesni iz ovog roda su štetne. *Aspergillus niger* i *glaucus* često se nalaze u mlijeku. Rastu u prisutstvu velikih koncentracija šećera i dovode do kvarenja kondenziranog mlijeka. Stvarju kolonije u vidu gumba.

Rod *Cladosporium*

Predstavnik ovog roda je *Cladosporium herbarum*. One sporo rastu, ali se uobičajeno nalaze u zraku i naročito su psihrotolerantne i kserotolerantne. (PITT I HOCKING, 2009). Često se nalazi u mljekarama ako u prostorije vlažne i neprovjetrene. Osjetljive su na povećanu koncentraciju soli, povišenu kiselost i temperaturu. Razgrađuje proteine mlijeka i u mliječnim proizvodima stvara gorak okus. Na kori stvara smeđecrne pjege.

Rast plijesni kao uzročnika kvarenja sira, još uvijek je problem iznimnog značenja, iako potječe iz davnina. Najčešće vrste plijesni koje su zajednička mikroflora na siru su *Penicillium* spp. (BULLERMAN I OLIVIGNI., 1974; TORREY I MARTH.,1977), a ostale uključujući vrste *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Geotrichum* i *Hormodendrum*, dolaze kao povremeni onečišćivači. Najčešće vrste plijesni izolirane iz industrijski načinjenog sira uključuju *Penicillium roqueforti*, *P. cyclopium*, *P.*

Najveći rizik za potrošače mlijeka i mliječnih proizvoda su toksini plijesni –mikotoksini koji se provlače kroz cijeli lanac poljoprivredne proizvodnje, od poljoprivrednih kultura preko životinja i njihovih proizvoda pa sve do zadnje karike –čovjeka (ZDOLEC I SUR., 2006). Stoga se nameće zaključak kako se glavna kontaminacije kvascima događa kao posljedica neadekvatne higijenske prakse. Tek su se posljednjih nekoliko desetljeća mikotoksini koje produciraju određene vrste gljivica počeli sustavno pratiti i smatrati prijetnjom po zdravlje životinjai ljudi (FILTENBORG I SUR., 1996., PITT I HOCKING, 2009., GARNIER I SUR., 2017.).

4. FERMENTIRANA MLIJEKA

Fermentirana mlijeka radi svoje niske pH vrijednosti medija koji se kreće u rasponu od 4,2 do 4,6 nisu pogodan medij za razvoj bakterija koji mogu dovesti do kvarenja proizvoda (ROSSLAND I SUR 2005.; ROBINSON I SUR., 2002., 2006.). Kiseli medij koji nastaje fermentacijom omogućava rast kvasaca i plijesni koji mogu dovesti do promjene okusa i izgleda proizvoda (FLEET, 1990.; JORDANO I SUR., 1991).

Unatoč navedenom, znatan broj vrsta gljivica i kvasaca može preživjeti i rasti u mliječnim proizvodima. Primarni načini zagađenja nepoželjnim sojevima kvasaca su loša higijena mužnje te neadekvatni načini u procesu proizvodnje i/ili pohrane fermentiranih proizvoda bilo kada u proizvodnom lancu – od farme do završnog proizvoda. Tada takvi, nepoželjni kvasci u povećanom broju mogu prouzročiti promjene u kemijskom sastavu proizvoda koje se reflektiraju i na njegova senzorna svojstva.

Najčešće promjene koje možemo primijetiti kod zagađenja nepoželjnim kvascima su promjene u boji, okusu, mirisu i konzistenciji mliječnih proizvoda, a i u fizičkim promjenama na ambalaži u vidu napuhavanja ambalažnog pakiranja (JAKOBSEN I NARVHUS, 1996., LOPADIC I SUR., 2006.). Plijesni *Alternaria spp.* i *Aspergillus spp.* uzročnici su promjene izgleda čvrstog jogurta pojavom bijelih ili plavih kolonija u formi filma ili prerastaju cijelu površinu proizvoda. Promjene okusa koji se opisuju kao užegli okus po siru ili gorak okus, posljedica su hidrolitičkog djelovanja njihovih enzima na mliječnu mast i protein. (Rašić i Kurman, 1978.; Robinson i sur., 2006.) U literaturi ima dosta podataka o kvascima kao uzročnicima kvarenja fermentiranih proizvoda. Takvo kvarenje očituje se kao miris po voću i pojačanom produkcijom plinova (JORDANO I SUR., 1991.; MC KAY, 1992). Ovi autori su dokazali da kvasci *K. marxianus*, *D. hansenii*, *Yarrowia lypolitica* i *Rhodotorula mucilaginosa* prevladavaju u većini istraženih jogurta. Kvarenje fermentiranog mlijeka postaje vidljivo kod populacije kvasaca dosegnu razinu od 10⁵ do 10⁶ (SEILER, 2002). Prvi vidljivi znak kontaminacije fermentiranog mlijeka je bubrenje ambalaže uzrokovano tvorbom plina.

Ovaj velika sposobnost prilagodbe kvasaca u izazovnim uvjetima rasta može se objasniti njihovom sposobnošću da koriste brojne supstrate, uključujući ugljikohidrate, organske kiseline, proteine i lipide koji su prisutni u mlijeku i proizvodima od mlijeka. Štoviše, gljivice i kvasci koje pronalazimo kao kontaminante u mliječnim proizvodima često su su acidotolerantne, kserotolerantne i/ili psihrotolerantne pa čak do određene razine mogu tolerirati

i kemijske konzervanse koji se ponekad dodaju kako bi produljili rok trajanja proizvoda. (HUIS IN'T VELD, 1996., DESMASURES, 2014., PRADO I SUR., 2015.)

Zbog istih se svojstava kvasci često upotrebljavaju i kao starter kulture u proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda. Kao sastavnice starter kultura, a u kombinaciji s bakterijama, utječu na bio-sintezu poželjnih aromatičnih komponenti i pridonose senzornim kvalitetama raznih mliječnih napitaka i sireva (LOPADIC I SUR., 2006.).

5. VRHNJE I MASLAC

Mikrobna populacija uzročnika kvarenja vrhnja i maslaca prvenstveno je ovisna o mikrobnjoj populaciji sirovog mlijeka (SPREER, 1998.a, 1998.b., WIBLEY, 2002.). Iz tog razloga je dobra mikrobiološka kvaliteta sirovog mlijeka te što kraće vrijeme njegove pohrane na niskim temperaturama (2-6°C) osnovni preduvjet za uspješnu proizvodnju vrhnja i maslaca (SAMARŽIJA I SUR, 2007.).

Obzirom da vrhnje i maslac sadrže visoki postotak mliječne masti mikrobne greške koje se nalaze u sirovom mlijeku bile bi izraženije u vrhnju i maslacu. (VARNAM I SUTHERLAND, 1996.a, 1996.b). Proces proizvodnje vrhnja i maslaca kompleksan je proces bez obzira na tehnologiju proizvodnje koja se koristi. Razlog tomu su odvojene tehnološke operacije koje se koriste u proizvodnji tih proizvoda te je mogućnost mikrobne kontaminacije znatno veća (SPREER, 1998.a, 1998.b). Vrijeme nakon toplinske obrade i promjena temperature tijekom njihove pohrane i distribucije smatraju se najkritičnijim točkama u proizvodnji. (WILBEY, 2002.).

Dominantni uzročnici kvarenja su psihrotrofni mikroorganizmi jer se danas u proizvodnji vrhnja i maslaca isključivo koristi ohlađeno mlijeko. (SAMARŽIJA I SUR., 2007.). Kvasci prisutni u vrhnju i maslacu mogu promijeniti okus, miris te izgled tih proizvoda. Užešli okus, okus po sladu ili atipičan nepoželjan okus i crnu diskoloraciju maslaca uzrokuju plijesni *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Penicilium* i *Cladosporidium*. (VARNAM I SUTHERLAND, 1996.a, 1996.b; KORNACKI I FLOWERS, 1998.).

Gorak okus vrhnja rezultat je mikrobne proteolize koja podiže razinu hidrofobnih peptida te određenih glicerida nastalih lipolitičkom razgradnjom masti (WIBLEY, 2002.). Osim

bakterija tu pogrešku mogu izazvati neke vrste kvasaca i plijesni (SEILER, 2002., BOER I SUR., 2003.). Mikrobne pogreške vrhnja i maslaca zanemarive su neovisno o složenosti tehnološkog procesa kada su vrhnje i maslac proizvedeni od sirovog mlijeka koje sadrži manje od 20 000 bakterija/mL (KORNACKI I FLOWERS, 1998.).

6. SIREVI

Zbog niskog pH, povišene koncentracije soli i niske temperature skladištenja nije neočekivan nalaz gljivica u sirevima (FLEET, 1990). Prisutnost gljivica u siru ovisi o vrsti sira. Tako su povećanu količinu gljivica 10^7 cfu/g zabilježili KOBURGER, 1971; NAKASE I KOMAGATA, 1977; JARVIS I SHAPTON, 1986; BANKS I BOARD, 1987., a nešto manja količina gljivica od 10^4 do 10^6 cfu/g čest je nalaz u istraživanju koje su proveli NUNEZ I SUR., 1981; CHAVARRI I SUR., 1985; FLEET I MIAN, 1987; WELTHAGEN I VILJOEN, 1998., 1999., DOBRANIĆ, 2006.

Kvasci mogu imati negativan učinak kada onečišćuju fermentirano mlijeko i sireve. U mliječnim proizvodima ubrajaju se u sekundarnu mikrofloru jer imaju ograničen higijenski značaj i mogu utjecati na rok trajanja proizvoda (ROSSI I SUR., 1997). U novije vrijeme ekonomski su gubici uslijed zagađenja kvascima porasli kod europskih proizvođača jer manje koriste konzervanse, pakiranja u izmijenjenim atmosferskim uvjetima ili novih fermentacija koje ponekad dozvoljavaju rast gljivica (FLEET, 1990).

Heterofermentativna priroda kvasaca uvjetuje stvaranje alkohola i CO_2 u siru, tako da se pogreška može vrlo jednostavno pripisati kvascima i u slučajevima kada kolonije kvasaca nisu vidljive (WESTALL I FILTENBORG, 1998.; BOER I SUR., 2002.; MASOUD I JAKOBSEN, 2003.). Okus sira se mijenja, a opisuje se pojmom – okus po kvascima. Lipolitička aktivnost može izazvati užegao, gorak okus, a slobodne masne kiseline u kombinaciji s alkoholom uvjetuju okus po voću (SEILER, 2002.).

Mnogi se kvasci kao onečišćivači mogu razviti ako se ne poštuju pravila proizvodnje kao npr. slabi higijenski uvjeti, nekorištenje konzervansa, neodgovarajuće temperature pasterizacije te slaba kvaliteta sirovina.

Novija istraživanja su pokazala moguću ulogu kvasaca kao npr. *C. lipolytica*, *Exophiala spinifera*, *Saccharomyces telluris* i *S. cerevisiae* u razgradnji mikotoksina. Razgradnja mikotoksina u procesu fermentacije sireva mogla bi imati važnu ulogu u očuvanju zdravlja ljudi (BOESWALD I SUR., 1995; SCOTT I SUR., 1995; KARLOVSKY, 1999).

S druge strane, pod određenim uvjetima neki kvasci uzročnici su infekcije ljudi i životinja posebice imunokompromitiranih pacijenata ili onih tretiranih bakterijskim antibioticima. Bolesti se mogu manifestirati kao infekcija kože i sluznice, a može doći i do ozbiljnih organskih oboljenja uključujući trbušne organe i krvožilni sustav (LASKIN I LECHEVALIER, 1978).

Rast plijesni kao uzročnika kvarenja sira, još uvijek je problem iznimnog značenja, iako potječe iz davnina. Najčešće vrste plijesni koje su zajednička mikroflora na siru su *Penicillium* spp. (BULLERMAN I OLIVIGNI., 1974; TORREY I MARTH.,1977); GARNIER i sur.,2017) a ostale uključujući vrste *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Geotrichum* i *Hormodendrum*, dolaze kao povremeni onečišćivači. Najčešće vrste plijesni izolirane iz industrijski načinjenog sira uključuju *Penicillium roqueforti*, *P. cyclopium*, *P. viridicatum* i *P. crustosum* (TSAI I SUR., 1988). Na siru cheddar, pakiranom u vakuumu, najčešće rastu *Cladosporium cladosporioides*, *P. commune*, *Cladosporium herbarum*, *P. glabrum* i *Phoma* vrste (HOCKING I FAEDO., 1992). Osim toga, sa sira pakiranog u vakuumu izolirani su i kvasci iz roda *Candida*.

Kvasci i plijesni koji kvare mliječne proizvode mogu se izolirati u postrojenjima za preradu, s opreme za pakiranje, zraka, salamure, proizvodne opreme (BULLERMAN,1997, BUEHLERi sur.2017)). Da bi se djelotvorno spriječio rast gljivica, prijeko je potrebno na najmanju mjeru svesti izlaganje pasteriziranih proizvoda tim izvorima kontaminacije. Spore plijesni ne mogu preživjeti pasterizaciju (DOYLE I MARTH.,1975).

Prema HOCKINGU I FAEDU (1992), ako je ograničena početna razina onečišćenja, bit će lakše provoditi one mjere koje sprečavaju rast plijesni. Te mjere uključuju pakiranje u ambalažu sa smanjenim sadržajem kisika, skladištenje pri niskim temperaturama i uporabu antimikotičkih kemijskih sredstava poput sorbata, propionata i antibiotika natamicina (pimaricin). Ni jedan od nabrojanih postupaka nije potpuno djelotvoran. Tako je sir pakiran u vakuumu podložan nitastom kvarenju koje uzrokuju gljivice.

7. ZAKLJUČCI

Veliki broj kvasaca i plijesni u mliječnim proizvodima možemo pripisati njihovoj sposobnosti da rastu na niskim temperaturama, mogućnost asimilacije, odnosno fermentacije laktoze, asimilacije organskih kiselina poput jantarnog laktata i limunske kiseline. Lipolitičke i proteolitičke aktivnosti, niske aktivnosti u vodi, otpornosti na jako slane koncentracije i otpornosti na sredstva za čišćenje u postupku sanitacije.

Primarni načini zagađenja nepoželjnim sojevima kvasacai plijesni su loša higijena mužnje te neadekvatni načini u procesu proizvodnje i/ili pohrane fermentiranih proizvoda bilo kada u proizvodnom lancu – od farme do završnog proizvoda.

8. SAŽETAK

Kvasci i plijesni – uzročnici kvarenja fermentiranih mliječnih proizvoda

U proizvodnji određenih fermentiranih mliječnih proizvoda kao starter kulture koriste se kvasci i plijesni u svrhu poboljšavanja svojstva proizvoda. Osim ove pozitivne uloge oni su česti zagađivači mliječnih proizvoda kada mogu prouzročiti nepoželjne promjene kao što su izgled, miris, okus proizvoda.

Primarni načini zagađenja nepoželjnim sojevima kvasaca su loša higijena mužnje te neadekvatni načini u procesu proizvodnje i/ili pohrane fermentiranih proizvoda bilo kada u proizvodnom lancu – od farme do završnog proizvoda. Kako bismo bili u mogućnosti kontrolirati izvore kontaminacije mliječnih proizvoda kvascima, potrebno ih je identificirati brzo i pouzdano.

Klasična identifikacija kvasaca koja se temelji na morfološkim i biokemijskim svojstvima pokazala se sporom, teškom i nepouzdanom pa je stoga potrebno raditi na razvoju novih, modernih i pouzdanih metoda za izolaciju i identifikaciju kvasaca iz fermentiranih mliječnih proizvoda.

Ključne riječi: kvasci, plijesni, vrhnje, maslac, sir, fermentirana mlijeka, zagađenje

9. SUMMARY

Yeasts and molds - the causative agents of spoilage of fermented milk products

In the production of certain fermented milk products, yeasts and molds are used as starter cultures in order to improve the properties of the product. In addition to this positive role, they are frequent contaminants of dairy products when they can cause undesirable changes such as the appearance, smell, taste of the product.

The primary ways of contamination with undesirable yeast strains are poor milking hygiene and inadequate methods in the process of production and/or storage of fermented products at any time in the production chain - from the farm to the final product. In order to be able to control the sources of yeast contamination of dairy products, it is necessary to identify them quickly and reliably.

The classical identification of yeasts based on morphological and biochemical properties has proven to be slow, difficult and unreliable, so it is necessary to work on the development of new, modern and reliable methods for the isolation and identification of yeasts from fermented milk products.

Key words: Yeasts, molds, cream, butter, cheese, fermented milk, spoilage

10. POPIS LITERATURE

1. AALBAEK, B. STENDERUP J. JENSEN H. E. VALBAK J. NYLIN B. HUDA A. (1994): Mycotic and algal bovine mastitis in denmark, 102(6): 451-456.
2. BANKS, J. G., BOARD, R. G. (1987): Some factors influencing the recovery of yeasts and moulds from chilled foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 197-206.
3. BOER, DE E., KUIK, D., SEILER, H. (2002): Yeasts in milk and dairy products, *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4, Roginski, H., Fuquay, W.J., Fox, F.P., Academic Press, 2761-2773.
4. BOESWALD, C., ENGELHARDT, G., VOGEL, H., WALLNOEFER, P. R. (1995): Metabolism of the Fusarium mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol by yeast strain of technological relevance. *Natural Toxins* 3, 138-144.
5. BULLERMAN, L. (1997): Mold control in the cheese plant. *Ital. Cheese J.* 6, 1-8.
6. BULLERMAN, L. B., AND F. J. OLIVIGNI (1974): Mycotoxin producing potential of moulds isolated from cheddar cheese. *J. Food Sci.* 39: 116- 1168.
7. BUEHLER, A.J., R.L. EVANOWSK, N.H. MARTUN, K. J. BOOR and M. WIEDMANN (2017): Internal transcribed spacer (ITS) sequencing reveals considerable fungal diversity in dairy products *J.Dairy Sci*,100, 8814-8825
8. CHAVARRI, F. J., NUNEZ, J. A., BUTISTA, L., NUNEZ, M. (1985): Factors affecting the microbiological quality of Burgos and Villalon cheeses at the retail level. *J. Food Prot.* 48, 865-869.
9. COSTA, E. O, GANDRA C. R, PIRES M. F., COUTINHO S. D., CASTILHO W., TEIXEIRA C. M. (1993): Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the state of sao paulo, Brazil. *Mycopathologia*; 124: 13-17.
10. DEAK, T., BEUCHAT, L. R. (1996): *Handbook of Food Spoilage*. CRC Press, New York.
11. Dobranić, V. (2006); Nalaz i utjecaj gljivica na higijensku kakvoću kravljeg mlijeka
Doktorska Disertacija
12. DOYLE, M.P., MARTH, E. H., (1975): Thermal inactivation of conidia from *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. I. Effects of moist heat, age of conidia and sporulation medium. *J. Milk Food Technol.* 38:678-682

13. ELAD, D., SHPIGEL Y. N., WINKLER M., KLINGER I., FUCHS V., SARAN A., FAINGOLD D. (1995): Feed contamination with *candida krusei* as a probable source of mycotic mastitis in dairy cows. J Am Vet Med Assoc; 207: 620-2.
14. FLEET, G. (1990): Yeasts in dairy products- a review. J. Appl. Bacteriol. 68, 199-211.
15. FLEET, G., MIAN, M. A. (1987): The occurrence and growth of yeasts in dairy products. Int. J. Food Microbiol. 4, 145- 155.
16. GARNIER,L., F.VALENCEand J. MOUNIER (2017) Diversity and control of spoilage an dairy products. An update microorganisms 5, 42 doi10.3390/microorganisms 5030042
17. HOCKING, A. D., FAEDO, M. (1992): Fungi causing thread mould spoilage of vacuum packaged Cheddar cheese during maturation. Int. J. Food Microbiol. 16, 123-130.
18. JAKOBSEN, M., NARVHUS, J. (1996): Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. Int. Dairy J. 6,775-768.
19. JENSEN, HE, AALABACK B. (1994): Pathogenicity of yeasts and algae isolated from bovine mastitis secretions in a murine. Model. Mycoses; 37: 101-107.
20. JORDANO, R., MEDINA, L. M., SALMESON, J. (1991): Contaminating microflora in fermented milk. J. Food prot. 54, 131-132.
21. KARLOVSKY, P. (1999): Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. Natural Toxins 7, 1-23.
22. KOBURGER, J.A. (1971): Fungi in foods: II. Some observations on acidulants used to adjust media pH for yeast and mold counts. J. Milk Food Technol. 34, 475-477.
23. KORNACKI, J.L., FLOWERS, R.S. (1998): Microbiology of Butter and Related Products. U knjizi Applied Dairy Microbiology edited by Marth E.H., Steele J.L. Marcel Dekker, Inc., New York, 109-130.
24. LAGNEAU, P. E., LEBTAHI K, SWINNE D. (1996): Isolation of yeasts from milk in belgium. Mycopathhologia; 135: 99-102.
25. LASKIN, A. I., LECHEVALIER, H. A. (1978): CRCHandbook of Microbiology. 2nd edn. Fugi, Algae, Protozoa and Viruses, vol. Ii, CRC Press, Florida, pp. 207-250.
26. LAUBSCHER, P. J., VILJOEN, B. C., (1999): The resistance of dairy yeasts against commercially available cleaning compounds and sanitizers. Food Technol. Biotechnol. 37, 281-286.

27. MASOUD, W., JAKOBSEN, M. (2003): Surface ripened cheese: The effects of *Debaryomyces hansenii*, NaCl and pH on the intensity of pigmentation produced by *Brevibacterium linens* and *Corynebacterium flavescens*, *International Dairy Journal* 13, 231-237.
28. NAGLIĆ, T., HAJSIG D., MADIĆ, J., PINTER, LJ. (2005): Veterinarska mikrobiologija, Specijalna bakteriologija i mikologija, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatsko mikrobiološko društvo, 265-268.
29. NAKASE, T., KOMAGATA, K. (1977): Microbiological studies on cheese: I. Yeast flora in cheese imported from Europe and North America. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 18,346-352.
30. NUNEZ, M., MEDINA, M., GAYA, P., DIAS-AMADO, C., (1981): Les levures et les moisissures dans le fromage bleu de Cabrales. *Le Lait* 61, 62-79.
31. PITT, J.I., HOCKING, A.D. (2009): *Fungi and Food Spoilage*. Springer Science & Business Media: New York, NY, USA
32. RAŠIĆ, J.LJ., KURMAN, J.A. (1978.): Defects of Yoghurt. U knjizi *Yoghurt Scientific Grounda, Technology, Manufacture and Preparations*, Published by the authors, Copenhagen, 297-301.
33. RICHARD, J. L., MC DONALD J. S., FITCHNER R. E., ANDERSON A. J. (1980): Identification of yeasts from infected bovine mammary glands and their experimental infectivity in cattle. *Am J Vet Res*; 48.
34. ROBINSON, R.K., LUCEY, J.A., TAMIME, Y. (2006.): *Manufacture of Yoghurt*. U knjizi *Fermented milk* edited by Tamime, Y., Blackwell Science Ltd, Oxfordz, 53-71.
35. ROBINSON, R.K., TAMINE, A.Y. (1990): Microbiology of of fermented milks. In: Robinson, R.K. (Ed.), *The Microbiology of Milk Products*. Dairy Microbiology, vol. 2. Elsevier, London, pp. 291-343.
36. ROSSI, J., GOBBETTI, M., BUZZINI,P., CORSETTI, A., SMACCHI, E., DE ANGELIS, M. (1997): Yeasts in dairy. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia* 47, 169-183.
37. SAMARŽIJA, D., PODOREŠKI, M., SIKORA, S., SKELIN, A., POGAČIĆ, T. (2007): Mikroorganizmi – uzročnici kvarenja mlijeka. *Mljekarstvo* 57: 251-273
38. SCOTT, P. M., KANHERE,S.R., LAWRENCE, G.A., DALEY, E.F., FARBER, J.M. (1995): Fermentation of wort containing added ochratoxin A and fumonisins B1 and B2. *Food Additives and Contaminants* 12, 31-40.

39. SEILER, H. (2002): Yeasts in milk and Dairy Products. Encyclopedia of Dairy Sciences, Vol. 4, Roginski, H., Fuquay W.J., Fox, F.P., 2761-2769.
40. SHEENA, A., SIEGLER L. (1995): *Candida krusei* isolated from a sporadic case of bovine mastitis. Can Vet J; 365-365.
41. SPEER, E. (1998.a): Market Milk, Milk Drinks and Cream Products. U knjizi Milk and Dairy Product Technology, Spreer, E., Marcel Dekker, Inc., New York, 155-198.
42. SPEER, E. (1998.b): Market Milk, Milk Drinks and Cream Products. U knjizi Milk and Dairy Product Technology, Spreer, E., Marcel Dekker, Inc., New York, 203-241.
43. TORREY, G.S., MARTH E. H., (1977): Isolation and toxicity of molds from foods stored in homes. J. Food Prot. 40: 187-190.
44. TSAI, W. –Y. J., M. B. LIEWEN, AND L. BULLERMAN (1988): Toxicity and sorbate sensitivity of moulds isolated from surplus commodity cheese. J. Food Prot. 51: 457-462.
45. TUDOR, D. A., BOARD, R. G., (1993): Food spoilage yeasts. In: Rose, A. H., Harrison, J.S. (Eds.), Yeast Technology. 2nd Edn. The Yeasts, Vol. 5, Academic Press, New York, Pp. 436-516.
46. VARNAM, A.H., SUTHERLAND, J.P. (1996.a): Cream and cream-based products. U knjizi Milk and milk Products Technology, Chemistry and Microbiology, Chapman and Hall, London, Marcel Dekker, Inc., New York, 183-216.
47. VARNAM, A.H., SUTHERLAND, J.P. (1996.b): Cream and cream-based products. U knjizi Milk and milk Products Technology, Chemistry and Microbiology, Chapman and Hall, London, Marcel Dekker, Inc., New York, 224-268.
48. VON NEUBECK, M., BAUR, C., KREWINKEL, M., STOECKEL, M., KRANZ, B., STRESSLER, T., FISHER, L., HINRICHS, J., SCHERER, S., WENNING, M. (2015): Biodiversity of refrigerated raw milk microbiota and their enzymatic spoilage potential. Int. J. Food Microbiol. 211, 57-65.
49. WATTS, J. L. (1988): Etiological agents of bovine mastitis. Vet Microbiol; 16: 41-66.
50. WELTHAGEN, J. J., VILJOEN, B. C., (1998): Yeast profile in gouda cheese during processing and ripening. Int. J. Food Microbiol. 41, 185-194.
51. WELTHAGEN, J. J., VILJOEN, B. C., (1999): The isolation and identification of yeasts obtained during the manufacture and ripening of cheddar cheese. Food Microbiol. 16, 63-73.

52. WESTALL, S., FILTENBORG, O. (1998): Spoilage yeasts of decorated soft cheese packed in modified atmosphere. *Food Microbiology* 15, 243-249.
53. WILBEY, R.A. (2002): Microbiology of cream and butter. U knjizi *Dairy Microbiology Handbook*, edited by Robinskon, R.K., third edition, Wiley Interscience, New York, 123-170.
54. ZDOLEC, N.M. HADŽIOSMANOVIĆ, L. KOZAČINSKI, Ž. CVRČIĆ I FILIPOVIĆ (2006): Ostaci biološki štetnih tvari u mlijeku. *Mljekarstvo* 56, 2, 191-202

11. ŽIVOTOPIS

Lea Panza rođena je 08. ožujka 1996. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završila je u Velikoj Mlaci 2010. godine, iste godine upisala je prirodoslovnu gimnaziju u Prirodoslovnoj školi Vladimira Preloga u Zagrebu. Srednju školu završila je 2014. godine te iste je iste te godine upisala Veterinarski fakultet na Sveučilištu u Zagrebu s usmjerenjem Javnog zdravstva za koje se opredijelila na višim godinama fakulteta. Tokom viših godina studija volontirala je u privatnim ambulancama.