

ODRŽIVOST FERMENTIRANIH MLIJEČNIH PROIZVODA

Biljan, Josipa

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:178:263161>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

JOSIPA BILJAN

**ODRŽIVOST FERMENTIRANIH MLIJEČNIH
PROIZVODA**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2022.

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane

Predstojnik:

izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec

Mentori:

prof. dr. sc. Lidija Kozačinski

dr. sc. Tomislav Mikuš

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec
2. prof. dr. sc. Lidija Kozačinski
3. dr. sc. Tomislav Mikuš
4. prof. dr. sc. Vesna Dobranić (zamjena)

ZAHVALA

Veliko hvala mojim mentorima prof. dr. sc. Lidiji Kozačinski te dr. sc. Tomislavu Mikušu na ukazanoj podršci, trudu te iznimnoj ažurnosti i angažiranosti kroz ove mjesece izrade diplomskog rada. Hvala svim djelatnicima Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta koji su prema meni bili iznimno ljubazni i uslužni te uvijek voljni priskočiti u pomoć.

Hvala dr. sc. Manueli Zadravec što mi je omogućila korištenje svog laboratorija na Hrvatskom veterinarskom institutu.

Najveće hvala mojim roditeljima, Dragutinu i Grozdani, te najdražoj sestri Petri koji su mi oduvijek bili najveća podrška u životu i bez kojih ovih šest godina moga studiranja ne bi bilo moguće.

Posebno hvala mome zaručniku Matiji na godinama ljubavi, podrške i motivacije.

Hvala svim prijateljima i kolegama koji su na bilo koji način pridonijeli završetku moga studija.

POPIS PRILOGA

Slike

Slika 1: Mikrobiološka pretraga uzoraka

Slika 2: Prikaz uzgojenih enterobakterija iz uzorka kiselog vrhnja držanog na +4 °C, 7. dan (C) i 14. dan (D) pohrane

Slika 3: Prikaz uzgojenih kvasaca u jogurtu držanom na +12 °C u uzorcima 3. (B), 7. (C) i 14. (D) dan

Slika 4: Promjene na kiselom vrhnju (nabubrena ambalaža, izdvojena sirutka, pjenušavost, promjena boje i konzistencije) držanom na +12 °C

Tablice

Tablica 1: Starter kulture u tehnologiji mlijeka

Tablica 2: Uredba (EZ) 2073/2005 i mikrobiološkim kriterijima za hranu

Tablica 3: Mikrobiološki kriteriji za kisele mliječne fermentirane proizvode, kiselo vrhnje te vrhnje od sirovog mlijeka

Tablica 4: Korištene propisane metode u mikrobiološkoj pretrazi

Tablica 5: Rezultati senzoričke pretrage fermentiranih mliječnih proizvoda

Tablica 6: Kretanje pH fermentiranih mliječnih proizvoda tijekom pohrane na različitim temperaturama

Tablica 7: Nalaz bakterija roda *Enterobacteriaceae* u uzorcima fermentiranih mliječnih proizvoda tijekom pohrane na različitim temperaturama

Tablica 8: Rezultati molekularne identifikacije kvasaca i plijesni

Sheme

Shema 1: Sastav mlijeka

Shema 2: Postupak izolacije bakterije *Listeria monocytogenes*

Shema 3: Postupak izolacije *Salmonella spp.*

Shema 4: Postupak izolacije enterobakterija

Shema 5: Postupak izolacije kvasaca i plijesni

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja	2
2.1. Mlijeko.....	2
2.2. Fermentacija i starter kulture	4
2.2.1. Jogurt.....	7
2.2.2. Kiselo vrhnje.....	9
2.3. Kakvoća i senzorička svojstva jogurta i kiselog vrhnja	11
2.4. Mikrobiološka ispravnost i kakvoća jogurta i kiselog vrhnja	12
2.4.1. Patogeni i mikroorganizmi uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda	15
2.5. Čimbenici koji utječu na održivost fermentiranih mliječnih proizvoda.....	16
3. Materijali i metode.....	18
3.1. Proizvodnja fermentiranih mliječnih proizvoda na OPG-u	18
3.2. Uzorci.....	18
3.3. Senzorička pretraga.....	19
3.4. Fizikalna pretraga - određivanje pH.....	20
3.5. Mikrobiološka pretraga	20
4. Rezultati	27
4.1. Senzorička pretraga.....	27
4.2. Određivanje pH fermentiranih mliječnih proizvoda	28
4.3. Mikrobiološka pretraga	28
5. Rasprava.....	33
6. Zaključci	38
7. Literatura.....	39
8. Sažetak	47
9. Summary	48
10. Životopis	50

1. Uvod

Fermentirana mlijeka smatraju se jednim od najstarijih oblika fermentiranih namirnica. U odnosu na svježe mlijeko, fermentirani proizvodi imaju poboljšana senzorička svojstva kao što su okus i tekstura, povećanu nutritivnu i ekonomsku vrijednost, te produljenu održivost. Postoji mnogo vrsta fermentiranih mliječnih proizvoda, a kod nas su najpoznatiji sir, jogurt, vrhnje, kefir, kumis, viili i mnogi drugi. Najčešća sirovina za njihovo dobivanje je toplinski obrađeno kravlje mlijeko, a osnovu tehnološkog procesa proizvodnje čini dodavanje starter kulture u mlijeko te posljedična fermentacija. Od svih fermentiranih mliječnih proizvoda, u našoj zemlji su najpopularniji jogurt i vrhnje. Jogurt se na tržištu može pronaći kao običan ili kao voćni jogurt, a s obzirom na konzistenciju kao čvrsti, tekući te kao jogurt napitak (eng. „*drink*“). Vrhnje je proizvod koji se najčešće koristi u kulinarstvu, kao sastojak u pripremi raznih slanih i slatkih jela, dok se sirovo najčešće konzumira uz svježi kravlji sir.

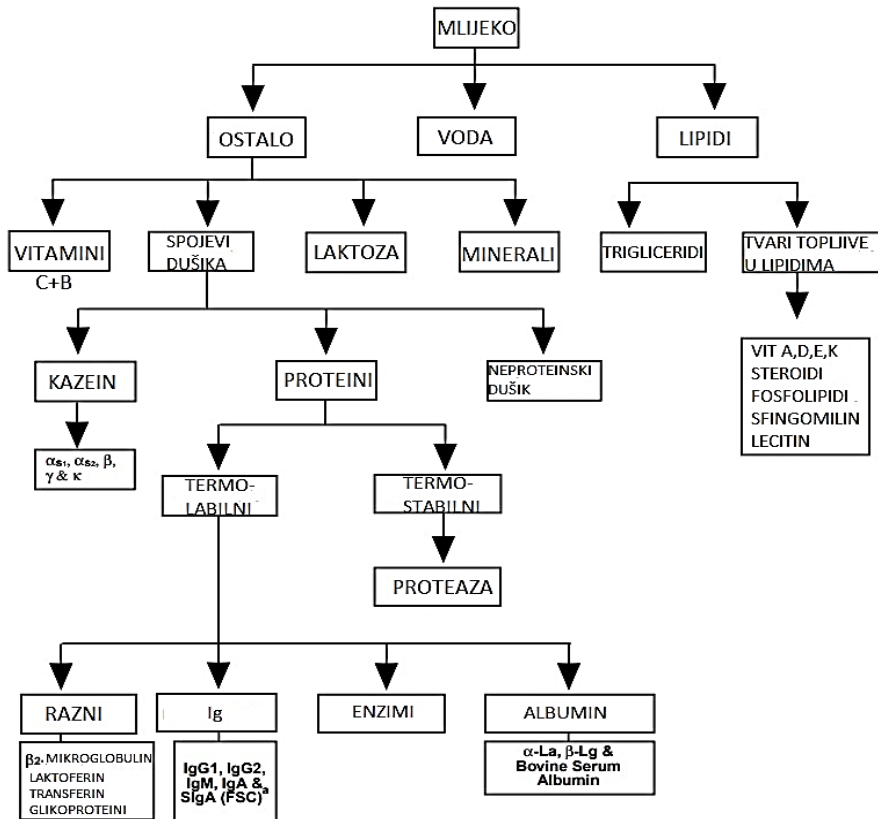
Povijesno, primarna svrha fermentacije mlijeka bila je mogućnost da mlijeko koristimo kao hranu puno dulje no što bismo ga mogli kao neobrađeno, odnosno sirovo mlijeko. Međutim, bez obzira na dulji rok trajanja, postoje mnogi drugi faktori koji mogu dovesti do kvarenja fermentiranih mlijeka. Najčešći uzrok njihovog kvarenja je kontaminacija raznim mikroorganizmima, odnosno bakterijama, kvascima i/ili plijesnima te neadekvatan način pohrane.

Cilj ovoga rada bio je opisati tehnologiju proizvodnje fermentiranih mliječnih proizvoda (vrhnja, jogurta i voćnog jogurta) na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu, utvrditi njihovu održivost tijekom pohrane u različitim temperaturnim uvjetima (+4 °C i +12 °C) te ocijeniti njihova senzorička svojstva i mikrobiološku kakvoću.

2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja

2.1. Mlijeko

Mlijeko je tekućina bijele boje, proizvod mliječne žlijezde ženki sisavaca kojim one hrane svoju mladunčad (VISAKH i sur., 2013.), no sa stajališta higijene hrane i činjenice da ljudi koriste mlijeko određenih vrsta sisavaca kao izvor hrane, primjerenija definicija mlijeka je ona prema kojoj je mlijeko sekret mliječne žlijezde dobiven redovitom i neprekinutom mužnjom zdravih muznih životinja, pravilno hranjenih i držanih, kojem nije ništa niti dodano niti oduzeto, namijenjeno za konzumaciju kao tekući proizvod ili pak za daljnju preradu (ANONIM., 2018.). Mlijeko se smatra kompletnom hranom jer ima visoku nutritivnu vrijednost, a osim makronutrijenata (bjelančevine, ugljikohidrati i masti) sadrži i razne mikronutrijente (vitamini i minerali) koji pridonose ljudskom zdravlju (WIDYASTUTI i FEBRISANTOSA, 2013.) (Shema 1).



Shema 1: Sastav mlijeka (prema ROBINSON i TAMIME, 1999.)

Primarnu mikrofloru mlijeka čine bakterije koje pri mužnji budu isprane mlijekom iz sisnog kanala zdravog vimena u broju koji ne utječe značajno na sigurnost i kvalitetu mlijeka. Ujedno, one su i dominantni mikroorganizmi, a najveći dio njih su bakterije mliječne kiseline i to rodovi *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* te *Enterococcus*. Od psihrotrofnih bakterija prevladavaju rodovi *Pseudomonas* i *Acinobacter*, a osim bakterijskih kultura pronalazimo i kvasce i plijesni (QUIGLEY i sur., 2013.). Sekundarna mikroflora potječe iz okoline s kojom mlijeko dolazi u doticaj i predstavlja onečišćenje mlijeka tijekom ili nakon mužnje. Glavni izvori onečišćenja su hrana i stelja (izvor bakterija iz roda *Bacillus* i *Clostridium*), feces stoke i prljave ruke mužača (izvor bakterija iz roda *Salmonella* i *Campylobacter*), voda (izvor bakterija iz roda *Aeromonas*, *Campylobacter* i *Salmonella*) te

stočna hrana koja je često inficirana bakterijom *L. monocytogenes*. Onečišćenje sekundarnom mikroflorom uzrokuje metaboličke procese i promjene kemijskog sastava mlijeka pa mlijeko ima loše tehnološke osobine, lošu kakvoću a proizvodi dobiveni od takvog mlijeka potencijalni su izvor alimentarnih infekcija ili intoksikacija ljudi (ROŽIĆ, 2014.; SALOPEK, 2016.). Stoga je iznimno važno, a u svrhu očuvanja zdravlja potrošača redovito kontrolirati higijensku ispravnost mlijeka i mliječnih proizvoda (ANONIM., 2009.). Kao najbolji kriteriji za utvrđivanje higijenske ispravnosti sirovog mlijeka usvojeni su pokazatelji - ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija i broj somatskih stanica (SAMARŽIJA, 2021.), a Uredbom (EZ) br. 853/2004 o utvrđivanju određenih higijenskih pravila za hranu životinjskog podrijetla propisano je da higijenski ispravno mlijeko ne smije sadržavati više od 10 000 CFU/mL bakterija te 400 000 somatskih stanica (ANONIM., 2004.).

2.2. Fermentacija i starter kulture

Za neku hranu ili piće kažemo da su fermentirani kada su proizvod kontroliranog rasta mikroba (bakterija, gljivica ili plijesni) koji za posljedicu ima enzimatski posredovanu organoleptičku, nutritivnu i funkcionalnu promjenu hrane (CAPOZZI i sur., 2021.). Fermentacija je jedan od najstarijih postupaka kojima se produljuje rok trajanja mlijeka, pa iako se ne može sa sigurnošću potvrditi kada se ovaj postupak točno počeo primjenjivati smatra se da su ljudi počeli koristiti fermentaciju prije 10 000 - 15 000 godina (ROBINSON i TAMIME, 1999.).

Kod proizvodnje fermentiranih mliječnih proizvoda, najzastupljenije mikrobne kulture koje sudjeluju u procesu fermentacije su bakterije mliječne kiseline jer im mlijeko pruža idealne uvjete za rast. Bakterije mliječne kiseline na tri načina sudjeluju u formiranju gotovog fermentiranog proizvoda: glikolizom, lipolizom i proteolizom. Laktat je glavni proizvod metabolizma laktoze, no dio piruvata može biti pretvoren u diacetil, acetoin, acetaldehid i druge spojeve zaslužne za specifičan okus fermentiranih mliječnih proizvoda. Proteolitičkom aktivnošću bakterijskih enzima stvaraju se slobodne aminokiseline iz kojih nastaju razni alkoholi, aldehidi, esteri i sulfidi koji su također važni za posebne arome pojedinih fermentiranih mlijeka, dok je lipolitičko djelovanje bakterija mliječne kiseline ograničeno i ne igra veliku ulogu u kvaliteti krajnjeg proizvoda (BINTSIS, 2018.). S obzirom na sve navedeno, bakterije

mliječne kiseline dijele se na nekoliko načina - s obzirom na optimalnu temperaturu potrebnu za njihov rast: mezofilne koje rastu najbolje na 20 - 30 °C te su najzastupljenije u mliječnim proizvodima zapadne i istočne Europe; i termofilne koje dostižu svoj optimum na 30 - 45 °C te ih nalazimo češće u proizvodima suptropskih država. Nadalje se bakterije mliječne kiseline dijele na homofermentativne (rodovi *Pediococcus*, *Lactococcus* i *Streptococcus*) - odnosno one čiji je jedini proizvod fermentacije mliječna kiselina; i heterofermentativne (rodovi *Leuconostoc* i *Weissella*) – one koje uz mliječnu kiselinu proizvode i CO₂ i etanol (RAKHMANOVA i sur., 2018.). Opisanom metaboličkom aktivnošću, odnosno potrošnjom laktoze i posljedičnim zakiseljavanjem mlijeka, bakterije mliječne kiseline stvaraju okoliš nepovoljan za rast drugih potencijalno patogenih mikroorganizama koji bi mogli dovesti do kvarenja proizvoda i rizika po ljudsko zdravlje (ROBINSON i TAMIME, 1999.; HUTKINS, 2006.; OWUSU-KWARTENG i sur., 2020.).

Prisutnost bakterija mliječne kiseline u mlijeku može biti spontana ili one mogu biti naknadno dodane kao starter kulture (GEMCHU, 2015.). Tradicionalno se mlijeko inokuliralo s već fermentiranim proizvodom, no takvi su proizvodi često varirali u kvaliteti, stoga je ta metoda u modernoj, industrijaliziranoj proizvodnji potpuno napuštena, iako se još uvijek koristi u nekim domaćinstvima (BINTSIS, 2018.), a danas se pretežno koriste poznate liofilizirane starter kulture specifične za proizvod koji se želi proizvesti (Tablica 1). Djelovanje starter kultura može se predvidjeti i kontrolirati te se proizvodni proces njihovom primjenom ubrzava (PETROVICKY, 2016.), a one imaju velik utjecaj na okus, teksturu, izgled i na sveukupnu kvalitetu konačnog proizvoda (ROBINSON i TAMIME, 1999.).

Tablica 1: Starter kulture u tehnologiji mlijeka (ŠUMIĆ, 2008.)

Rod	Vrsta	Učinak
<i>Streptococcus</i>	<i>thermophilus</i> , <i>lactis</i> , <i>diacetylactis</i>	- stvaranje mliječne kiseline - proteolitički učinak
<i>Leuconostoc</i>	<i>mesenteroides</i> , <i>lactis</i>	- heterofermentativni - stvaranje diacetila i acetona (arome)
<i>Lactobacillus</i>	<i>delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>acidophilus</i> , <i>casei</i>	- proteolitički učinak - daje specifičnu aromu

		jogurtu
<i>Bifidobacterium</i>	<i>bifidum, longum, infants, brevis</i>	- probiotički učinak

Fermentirana mlijeka su mliječni proizvodi pripremljeni od punomasnog, djelomično obranog ili potpuno obranog mlijeka, koncentriranog mlijeka ili mlijeka supstituiranog iz djelomično ili potpuno obranog mlijeka u prahu, nehomogeniziranog ili homogeniziranog pasteriziranog ili steriliziranog mlijeka djelovanjem specifičnih mikroorganizama (ANONIM., 2018.). ROBINSON i TAMIME (1999.) predložili su podjelu fermentiranih mlijeka na temelju dominantne mikrobne populacije u procesu fermentacije, odnosno na temelju toga sudjeluju li u fermentaciji kvasci (kefir, kumis), plijesni (viili) ili pak bakterije mliječne kiseline (jogurt, acidofil).

2.2.1. Jogurt

Jogurt je vrsta fermentiranog mlijeka koja nastaje dodatkom specifičnih mikrobioloških kultura u neki od osnovnih mliječnih proizvoda (mlijeko, obrano mlijeko, djelomično obrano mlijeko, vrhnje ili rekonstituirane verzije tih proizvoda) (SAMARŽIJA, 2021.), a proizvodi u tipu jogurta spominju se prvi put 8000 - 9000 godina prije Krista na području Mezopotamije te se smatra da su se od tamo proširili na Bliski Istok, Središnju Aziju te balkanski poluotok (SINGH i sur., 2021.).

Mikrobiološke starter kulture koje se dodaju u osnovni proizvod su *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus*. Simbioza tih starter kultura vrlo je bitna za postizanje tipičnih senzoričkih svojstava jogurta. *Lactobacillus delbruecki* koristi folnu kiselinu koju proizvodi *Streptococcus* za svoj rast, dok *Streptococcus* koristi aminokiseline i peptide koji nastaju posredstvom *Lactobacillus delbruecki* (SURONO, 2011.). Bakterije pretvaraju laktozu u galaktozu (koju ne metaboliziraju) i glukozu, koju fermentiraju u mliječnu kiselinu, što znači da se radi o homofermentativnom metabolizmu. Rast bakterija mliječne kiseline dovodi do nastanka raznih metabolita kao što su mliječna kiselina, egzopolisaharidi te razne aromatične supstance od kojih je acetaldehid najvažniji jer jogurtu daje specifičan, svježi okus (SINGH i sur., 2021.). Kao finalni proizvod jogurt mora sadržavati najmanje 2,7 % proteina i 0,6 % mliječne kiseline i manje od 15 % mliječne masti (ANONIM., 2018.). ROBINSON i TAMIME (1999.) podijelili su jogurte s obzirom na konzistenciju (čvrst, tekući i „*drink*“), postotak mliječne masti (sa smanjenim udjelom masnoće i punomasni) te prema okusu (običan, voćni, s okusom).

Kod tradicionalne pripreme jogurta cijeli postupak započinje zagrijavanjem mlijeka u prikladnoj posudi, dok se ono ne zgusne. Nakon hlađenja na oko 45 °C u mlijeko se dodaje jogurt od dana prije. Slijedi inkubacija za koju je ključno održavanje konstantne temperature što se u domaćinstvu postiže omatanjem lonca debelom dekom ili pak prebacivanjem smjese jogurta u termos bocu. Ovisno o aktivnosti mikroorganizama prisutnih u dodanom jogurtu i temperaturnim uvjetima proces inkubacije može trajati od tri do 18 sati. Čim se formira koagulum, jogurt se stavlja u hladnjak gdje se drži sve do konzumacije (ROBINSON i TAMIME, 1999.).

Industrijska proizvodnja jogurta obuhvaća sljedeće faze (ROBINSON i TAMIME, 1999.; SAMARŽIJA, 2021.):

- Standardizacija masti – separiranjem masti iz punomasnog mlijeka, miješanjem vrhnja s obranim mlijekom, dodatkom vrhnja mlijeku ili obranom mlijeku ili bilo kojom kombinacijom od navedenih metoda;
- Standardizacija proteina, laktoze i minerala (bezmasne suhe tvari) – mlijeko u prahu (punomasno ili obrano) dodaje se kako bi se povećao udio krutih česti;
- Homogenizacija mlijeka – mlijeko kao sirovina za proizvodnju jogurta je emulzija ulja u vodi pa je sklono separaciji. U homogenizatoru mlijeko bude istisnuto pod visokim tlakom kroz veoma mali otvor, što mehanički trga veze masnih globula te takve čestice masti postaju manje i bolje raspršene, zbog čega se ne separiraju iz tekuće faze mlijeka.
- Pasterizacija mlijeka – ima nekoliko bitnih funkcija (1. uništava nepoželjne i patogene mikroorganizme; 2. pasterizacijom nastaju stimulatorne i inhibitorne tvari starter kultura koje će naknadno biti dodane inokulacijom; 3. dovodi do bitnih fizikalno-kemijskih promjena (npr. mijenja se struktura nativnih kazeina i proteina sirutke radi povećanja viskoziteta mlijeka, razgradnjom proteina sirutke povezuju se za kazeinske micelle itd.). Pasterizacija se najčešće obavlja na temperaturi od 90-95 °C kroz 5-10 minuta ili na 80-85 °C kroz 20-30 minuta. Najvažnija toplinom inducirana reakcija je povezivanje proteina mlijeka u novi proteinski kompleks, što uvelike pridonosi formiranju gel strukture jogurta.
- Fermentacija – pasterizirano se mlijeko hladi na temperaturu inkubacije, odnosno na 40 - 45 °C prije inokulacije starter kulture u mlijeko. Vrijeme trajanja inkubacije tijekom fermentacije može trajati 2 i pol sata, pa čak i 18 sati ako inokuliramo mikrobne kulture na nižoj temperaturi (oko 30 °C). Sam proces fermentacije (hidroliza laktoze do mliječne kiseline) dovodi do pada pH. Acidifikacija mlijeka dovodi do destabilizacije kazeinskih micela, a s još većim padom Ph vrijednosti događa se i njihova precipitacija. Kazeinske micelle povezuju se u agregate te se formira gel.
- Hlađenje – počinje odmah nakon što proizvod postigne željeni pH (oko 4,6) te je primarna svrha hlađenja prestanak fermentacije, odnosno dodatnog pada pH. Kako su mikrobi starter kulture aktivni iznad 10 °C, cilj je hlađenja što prije spustiti temperaturu proizvoda na manje od 10 °C (idealna temperatura je manja od 5 °C).
- Dodatak voća/boja/okusa – dodaju se u količini između 6 i 35 %. Svježe voće može biti dodano u jogurte, no zbog sezonalne dostupnosti, moguće mikrobne kontaminacije te

varijabilne kvalitete puno češće se koristi prerađeno voće (pire, sirup, voće iz konzerve, pekmezi i sl.). Svrha voća u jogurtu primarno je poboljšanje senzoričke kvalitete jogurta, dok u nutritivnom smislu povećava udio ugljikohidrata (šećera) u proizvodu.

- Pakiranje – jogurt je lako pokvarljiva namirnica, stoga je bitno da ga pakiranje štiti od vanjskih utjecaja (mikroorganizmi, plinovi, prašina/prljavština, svjetlo).
- Hladna pohrana – veoma bitan korak koji osigurava nepromijenjenu kvalitetu jogurta i optimalna senzorička svojstva. Kod pakiranja, transporta i na mjestu prodaje bitno je da se održava hladni lanac (idealna je temperatura manja od 10 °C) bez prevelikih fluktuacija. Hladan režim pomaže usporiti biološke i biokemijske promjene posredovane mikroorganizmima koji su dospjeli u proizvod nakon pasterizacije ili su preživjeli proces fermentacije i pasterizacije. Takvi biološki kontaminanti mogu uzrokovati nepoželjne senzoričke promjene. Osim za mikrobiološku ispravnost, hlađenje proizvoda, posebice u prvih 48 sati, bitno je za pravilno formiranje koaguluma i stabilnost gela.

2.2.2. Kiselo vrhnje

Kiselo vrhnje je fermentirani proizvod koji se smatra tradicionalnim u mnogim zemljama Europe, Sjeverne i Južne Amerike, no koristi se kao hrana u cijelom svijetu. Vrhnje je prvotno nastalo spontanom fermentacijom mlijeka na sobnoj temperaturi, odnosno mliječne masti koja se zbog izostanka homogenizacije istaložila na površini mlijeka (NARVHUS i sur., 2019). Tradicionalna proizvodnja vrhnja vrlo je slična tradicionalnoj pripremi jogurta te se bazira na dodatku vrhnja od dana prije u pasterizirano mlijeko (HUTKINS, 2006.).

Vrhnje je definirano kao tekući mliječni proizvod u formi emulzije masti u obranom mlijeku (emulzija ulja u vodi). Sastoji se od frakcije mlijeka bogate mliječnom masti, koja je iz mlijeka izdvojena obiranjem. Masne globule u vrhnju zaštićene su lipoproteinskom membranom (SAMARŽIJA, 2012., 2021.). Vrhnje se najčešće definira prema udjelu mliječne masti (vrhnje \geq 18 % mliječne masti; polumasno vrhnje 10-18 % mliječne masti; masno vrhnje \geq 45 % mliječne masti; vrhnje za tučenje \geq 35 % mliječne masti; vrhnje za kavu \geq 10 % mliječne masti; vrhnje za

kuhanje ≥ 20 % mliječne masti), ali i prema načinu njegove toplinske obrade (pasterizirano ili sterilizirano vrhnje) ili prema namjeni (vrhnje za kuhanje, tučeno vrhnje, vrhnje za kavu, kiselo vrhnje i kiselo ili slatko vrhnje za izradu maslaca).

U tehnološkom postupku proizvodnje svih vrsta vrhnja zajednička je faza obiranje i standardizacija udjela mliječne masti. Homogenizacija i ostali tehnološki procesi koji slijede nakon obiranja ili separacije mliječne masti iz mlijeka koriste se radi dobivanja vrhnja s različitim svojstvima.

Tehnološki procesi proizvodnje kiselog vrhnja obuhvaćaju sljedeće faze (BORN, 2013., SAMARŽIJA 2012.; 2021.):

- Obiranje i standardizacija mliječne masti - mliječna mast iz mlijeka izdvaja se mehaničkim centrifugalnim separatorom. Pri tome se iz mlijeka odstranjuju nečistoće, somatske stanice i strane tvari. Nakon obiranja standardizira se udio mliječne masti u vrhnju (%). Vrhnje koje se koristi za pripremu kiselog vrhnja trebalo bi sadržavati minimalno 18 % m.m. te 9-9,5 % bezmasne suhe tvari, odnosno sveukupno više od 27,5 % ukupne suhe tvari.
- Predgrijavanje - smjesa se prije homogenizacije zagrije na temperaturu od oko 65 °C
- Homogenizacija - vrhnje se homogenizira na temperaturi od 60-70 °C kako bi se poboljšala njegova konzistencija. Homogenizacija prije pasterizacije smanjuje mogućnost kvarenja uslijed mikrobne kontaminacije, dok se homogenizacijom nakon pasterizacije inaktiviraju prirodne lipaze prisutne u mlijeku koje kasnije mogu uzrokovati užegli okus vrhnja.
- Pasterizacija – vrhnje se pasterizira na temperaturi od 73,9-79,4 °C kroz 30 minuta ili pri temperaturi od 82,2-85 °C kroz 3-4 minute, što ovisi o postupku homogenizacije (dvofazna ili jednofazna). Bitno je da temperatura ne bude manja od 65 °C jer će vrhnje nastalo pri takvoj temperaturi biti podložno grušanju. Cilj pasterizacije je uništenje patogenih bakterija, produženje održivosti vrhnja i razgradnja prirodnih enzima mlijeka (lipaze),.
- Hlađenje - prethodno homogenizirano i pasterizirano vrhnje, ohladi se na temperaturu inokulacije od 18-20 °C ili 28-30 °C, ovisno o mikrobnoj kulturi
- Inokulacija vrhnja - vrhnje se inokulira s 1-3 % odabrane mikrobne kulture

- Fermentacija – fermentacija traje 12-20 sati u fermentorima ili u čašicama. Punjenje inokuliranog vrhnja u čašice smatra se boljim postupkom u usporedbi s fermentacijom vrhnja u fermentorima, jer se zadržava viskoznost vrhnja. Fermentacijom u čašicama onemogućeno je oštećenje masnih globula koje može nastati tijekom faze mehaničkog prebacivanja već fermentiranog vrhnja iz fermentora u ambalažu. Na kraju fermentacije, vrhnje postigne pH manji od 5,2.
- Hlađenje – fermentacija se prekida hlađenjem. Kiselo vrhnje se mora brzo ohladiti na temperaturu od 4-5 °C u trajanju o 24 sata da se izbjegne daljnja acidifikacija i omogući potrebna kristalizacije mliječne masti.
- Pohrana – kiselo vrhnje u prodajnoj ambalaži pohranjuje se na temperaturi od 4 °C.

Kao starter kultura u proizvodnji kiselog vrhnja koristi se mješovita kultura različitih sojeva bakterija mliječne kiseline iz rodova *Lactococcus* te rjeđe *Leuconostoc*. Dio tih bakterija ima ulogu acidifikacije, odnosno snižavanja pH proizvoda (homofermentativne bakterije) dok je dio zadužen za stvaranje specifične arome vrhnja (heterofermentativne bakterije) U početku fermentacije, prvo se stvara mliječna kiselina, a potom aromatske komponente okusa (prvenstveno diacetil) koje se mogu sintetizirati tek kada pH vrhnja dosegne vrijednost nižu od 5,2 (GODDIK, 2012.; SAMARŽIJA, 2021.).

2.3. Kakvoća i senzorička svojstva jogurta i kiselog vrhnja

Kakvoća mlijeka i mliječnih proizvoda regulirana je zakonskim propisima, a zahtjevi kakvoće provjeravaju se fizikalnim, kemijskim, fizikalno-kemijskim, mikrobiološkim, enzimatskim te senzoričkim metodama. Iako poprilično subjektivna, senzorička analiza metoda je koja ne može biti zamijenjena, barem ne u potpunosti, primjenom mjernih instrumenata. U Europi se najčešće koriste metode bodovanja, kao npr. ponderirani sustavi bodovanja (FILAJDIĆ i sur., 1988.). U senzoričkoj analizi definiraju se promatrana svojstva (najčešće okus, miris, izgled, konzistencija i sl.), pa se za svako svojstvo daje ocjena od 1 do 5 s obzirom na kvalitetu pojedinog svojstva. U slučaju uočavanja grešaka ili mana na pojedinom svojstvu, broj bodova se umanjuje, ovisno o stupnju izraženosti te mane ili greške. Za svako svojstvo računa se srednja ocjena koja se zatim

množi s faktorom za to svojstvo, te se tako dobiju ponderirani bodovi. Zbroj svih bodova pomnoženih s odgovarajućim faktorom uzimaju se kao ocjena senzoričke analize, a maksimalan broj iznosi 20 (MARASOVIĆ, 2017.).

Jogurt je čistog i blago kiselog okusa, dok voćni/aromatizirani jogurt ima okus/aromu svojstvenu dodanom voću ili aromi. Dodaci jogurtu, bilo voće ili arome, moraju biti uniformno distribuirani po cijelom proizvodu. Okus jogurta ne smije biti jak i neprirodan. Teksturom i izgledom, jogurt ima gladak i homogen gel bez grudica ili izdvojene sirutke. Kada se žlicom jogurt uzima iz pakiranja, sa žlice ne smije kapati (prerijetka konzistencija), ali ne smije imati ni oštre rubove (previše čvrst gel). Poželjna boja jogurta bijele je do blijedožute boje (osim jogurta s dodacima), dok bi površina trebala bi biti glatka i sjajna bez diskoloracija (KARAGÜL-YÜCEER i DRAKE, 2013.).

Senzorička svojstva, kemijski sastav i kiselost domaćeg vrhnja variraju ovisno o sezoni proizvodnje, dok njegova mikrobiološka ispravnost ovisi o mikrobiološkoj kvaliteti sirovog mlijeka, higijeni pri proizvodnji te uvjetima pohrane i prodaje. U svojim istraživanjima KIRIN (2009.) je utvrdio veliku varijabilnost rezultata pa je vanjski izgled vrhnja bio svojstven u 66,7 % ispitivanih uzoraka, dok mu je konzistencija varirala od svojstvene do zgusnute s krupnim grudicama. Također, neujednačeni su bili miris i okus, pri čemu je u više od 40 % pretraženih uzoraka bila istaknuta kiselost i gorčina te u nekim uzorcima miris i okus po kvascima. Posljedično, u svim je uzorcima utvrđen i veliki broj kvasaca i plijesni.

2.4. Mikrobiološka ispravnost i kakvoća jogurta i kiselog vrhnja

Najveće značenje za mljekarsku industriju, u pozitivnom i negativnom smislu, imaju bakterije, kvasci i plijesni, dok su virusi mnogo manje važni te stoga nisu toliko proučavani kao ostali mikrobi. Mikroorganizmi uzročnici kvarenja mogu umanjiti kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda, a izrazito su važni patogeni mikroorganizmi, uzročnici zoonoza i bolesti koje se prenose mlijekom i proizvodima (SAMARŽIJA, 2021.). Stoga su Uredbom komisije (EZ) 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu propisani kriteriji sigurnosti hrane (za mliječne proizvode proizvedene od sirovog mlijeka je to *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* spp.) i

kriteriji higijene procesa (za vrhnje od sirovog mlijeka je to *E. coli*, za pasterizirane tekuće mliječne proizvode *Enterobacteriaceae*) (Tablica 2.). Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (ANONIM., 2011.) donosi i dodatne preporučene kriterije pa su to za fermentirane proizvode i za vrhnje od sirovog mlijeka uz salmonele i enterobakterije još i koagulaza pozitivni stafiokoki te kvasci i plijesni (Tablica 3.).

Tablica 2: Uredba (EZ) 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu (ANONIM., 2005.)

Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Kriteriji
1.2. Gotova hrana koja pogoduje rastu bakterije <i>Listeria monocytogenes</i> , osim hrane za dojenčad i za posebne med. potrebe	<i>Listeria monocytogenes</i>	Odsutnost u 25 g
1.11. Sirevi, maslac i vrhnje načinjeni od sirovog mlijeka ili mlijeka koje je obrađeno temperaturom nižom od temperature pasterizacije	<i>Salmonella</i> spp.	Odsutnost u 25 g
2.2.1. Pasterizirano mlijeko i drugi pasterizirani tekući mliječni proizvodi	<i>Enterobacteriaceae</i>	m=<1 CFU/ml M = 5/ml
2.2.6. Maslac i vrhnje napravljeni od sirovog mlijeka ili mlijeka koje je termički obrađeno na temperaturi nižoj od temperature pasterizacije	<i>E. coli</i>	m=10 CFU/g M=100 CFU/g

Tablica 3: Mikrobiološki kriteriji za kiselo mliječne fermentirane proizvode, kiselo vrhnje te vrhnje od sirovog mlijeka (ANONIM., 2011.)

	Hrana	Mikroorganizmi/ njihovi toksini i metaboliti	Plan uzorkovanja		Kriteriji
			n	c	
3.3.1.	Kiselo mliječni fermentirani proizvodi, kiselo vrhnje	Preporučeni			
		<i>Salmonella</i> spp.	5	0	n.n. u 25g
		Koagulaza pozitivni stafilokoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	m=10 cfu/g M=10 ² cfu/g
		<i>Enterobacteriaceae</i>	5	1	m=10 cfu/g M=10 ² cfu/g
		Kvasci i plijesni	5	1	m=10 cfu/g M=10 ² cfu/g
		Obvezni			
Uredba komisije (EZ) 2073/2005		Kriterij 1.2.			
3.3.2.	Vrhnje od sirovog mlijeka	Preporučeni			
		Koagulaza pozitivni stafilokoki / <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	m=10 ² cfu/g M=10 ³ cfu/g
		<i>Enterobacteriaceae</i>	5	1	m=10 ² cfu/g M=10 ³ cfu/g
		Kvasci i plijesni	5	1	m=10 cfu/g M=10 ² cfu/g
		Obvezni			
		Uredba komisije (EZ) 2073/2005		Kriterij 2.2.6. Kriterij 1.2. Kriterij 1.11.	

n = broj elementarnih jedinica koje sačinjavaju uzorak; c = dozvoljeni broj elementarnih jedinica uzorka koje daju vrijednosti između m i M.

U Zakonu o hrani (NN 81/13) navodi se da se “hranom štetnom za zdravlje ljudi smatra se hrana koja je zdravstveno neispravna jer:

- ne udovoljava mikrobiološkim kriterijima sigurnosti hrane prema posebnim propisima o mikrobiološkim kriterijima za hranu;
- sadrži patogene mikroorganizme, mikroorganizme koji nisu patogeni i parazite za koje je procjenom rizika utvrđen rizik za zdravlje ljudi”.

2.4.1. Patogeni i mikroorganizmi uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda

Patogeni mikroorganizmi koji se prenose hranom dijele se na one koji se mogu u ljudskom ili životinjskom tijelu umnažati, odnosno mogu izazvati infekciju, te na one koji se hranom samo prenose te izazivaju intoksikaciju toksinima oslobođenima u hrani tijekom rasta mikroba ili tijekom pasaže kroz gastrointestinalni trakt, neovisno o tome je li mikroorganizam koji proizvodi te toksine živ ili ne. Kod infekcije se bolest javlja kasnije nego kod intoksikacije zbog inkubacijskog perioda (BINTSIS, 2017.). U godišnjem izvješću EFSA/ECDC-a za 2020. godinu (ANONIM., 2021.) navodi se pet zoonoza s najvećom prevalencijom, i to salmoneloza, kampilobakterioza, infekcija STEC, listerioza te jersinioza. Svaka od ovih pet bakterijskih bolesti može biti uzrokovana mikrobiološki neispravnim mliječnim proizvodima. Najčešće izolirani patogeni mikroorganizmi u mlijeku i proizvodima su *Salmonella* spp. (TESFAW, 2013.), *E. coli* (SAMARŽIJA, 2021.), *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* i bakterije roda *Campylobacter*, najčešće *C. jejuni* (BINTSIS, 2017.). U Hrvatskoj je posljednjih desetljeća sličan nalaz mikrobioloških rizika pa su tako KOZAČINSKI i sur. (2003.) utvrdili pozitivni nalaz *E. coli* (17,69 %) i *S. aureus* (1,36 %) u uzorcima mlijeka i mliječnih proizvoda s križevačkog tržišta. U istraživanju mikrobiološke ispravnosti domaćeg vrhnja KIRIN (2009.) je utvrdio *E. coli* u 41,7 % pretraženih uzoraka a *S. aureus* u 25 % uzoraka. MARKOV i sur. (2009) utvrdili su da je 37 % pretraženih uzoraka vrhnja sadržavalo patogene bakterije, i to *S. aureus* u 41,55 % uzoraka a *L. monocytogenes* u 10 %. ZDOLEC i sur. (2016.) su utvrdili da je od 184 analiziranih uzoraka sirovog mlijeka iz mljekomata njih 6,52 % bilo pozitivno na prisutnost bakterije *L. monocytogenes*. JAKI TKALEC i sur. (2020.) upozoravaju na činjenicu da su sirovo mlijeko i vrhnje od sirovog mlijeka su mogući izvor patogene bakterijske vrste *Y. enterocolitica* i potencijalni rizik za zdravlje ljudi, a u svojem su istraživanju utvrdili njezinu prisutnost u 1,8 % uzoraka sirovog mlijeka.

Pokvarenom se smatra svaka hrana koja je zbog promijenjenog mirisa, okusa, izgleda, teksture ili prisutnosti stranog tijela potrošaču neprihvatljiva (SAMARŽIJA, 2021.). Kvarenje hrane ugrožava ljudsko zdravlje te dovodi do velikih ekonomskih gubitaka. Uzročnici kvarenja, iako vrlo često potpuno neopasni za ljudsko zdravlje, dovode do opadanja kvalitete te promjena primarnih svojstava mlijeka i mliječnih proizvoda. Procijenjeno je da 15-25 % ukupne svjetske hrane podlegne kvarenju te više nije prihvatljivo za konzumaciju (LASLO i GYORGY, 2018.).

Mikrobna kontaminacija jedan je od vodećih uzroka kvarenja hrane a do kontaminacije može doći u bilo kojem dijelu proizvodnog lanca (PAL i sur., 2016.). Opseg samih promjena ovisi o broju i vrsti mikroba (SAMARŽIJA i sur., 2007.). Takvi su mikroorganizmi najčešće ubikvitarni te iz tog razloga mogu doći iz mnogo izvora kao što su okruženje na farmi (stelja, hrana), mljekarska oprema (muzna oprema, oprema za pohranu mlijeka), osoblje u kontaktu s mlijekom i mliječnim proizvodima te zrak. Najčešće izolirani uzročnici kvarenja su bakterije roda *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. gessardii*, *P. fragi*, *P. lundensis*; MENG i sur., 2017.), iz porodice *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* i *Proteus*; SOBEIH i sur., 2020.), potom *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., najčešće *C. perfringens*, rijede *C. botulinum* i *C. tetani*. Također to su i bakterije mliječne kiseline (rodovi *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* i *Enterococcus*) te kvasci i plijesni *Geotrichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*), *Yersinia lipolytica*, *Saccharomyces* spp., *Debaromyces hansenii* te *Kluyveromyces marxianus*. Najčešće izolirane plijesni su iz rodova *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium* i *Fusarium*. Kvarenje fermentiranih mliječnih proizvoda postaje vidljivo kada populacija kvasaca dosegne razinu od 10^5 – 10^6 organizama/g proizvoda (SAMARŽIJA, 2012., 2021.).

2.5. Čimbenici koji utječu na održivost fermentiranih mliječnih proizvoda

Osobine i svojstva mikrobne populacije sirovog mlijeka u trenutku prerade od iznimnog su značaja za pojavu kvarenja, vrijeme održivosti i organoleptičku kvalitetu mliječnih proizvoda. Uvođenjem obaveznog hlađenja mlijeka u tehnološku obradu, njegova bakteriološka kvaliteta dramatično se poboljšala, te je gotovo u potpunosti zaustavljen rast mezofilnih bakterija kao što su bakterije mliječne kiseline. No, s duljom pohranom kvaliteta proizvoda ipak opada, što se događa zbog rasta psihrotrofnih mikroorganizama kao što su bakterije roda *Pseudomonas* (SAMARŽIJA, 2012.), ali i rodova *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Bacillus*, *Lactococcus*, *Microbacterium* i *Staphylococcus*, koji su od posebne važnosti za mljekarsku industriju jer mogu proizvoditi termostabilne enzime (YUAN i sur., 2019.). Rok trajanja fermentiranih mliječnih proizvoda držanih na temperaturi hladnjaka prosječno iznosi oko dva tjedna. Istraživanja su pokazala da taj vremenski period ovisi osim o temperaturi i vremenu pohrane o higijensko

sanitarnim uvjetima u kojima se mlijeko proizvodi i pakira. Primjena tehnoloških procesa kao što su aseptičko pakiranje, termizacija proizvoda i pasterizacija mogu dodatno produžiti održivost proizvoda (FOLEY i MULCAHY, 1989.).

Rok trajanja jogurta ovisi o vrsti proizvoda, uvjetima proizvodnje i temperaturi skladištenja. Bakterijska razgradnja jogurta je ograničena ali kvasci, gljivice i neke bakterije mliječne kiseline mogu ga pokvariti stvarajući neugodan okus. Osim toga, kada se tijekom skladištenja dogodi postacidifikacija, višak kiselosti rezultira sinerezom, pa se posljedično izdvaja serum na površini proizvoda, što utječe na njegovu senzoričku kvalitetu. Štoviše, kada se fermentacija nastavi nakon procesa fermentacije, proizvode se derivati organske kiseline i spojevi s neugodnim okusom zbog proteolize. Potonji problem obično se rješava korištenjem starter kultura koje prestaju rasti pri pH 4,4 (MOSCHOPOULOU i sur., 2019.).

Rok trajanja kiselog vrhnja ovisi o vrsti proizvoda pa na konstantnoj temperaturi pohrane od 4 °C može iznositi 25-45 dana (MEUNIER-GODDIK, 2004.). FOLKENBERG i SKRIVER (2001.) istraživali su promjenu senzoričkih svojstava kiselog vrhnja tijekom skladištenja. Kako se vrijeme skladištenja približavalo 28 dana, pojačavao se intenzitet peckanja u ustima, kiselog mirisa i gorkog okusa. Kako su uzorci bili pohranjeni u idealnim laboratorijskim uvjetima, autori smatraju da bi u stvarnim uvjetima maloprodaje rok trajanja ovog proizvoda bio ispod 28 dana. MEUNIER-GODDIK (2004.) navodi da je najvažniji čimbenik koji određuje rok trajanja kiselog vrhnja u stvari kvaliteta vrhnja. Ukoliko vrhnje nije izvrsne kvalitete, kiselo vrhnje brzo razvija neugodne okuse. Dva parametra koja utječu na kvalitetu vrhnja su kvaliteta sirovog mlijeka (mali ukupni broj bakterija i somatskih stanica) i postupak s mlijekom (brzo hlađenje nakon mužnje, toplinska obrada). Vremenski interval između mužnje i pasterizacije trebao bi biti što kraći kako bi se ograničio rast psihotropnih mikroorganizama. Ukoliko se koristi vrhnje visoke kvalitete, na rok trajanja kiselog vrhnja mogu utjecati površinski rast kvasaca i plijesni te nedostaci okusa. Kvasci i plijesni kontroliraju se poboljšanjem sanitarnih uvjeta tijekom proizvodnje.

3. Materijali i metode

3.1. Proizvodnja fermentiranih mliječnih proizvoda na OPG-u

Svi uzorci proizvedeni su na istom obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu s područja Zagrebačke županije. OPG se bavi proizvodnjom mlijeka i mliječnih proizvoda (svježeg sira i raznih vrsta kuhanih sireva, kiselog vrhnja, jogurta i voćnih jogurta) dugi niz godina.

Kao osnovnu sirovinu za svoje proizvode OPG koristi sirovo mlijeko krava simentalke pasmine. Nakon mužnje mlijeko se odmah pohranjuje u laktofriz gdje se hladi na 4 °C uz stalno miješanje, a u proizvodnji fermentiranih proizvoda koristi se mlijeko koje nikada nije starije od 24 h. Mlijeko se za pripremu jogurta pasteurizira, dok se za proizvodnju kiselog vrhnja koristi sirovo, termički neobrađeno mlijeko.

Za proizvodnju kiselog vrhnja mlijeko se toči u gastro posude iz mliječnih pumpi. Nakon toga slijedi naciepljivanje kiselog mlijeka od dana ranije te se ostavi da fermentira 24 h na 22 °C. Potom se s vrha gastro posude obire vrhnje, pakira i hladi.

Mlijeko za jogurt se mliječnom pumpom toči u sirarski kotao. Pasterizira se na temperaturi od 92 °C u trajanju od dvije minute uz stalno miješnje. Nakon pasterizacije slijedi hlađenje do temperature od 40 °C kada se u takvo ohlađeno mlijeko dodaje jogurtna kultura. Smjesa se miješa 10 minuta, a zatim se rastoči u kante te slijedi fermentacija na 40 °C u trajanju od šest sati. Nakon fermentacije jogurt se hladi do 4 °C i pohranjuje kroz 48 h, nakon čega se homogenizira i pakira. Za dobivanje voćnog jogurta postupak je identičan, samo se tijekom postupka homogenizacije umiješa voćni pekmez.

3.2. Uzorci

Istraživanje održivosti fermentiranih mliječnih proizvoda (jogurt, voćni jogurt i kiselo vrhnje) obuhvatilo je senzoričku, fizikalno kemijsku i mikrobiološku pretragu. Pretraženo je po sedam uzoraka jogurta, voćnih jogurta i kiselog vrhnja; n=21. Uzorci su dostavljeni u laboratorij Zavoda za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta 7. ožujka 2022. godine.

Proizvodi su bili u svom originalnom pakiranju, potjecali su iz iste proizvodne serije te su bili pravilno označeni i deklarirani.

Ovisno o vrsti proizvoda njihov je rok upotrebljivosti bio različit. Najkraći rok upotrebljivosti imalo je kiselo vrhnje.

Uzorci su podijeljeni u dvije skupine s obzirom na temperaturu pohrane u pokusu. Prvu skupinu činili su proizvodi koji su pohranjeni su na +4 °C , a drugu skupinu proizvodi koji su bili pohranjeni na temperaturi od +12 °C .

Senzorička pretraga uzoraka obavljena je prvi dan, po dostavi uzoraka u laboratorij. Određivanje pH uzoraka i mikrobiološke pretrage obavljene su 1., 3., 4. i 14. dana pohrane na različitim temperaturama. Odabrani 14. dan analize uzoraka voćnog jogurta i jogurta pratio je deklarirani rok upotrebljivosti, dok je kod kiselog vrhnja bio kraći (7. dana).

3.3. Senzorička pretraga

Senzoričku je pretragu proveo panel od 5 ocjenjivača prvog dana po dopremanju uzoraka. Ocjenjivanje je provedeno metodom bodovanja sustavom od 20 ponderiranih bodova. Ocjenom od 1 do 5 ocjenjivala su se sljedeća svojstva :

- okus
- miris
- konzistencija
- naknadni okus u ustima

Pojedini su pokazatelji korigirani čimbenikom značajnosti proporcionalni njihovoj važnosti. Za okus čimbenik značajnost iznosi 1,5, za miris 0,5 dok za svojstva konzistencija i naknadni okus u ustima on iznosi 1. Maksimalan broj bodova za pojedini proizvod iznosi 20.

3.4. Fizikalna pretraga - određivanje pH

Za mjerenje pH koristili smo se digitalnim pH-metrom (WTW ProfiLine). Između svakog proizvoda sondu smo ispirali i uranjali u pufersku otopinu.

3.5. Mikrobiološka pretraga

Mikrobiološkim pretragama uzoraka voćnog jogurta, jogurta, i kiselog vrhnja obuhvaćeni su sljedeći mikroorganizmi:

- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella* spp.
- *Enterobacteriaceae*
- kvasci i plijesni

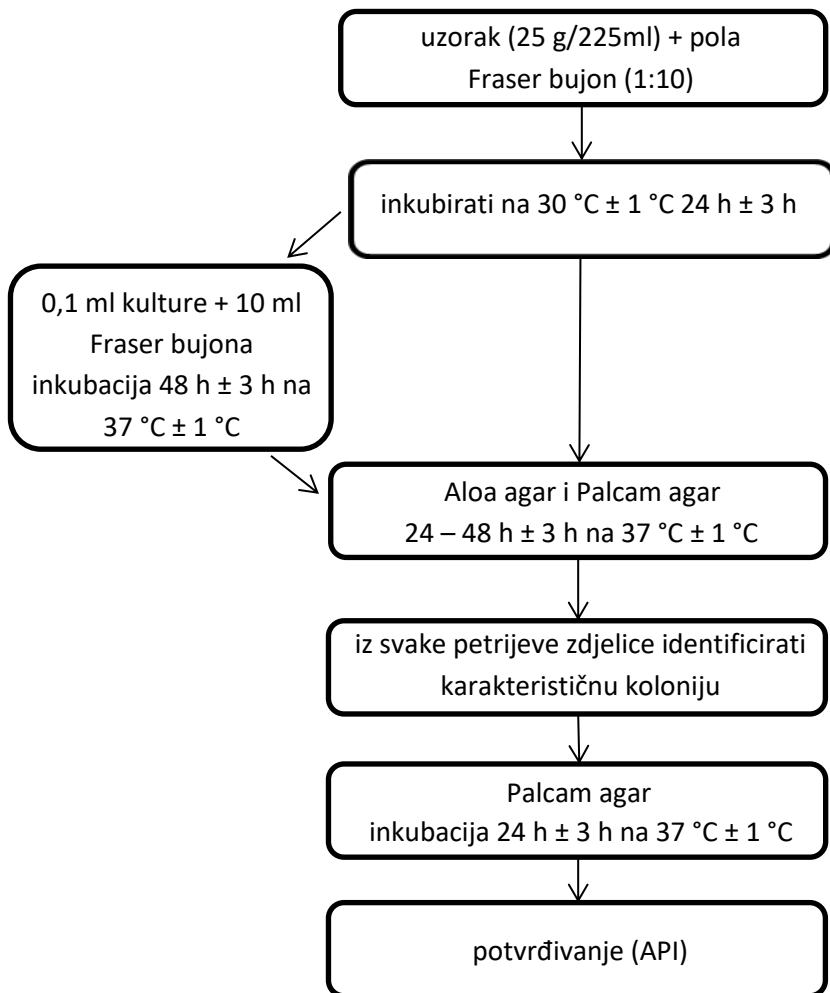
Kako je cilj rada bio utvrditi održivost fermentiranih mliječnih proizvoda od pasteriziranog (voćni jogurt i jogurt) i nepasteriziranog mlijeka (kiselo vrhnje) uzorci su analizirani na prisutnost enterobakterija te kvasaca i plijesni. Dodatno, kao kriterij sigurnosti, uzorci su pretraženi na prisutnost *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp. (0/25 g/ml). Pratili smo porast enterobakterija te kvasaca i plijesni tijekom vremena pohrane uzoraka, a vrste poraslih kvasaca i plijesni u fermentiranim mliječnim proizvodima utvrdili smo lančanom reakcijom polimeraze.

U mikrobiološkoj pretrazi koristili smo se HRN ISO metodama (Tablica 4), te API potvrdnim testovima proizvođača bioMérieux.

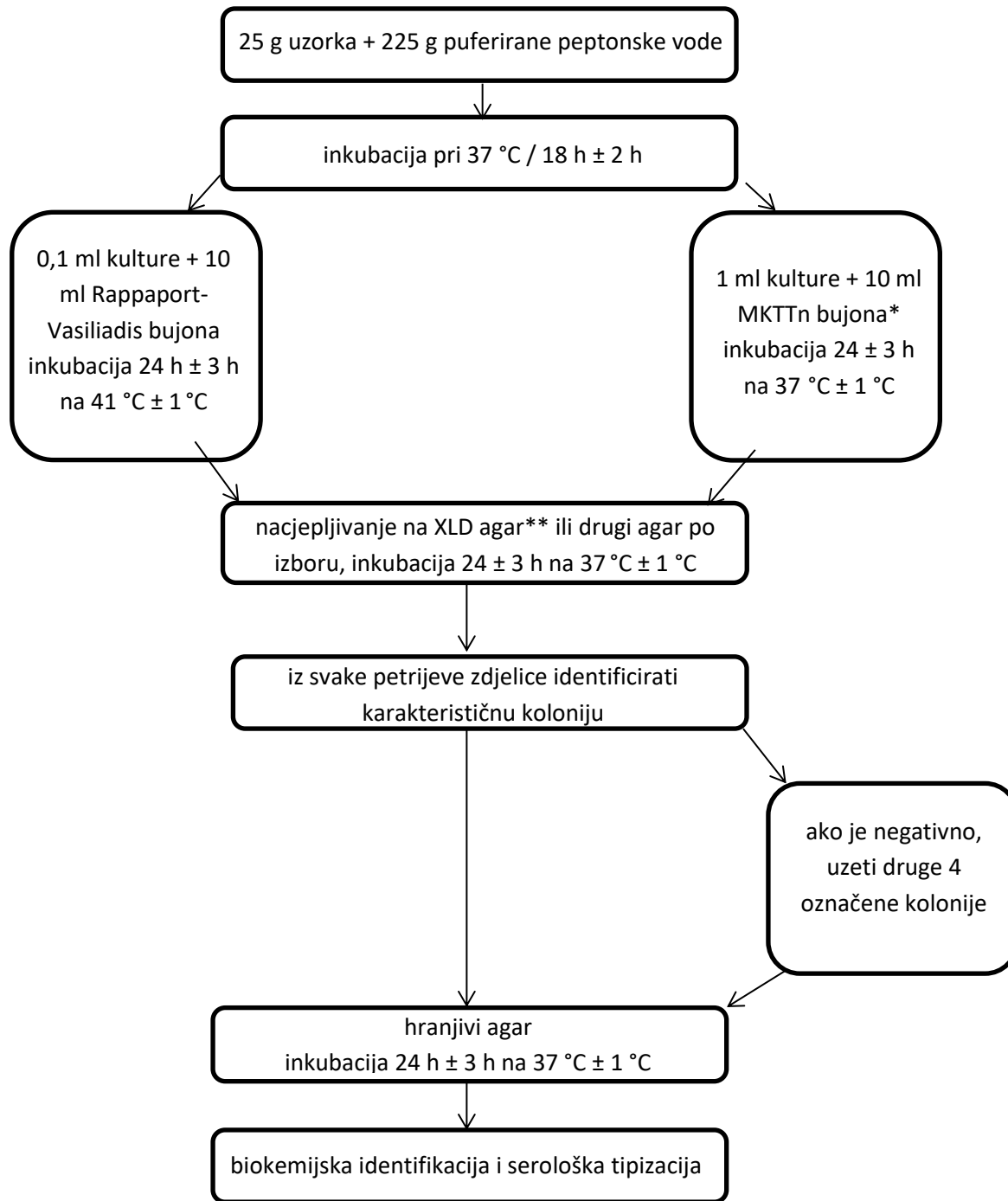
Tablica 4: Korištene propisane metode u mikrobiološkoj pretrazi

Pokazatelj	ISO norma
<i>L. monocytogenes</i>	HRN EN ISO 11290-1:2017 Mikrobiologija u lancu hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja <i>Listeria monocytogenes</i> i drugih <i>Listeria</i> spp. -- 1. dio: Metoda dokazivanja prisutnosti
<i>Salmonella</i> spp.	HRN EN ISO 6579: 6579-1:2017 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti <i>Salmonella</i> spp.
<i>Enterobacteriaceae</i>	HRN EN ISO 21528-1:2017 Mikrobiologija u lancu hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja <i>Enterobacteriaceae</i> -- 1. dio: Dokazivanje prisutnosti <i>Enterobacteriaceae</i>
Kvasci i plijesni	HRN ISO 21527- 1:2012 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni – 1. dio: Tehnika brojanja kolonija u proizvodima s aktivitetom vode većim od 0,95

Postupak izolacije navedenih bakterija te kvasaca i plijesni prikazan je shemama 2 do 5.



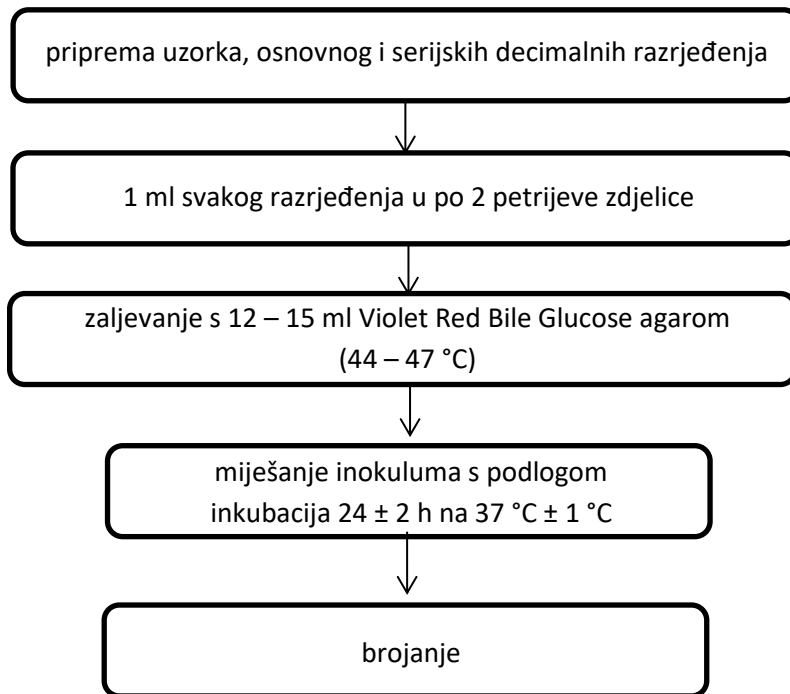
Shema 2: Postupak izolacije bakterije *Listeria monocytogenes*



* MKTTn bujon - MULLER-KAUFFMANN Tetrathionate Novobiocin) broth

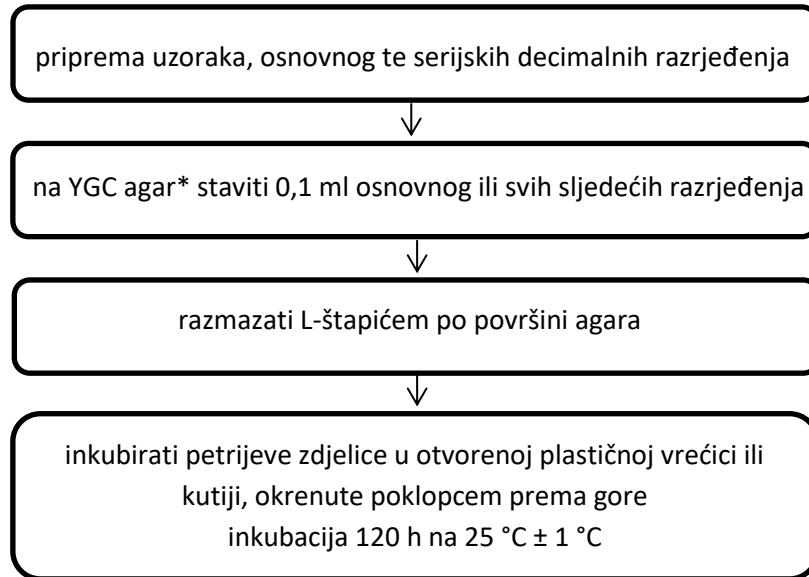
** XLD agar Xylose Lysine Deoxycholate agar

Schema 3: Postupak izolacije bakterija *Salmonella* spp.



Shema 4: Postupak izolacije enterobakterija

Nakon izolacije enterobakterija iz uzorka, slijedilo je određivanje njihovog broja prema normi koristeći se formulom : $N = \frac{\Sigma C}{V \times 1,1 \times d}$ gdje N označava ukupan broj mikroorganizama, ΣC zbroj prebrojanih kolonija na dvije petrijeve ploče od dva uzastopna razrjeđenja, od kojih najmanje jedna sadrži 10 kolonija, V predstavlja volumen inokuluma u mililitrima a d je faktor razrjeđenja koji odgovara prvom zadržanom razrjeđenju.



* YGC agar - Yeast Glucose Chloramphenicol

Shema 5: Postupak izolacije kvasaca i plijesni

Nakon naciepljivanja uzorka na YGC (Yeast Glucose Chloramphenicol) agar i inkubacije (shema 5) petrijeve ploče s poraslim kolonijama kvasaca i plijesni dostavili smo u Hrvatski veterinarski institut, Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje na Odjelu za veterinarsko javno zdravstvo radi daljnje identifikacije. Postupak molekularne identifikacije kvasaca obavljen je prema ZADRAVEC i sur. (2020.) na sljedeći način:

Morfološki različite kolonije precijepljene su na Malt Extract Agar (MEA) kao bi se dobile njihove čiste kulture. Nakon inkubacije na MEA od 3 dana na 25 ± 1 °C iz svake je kultura kvasaca izolirana DNK (komercijalnim kitom NucleoSpinMicrobial DNK, MachereyNagel, Düren, Njemačka) prema uputama proizvođača. Lančanom reakcijom polimerazom (PCR) umnožena je D1/D2 regija 28S rRNK gena početnicama N1 (5' GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG 3') i N2 (5' GGTCCGTGTTTCAAGACGG 3'). PCR mješavina volumena 25 μ L sadržavala je: 12.5 μ L 2x PCR buffer (HotStarTaq Plus MasterMix Kit, Qiagen, Germany), 2,5 μ L 10 x Coral Load, 0,4 μ M svake početnice, vode za molekularne reakcije i 1 μ L izolirane DNK. PCR reakcija se odvijala prema temperaturnom protokolu - početna denaturacija na 95 °C kroz 5 min, nakon koje je slijedilo 40 ciklusa: 94 °C kroz 30 s, 56 °C kroz 30 s, 72 °C kroz 60 s te završno produljenje na 72 °C kroz 10 min. Dobiveni produkti

provjereni su elektroforezom na 1,5 % agarozu gelu i vizualizirani UV transiluminatorom. PCR produkti adekvatne veličine prije slanja na sekvenciranje u Macrogen Inc. (Amsterdam, Nizozemska) pročišćeni su ExoSAP-IT PCR clean up reagensom (Affymetrix, California, SAD). Dobivene sekvence uređene su LasergeneSeqManPro DNASTAR 13 (Madison, Wisconsin, SAD) računalnim programom, a dobivene sekvence uspoređene su sa sekvencama u GeneBank i MycoBank koristeći BLAST algoritme.

4. Rezultati

Rezultati senzoričke, fizikalne i mikrobiološke pretrage fermentiranih mliječnih proizvoda iz istraživanja, prikazani su u tablicama 5 do 8.

4.1. Senzorička pretraga

Tablica 5: Ocjena senzoričke pretrage fermentiranih mliječnih proizvoda

Pokazatelj (čimbenik značajnosti korekcije rezultata)	Proizvod					
	Voćni jogurt		Jogurt		Kiselo vrhnje	
	Ukupna ocjena (5 ocjenitelja)	Prosječna korigirana ocjena	Ukupna ocjena (5 ocjenitelja)	Prosječna korigirana ocjena	Ukupna ocjena (5 ocjenitelja)	Prosječna korigirana ocjena
Okus (1,5)	24	7,2	24	7,2	24	7,2
Miris (0,5)	25	2,5	24	2,4	25	2,5
Konzistencija (1)	25	5,0	25	5,0	25	5,0
Naknadni okus u ustima (1)	24	4,8	25	5,0	24	4,8
Ukupna korigirana ocjena		19,5		19,6		19,5

4.2. Određivanje pH fermentiranih mliječnih proizvoda

Tablica 6: Kretanje pH fermentiranih mliječnih proizvoda tijekom pohrane na različitim temperaturama

Proizvod	1. dan	3. dan		7. dan		14. dan	
		4 °C	12 °C	4 °C	12 °C	4 °C	12 °C
Voćni jogurt	4,39	4,35	4,34	4,34	4,30	4,40	4,37
Jogurt	4,49	4,43	4,41	4,44	4,39	4,47	4,43
Kiselo vrhnje	4,61	4,51	4,48	4,65	4,61	4,75	/*

* Uzorak kiselog vrhnja je odbačen zbog senzoričkih promjena i kvarenja

4.3. Mikrobiološka pretraga

Mikrobiološkom pretragom je utvrđeno da niti jedan pretraženi uzorak nije sadržavao bakteriju *L. monocytogenes* niti bakterije roda *Salmonella*. Stoga ih u daljnjim pretragama nismo utvrđivali. Porast enterobakterija zabilježen je u u svim pretraženim uzorcima (Tablica 7., Slike 1 i 2).

Tablica 7: Nalaz bakterija roda *Enterobacteriaceae* u uzorcima fermentiranih mliječnih proizvoda tijekom pohrane na različitim temperaturama

Proizvod	1. dan	3. dan		7. dan		14. dan	
		4 °C	12 °C	4 °C	12 °C	4 °C	12 °C
<i>Enterobacteriaceae</i> (cfu/ml)							
Voćni jogurt	4,8x10 ²	0	0	0	0	0	0
Jogurt	7,3 x10 ¹	0	0	0	0	0	0
Kiselo vrhnje	Preraslo*	2,6x10 ²	2,2x10 ²	2x10 ⁶	1,0x10 ⁵	2.1x10 ⁵	Uzorak odbačen

*Preraslo – korišteno je premalo razrjeđenje

Istraživanjem je obuhvaćena i pretraga uzoraka na nalaz kvasaca i plijesni tijekom pohrane. Utvrđeni su u svim uzorcima (Slika 3), u uzorcima kiselog vrhnja već prvog dana, a u voćnom jogurtu i jogurtu njihov je porast zabilježen od trećeg dana pohrane.

Lančanom reakcijom polimeraze (PCR) odabrane kolonije kvasaca i plijesni porasle na selektivnom agaru potvrđene su do vrste (Tablica 8).

Tablica 8: Rezultati molekularne identifikacije kvasaca i plijesni

Vrsta	Voćni jogurt	Jogurt	Kiselo vrhnje	Voćni jogurt	Jogurt	Kiselo vrhnje
	Pohrana na temperaturi 4 °C			Pohrana na temperaturi 12 °C		
<i>Tularospora quercuum</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Pichia fermentans</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Galactomyces geotrichum</i> *	-	+	+	-	-	+
<i>Galactomyces geotrichum</i> **	-	-	+	-	-	+
<i>Galactomyces geotrichum</i> ***	-	-	-	+	+	+
<i>Candida intermedia</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Aspergillus</i> sp.	-	-	-	-	+	-

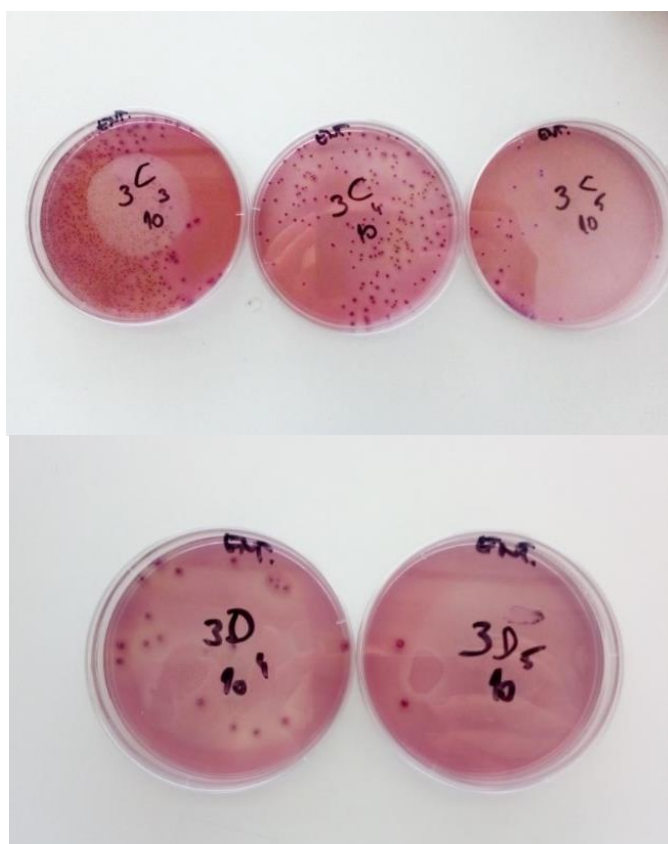
* dlakava kolonija s „pupkom“

** dlakava kolonija bez „pupka“

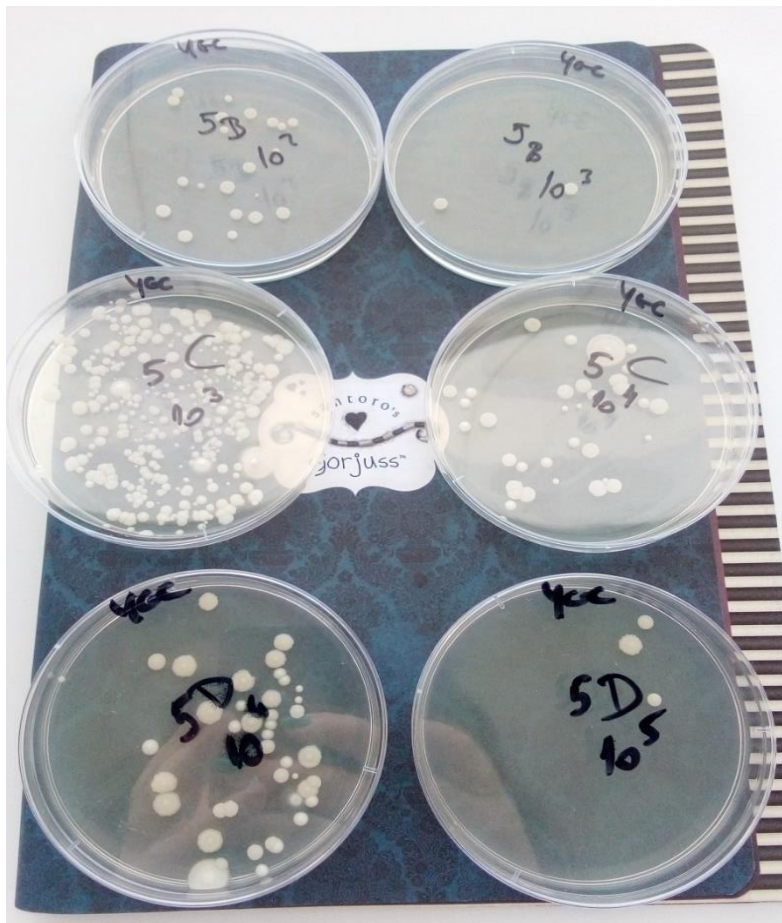
*** glatka kolonija s „pupkom“ i uzvišenom sredinom



Slika 1. Mikrobiološka pretraga uzorka



Slika 2: Prikaz uzgojenih enterobakterija iz uzorka kiselog vrhnja držanog na +4 °C, 7. dan (C) i 14. dan (D) pohrane



Slika 3: Prikaz uzgojenih kvasaca u jogurtu držanom na +12 °C u uzorcima 3. (B), 7. (C) i 14. (D) dan



Slika 4: Promjene na kiselom vrhnju (nabubrena ambalaža, izdvojena sirutka, pjenušavost, promjena boje i konzistencije) držanom na +12 °C.

5. Rasprava

U senzoričkoj pretrazi jogurta i vrhnja (Tablica 5) nisu utvrđena značajnija odstupanja u ocjenjivanim parametrima. Jogurt je bio bijele do svijetložute boje, homogen, ugodnog i blago kiselog okusa i mirisa. Voćni jogurt je također bio homogen, bez grudica, te je imao okus i miris po dodanom voću. Vrhnje je bilo bijele do svijetložućkaste boje, homogeno i bez grudica te blago kiselog okusa i specifičnog blagog mirisa. Jedan član panela požalio se na mastan i težak okus vrhnja i naknadni okus u ustima. CLARK i sur. (2009.) objašnjavaju kako je mastan naknadni okus u ustima često posljedica korištenja previše stabilizatora ili odabir pogrešnog stabilizatora u proizvodnji kiselog vrhnja. S obzirom da u tehnologiji proizvodnje kiselog vrhnja ovaj OPG ne koristi stabilizatore, postoji mogućnost da je mastan okus u ustima posljedica prevelike količine mliječne masti u vrhnju. Na deklaraciji navode kako vrhnje sadrži minimalno 20 % m.m. u suhoj tvari, no pošto ne standardiziraju vrhnje prije fermentacije, ne znaju točno koliki je to postotak.

Početna pH vrijednost jogurta prvog dana iznosila je 4,49. Postepeno se spuštala sve do 14. dana pohrane kada je došlo do porasta pH na oba temperaturna režima (Tablica 6). Konačni izmjereni pH jogurta držanog na +4 °C bio je 4,47, dok je kod jogurta držanog na +12 °C bio je nešto niži i iznosio 4,43. Voćni je jogurt prvog dana imao pH vrijednost 4,39. Nakon postepenog pada, 14. dana pohrane uočen je blagi rast pH na obje temperature pohrane. Konačni pH voćnog jogurta držanog na +4 °C iznosio je 4,40, a onoga držanog na 12 °C bio je 4,37. BOŽANIĆ i sur. (2000.) u svom su istraživanju tijekom čuvanja jogurta od kravljeg i kozjeg mlijeka kroz 9 dana na temperaturi od 8 °C, zabilježili postepeni pad pH koji je za jogurt od kravljeg mlijeka bio niži od vrijednosti u našem istraživanju i iznosio je 4,03. Naši rezultati su slični rezultatima istraživanja koje su objavili RANASINGHE i PERERA (2016.) koji su kod svih uzoraka jogurta kroz period od 21 dan zabilježili pad pH vrijednosti do 7. dana, no kod nekih uzoraka je pH nastavio padati i nakon 14. dana, te se nakon tog perioda ponovno blago povišio, kao i u našem istraživanju.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je pad pH vrijednosti bio veći u proizvodima držanima na +12 °C. Ti su rezultati u skladu sa zaključcima nekih autora (ROBINSON i TAMIME; 1999.;

RANASINGHE i PERERA, 2016.) koji pojašnjavaju da je brzo hlađenje jogurta na temperaturu manju od 10 °C tehnološki proces kojim se smanjuje biološka aktivnost bakterija mliječne kiseline i sprječava prekomjerna acidifikacija. Međutim, pri držanju proizvoda na +12 °C bakterije su bile aktivnije, što znači da su nastavljale s fermentacijom i posljedičnom proizvodnjom mliječne kiseline, što je dovelo i do većeg pada pH proizvoda držanih na +12 °C u odnosu na proizvode držane na +4 °C.

Niži pH voćnog jogurta u usporedbi s „običnim“ jogurtom koji je utvrđen u našem istraživanju, zabilježili su u svom radu KAMBER i HARMANKAYA (2019.) te BOŽANIĆ i sur. (2000.). KAMBER i HARMANKAYA (2019.) navode kako je pad pH voćnog jogurta bio za 2-3 puta veći nego kod „običnog“ jogurta. Objašnjavaju to činjenicom da bakterije mliječne kiseline koriste ugljikohidrate za proizvodnju mliječne kiseline, što bi značilo da više ugljikohidrata znači veću količinu mliječne kiseline, odnosno niži pH.

SAMARŽIJA (2021.) ističe kako su neke vrste kvasaca sposobne koristiti mliječnu kiselinu i/ili laktat za svoj metabolizam, što bi moglo objasniti naš porast pH jer su u svim uzorcima jogurta i voćnog jogurta utvrđeni kvasci i plijesni (Tablice 6 i 8).

Rezultati mikrobiološke pretrage pokazali su da u uzorcima jogurta, voćnog jogurta i kiselog vrhnja bakterija *L. monocytogenes* i bakterije roda *Salmonella* nisu utvrđene. *L. monocytogenes* u mliječnim proizvodima preživi zbog grešaka u pasterizaciji sirovog mlijeka ili će biti unijeta u proizvode naknadnom kontaminacijom (MAGDALENIĆ, 1993.). Iako mi nismo dokazali prisustvo ove bakterije u našim uzorcima, proizvodi OPG-a potencijalno mogu predstavljati opasnost, posebice kiselo vrhnje, zbog tehnologije proizvodnje prema kojoj se mlijeko kao sirovina ne pasterizira. TAHOUN i sur. (2017.) istražili su 300 uzoraka sirovog mlijeka, mljekarske opreme te brisova ruku radnika na farmi. *Listeria* spp. izolirana je iz 79 od 300 uzoraka (26,3 %), dok je od tih 79 pozitivnih uzoraka *L. monocytogenes* činila 87,3 % svih pronađenih vrsta. Nešto veću zastupljenost bakterija roda *Listeria* navode YOUSEF i sur. (2020.) u čijem je istraživanju od 150 prikupljenih uzoraka sirovog mlijeka *Listeria* spp. bila izolirana iz čak 36 % uzoraka, dok je zastupljenost *L. monocytogenes* u uzorcima iznosila 14 %. U uzorcima jogurta su izolirali bakterije roda *Listeria*, no nisu dokazali prisutnost *L. monocytogenes*.

Naši uzorci također su bili negativni na bakterije iz roda *Salmonella*. TESFAW i sur. (2013.) utvrdili su prevalenciju *Salmonella* spp. u tradicionalnim etiopijskim proizvodima od 1,6 %, no kao ni mi u jogurtu nisu dokazali prisutnost ovih bakterija. Naši se rezultati podudaraju i s rezultatima JAKI TKALEC i sur. (2020.) koji su pretražili 159 uzoraka mliječnih proizvoda (sirovog kravljeg mlijeka n=109 i svježeg kravljeg sira i vrhnja, n=50), u kojima nisu detektirali bakterije *Salmonella* spp. i *L. monocytogenes*, ali su zato u 15 (13,8 %) uzoraka sirovog mlijeka i 24 (48 %) uzoraka svježeg sira i vrhnja izdvojili enterobakterije. Jednako kao i MLADENović i sur. (2021.) smatraju da je nalaz enterobakterija indikator mikrobiološke kvalitete proizvoda i procesa proizvodnje.

Rezultati našeg istraživanja broja enterobakterija u voćnom jogurtu i jogurtu pokazali su da je prvog dana pokusa njihov broj iznosio $4,8 \times 10^2$ CFU/mL (voćni jogurt), odnosno $7,3 \times 10^1$ CFU/mL (jogurt). Već nakon trećeg dana pa sve do kraja pokusa iz jogurta i voćnog jogurta enterobakterije nisu izolirane (Tablica 7).

Za razliku od voćnog jogurta i jogurta, broj enterobakterija u kiselom vrhnju pokazao je izraziti rast do 7. dana pokusa ($2,0 \times 10^6$ CFU/mL kod kiselog vrhnja držanog na $+4$ °C te $1,0 \times 10^5$ CFU/mL kod vrhnja pohranjenog na $+12$ °C), a potom je broj enterobakterija pao za jedan log i 14. dana je bio $2,1 \times 10^5$ CFU/mL kod kiselog vrhnja držanog na 4 °C. Kiselo vrhnje držano na 12 °C morali smo odbaciti jer je uzorak pokazivao znakove kvarenja. Ambalaža je bila deformirana, a sadržaj je bio pjenušav i bile su vidljive promjene konzistencije (Slika 4).

U literaturi se navode određeni razlozi naglog opadanja broja enterobakterija, koje je zabilježeno i u našem istraživanju. Tako HERVET i sur. (2017.) naglo opadanje broja enterobakterija pripisuju niskom pH jogurta, ali i inhibitornim faktorima inherentnima jogurtu, kao što su starter kulture. U odnosu na broj enterobakterija koje su većinom eliminirane iz mlijeka tijekom pasterizacijom, bakterije starter kultura prisutne su u komparativno velikim brojkama. Kako one koriste laktozu u svom metabolizmu, aktivno otimaju hranu ostalim mikroorganizmima, što ima za posljedicu njihovo odumiranje. Bakterije mliječne kiseline koje čine starter kulture su mezofilne ili termofilne, stoga će na višoj temperaturi prerasti enterobakterije koje ionako preferiraju niže temperature, iako nisu psihofilne (MRAZOVIĆ, 2017.; SAMARŽIJA, 2021.).

Situacija je posve drugačija s kiselim vrhnjem. No prethodno navedena teorija također objašnjava razliku u naglom porastu broja enterobakterija u našem istraživanju u uzorcima kiselog vrhnja držanog na različitim temperaturama. Tako je u kiselom vrhnju sedmog dana pohrane broj enterobakterija bio veći za oko 4 log (+4 °C), odnosno 3 log (+12 °C) u odnosu na broj zabilježen trećeg dana. S druge strane, SERIO i sur. (2006.) su u svom radu o siru Pecorino Abruzzese čak i 60. dana zrenja dokazali enterobakterije u broju 10² CFU/g. Poveznica između njihovog sira i našeg vrhnja je korištenje sirovog mlijeka umjesto pasteuriziranog.

Uzorci voćnog jogurta, jogurta i kiselog vrhnja pretraživani su i na prisustvo kvasaca i plijesni. Mikrobiološkom pretragom porast kvasaca u kiselom vrhnju utvrđen je već od prvog, a u jogurtu od trećeg dana pokusa. U obje vrste uzoraka na +4 °C utvrđene su vrste *Torulaspora quercuum*, *Pichia fermentans*, *Galactomyces candidus* (*Geotrichum*), dok su na +12 °C utvrđeni još i *Candida intermedia*, *Galactomyces geotrichum*, te plijesan *Aspergillus* sp. (Tablica 8). Navedeni nalaz sugerira kako su uzorci kontaminirani tijekom proizvodnje, te samim time im je narušena održivost, ali i sigurnost. Ovakav nalaz u suglasju je s tvrdnjom da fermentirani proizvodi radi niskog pH favoriziraju rast kvasaca i plijesni u odnosu na bakterije. Puno je veća pojavnost kvasaca koji mogu rasti i bez prisutnosti kisika nego plijesni koje su aerobne i rastu na samoj površini proizvoda (SAMARŽIJA, 2007., 2021.).

Naš nalaz kvasaca i plijesni potvrđuje SAMARŽIJA (2007., 2021.) koja također navodi najčešće izdvojene vrste i rodove kvasaca i plijesni izdvojenih iz mlijeka i mliječnih proizvoda (*Geotrichum candidum*, *Pichia fermentans*, *Candida* spp., *Aspergillus* spp.). Plijesni roda *Aspergillus* spp. izolirali su u svojim istraživanjima JORDANO i sur. (1991.), OYELEKE (2009.), EL-ANSARY (2014.), ZADRAVEC i sur. (2020.). BAI i sur. (2010.) te YANG i sur. (2014.) izolirali su iz fermentiranog mlijeka kvasac *Pichia fermentans* i druge kvasce iz roda *Pichia* te kvasce iz roda *Torulaspora* spp. Za razliku od našeg istraživanja, JORDANO i sur. (1991.), OYELEKE (2009.) i EL-ANSARY (2014.) izolirali su plijesni roda *Penicillium* spp., dok su GOLIĆ i sur. (2013.), YANG i sur. (2014.) te ZADRAVEC i sur. (2020.) izolirali kvasac *Debaryomyces hansenii*.

Galactomyces geotrichum (*Galactomyces candidus*, *Geotrichum candidus*) kojeg smo izolirali iz jogurta i vrhnja koristi se u proizvodnji nekih sireva i fermentiranih mlijeka (viili) u sastavu starter kultura (WOUTERS i sur., 2002.). S obzirom na to da OPG iz kojega potječu naši uzorci

na svome gospodarstvu u istoj kuhinji te s istom opremom proizvodi i sireve, to bi mogao biti potencijalni izvor kontaminacije ispitivanih uzoraka. *Galactomyces candidus* izoliran je iz tri morfološki različite kolonije. U svome radu PERKINS i sur. (2020.) makroskopski i mikroskopski opisali su tri morfortipa koje čini 11 sojeva vrste *G. geotrichum* koji opisima odgovaraju izgledu kolonija u našem istraživanju.

Također, uzorci kiselog vrhnja pokazivali su senzoričke promjene (neravna, izbrazdana površina proizvoda) koje se mogu dovesti u vezu s kontaminacijom kvascima, prije svega *Geotrichum candidum*. SAMARŽIJA (2021.) navodi da su zrak i stočna hrana potencijalni izvori kontaminacije mlijeka kvascima i plijesnima, a potom se mliječni proizvodi mogu kontaminirati kvascima i plijesnima tijekom njihove proizvodnje. Smatra se da kvasci povezani s mlijekom i mliječnim proizvodima nisu patogeni za ljude, no postoji opasnost za imunokompromitirane osobe ukoliko se radi o kontaminaciji s vrstama *Candida* spp. koje smo izolirali iz uzoraka jogurta, voćnog jogurta i kiselog vrhnja pohranjenih na temperaturi od +12 °C. Osim *Penicillium* spp., česti uzročnici kvarenja mliječnih proizvoda su i plijesni *Aspergillus* spp. koje smo utvrdili u našim uzorcima jogurta i kiselog vrhnja.

Ovakvi nalazi sugeriraju da su mliječni proizvodi kontaminirani enterobakterijama te kvascima i plijesnima tijekom pojedinih faza njihove proizvodnje. Naknadna kontaminacija mliječnih proizvoda enterobakterijama očituje se njihovim kvarenjem, no jednako tako njima može biti kontaminirano sirovo mlijeko, što je možda jedan od razloga njihovog nalaza u kiselom vrhnju. To su razlozi zbog kojih je narušena njihova održivost ali i sigurnost.

6. Zaključci

Fermentirani mliječni proizvodi definirani su specifičnom mikrobnom kulturom koja se koristi za njihovu fermentaciju i daje im prepoznatljivu teksturu i okus. Niska pH vrijednost fermentiranih mliječnih proizvoda te bakterije iz mikrobnih kultura inhibiraju rast nepoželjnih mikroorganizama, što pozitivno utječe na njihov rok održivosti. Osnovna razlika između industrijske i tradicionalne proizvodnje fermentiranih mliječnih proizvoda je u odabiru sirovine. Sirovo mlijeko sa sobom nosi određene rizike u smislu povećanog broja nepoželjnih mikroorganizama koji mogu utjecati na njihova senzorička svojstva ali i na mikrobiološku sliku. Tijekom proizvodnje, u bilo kojoj fazi, moguća je i naknadna kontaminacija koja će dodatno narušiti higijensku ispravnost, odnosno sigurnost proizvoda. Najbolji dokaz tome su rezultati mikrobiološke pretrage uzoraka pasteriziranih proizvoda, jogurta i voćnog jogurta, u kojima enterobakterije nisu utvrđene tijekom pohrane na +4 °C, ali i na povišenoj temperaturi pohrane od +12 °C. Nasuprot tome, u uzorcima kiselog vrhnja, proizvedenog iz sirovog mlijeka, broj enterobakterija se povećavao tijekom oba režima pohrane. Kvasci i plijesni, utvrđeni u svim uzorcima ukazuju na kontaminaciju tijekom proizvodnje, posebno s obzirom na činjenicu da se lako šire zrakom a na gospodarstvu iz kojega potječu uzorci proizvode se i razne vrste sireva za koje su pojedini kvasci i plijesni karakteristični. Korištenje istih prostora u proizvodnji sireva i mliječnih proizvoda ukazuje na potrebu primjene postulata dobre higijenske prakse kako ne bi bila narušena njihova održivost i sigurnost.

7. Literatura

1. ANONIMNO (2004.): UREDBA (EZ) br. 853/2004 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 29. travnja 2004. o utvrđivanju određenih higijenskih pravila za hranu životinjskog podrijetla (L 139 30.4.2004., 55) Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R0853&from=LV>
Pristupljeno 24.11.2022.
2. ANONIMNO (2005.): UREDBA KOMISIJE (EZ) br. 2073/2005 od 15. studenoga 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu (L 338/1 22.12.2005., 34) Dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:32005R2073&from=HR>
Pristupljeno 24.11.2022.
3. ANONIMNO (2009.): Code of hygienic practice for milk and milk products CAC/RCP 57-2004 (Adopted 2004., Amendment 2007, 2009.) FAO Dostupno na: <http://files.foodmate.com/down.php?auth=UTBVOFwwUDs>
Pristupljeno 22.11.2022.
4. ANONIMNO (2011.): Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (3. izmijenjeno izdanje). Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja. Ožujak 2011. Dostupno na: <https://cdn.agroklub.com/upload/documents/vodic-za-mikrobioloske-kriterije-za-hranu.pdf>
Pristupljeno 25.11.2022.
5. ANONIMNO (2012.): HRN ISO 21527-1:2012 Mikrobiologija hrane i hrane za životinje – Horizontalna metoda za brojenje kvasaca i plijesni – 1. dio: Tehnika brojenja kolonija u proizvodima s aktivitetom vode većim od 0,95 (ISO 21527-1:2008). Dostupno na: <http://31.45.242.218/HZN/todb.nsf/wFrameset2?OpenFrameSet&Frame=Down&Src=%2FHZN%2Ftodb.nsf%2FNormaSve%2F480ac64bd54a552ec12574d400263f4e%3FOpenDocument%26AutoFramed>
Pristupljeno 10.10.2022.
6. ANONIMNO (2013.): Zakon o hrani (NN 81/13, 14/14, 30/15, 115/18). Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_81_1699.html

Pristupljeno 16.10.2022.

7. ANONIMNO (2017.): HRN EN ISO 11290-1:2017 Mikrobiologija u lancu hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i drugih *Listeria* spp. -- 1. dio: Metoda dokazivanja prisutnosti (ISO 11290-1:2017; EN ISO 11290-1:2017) Dostupno na: <https://repositorij.hzn.hr/norm/HRN+EN+ISO+11290-1%3A2017>
Pristupljeno 17.11.2022.
8. ANONIMNO (2017. a): HRN EN ISO 21528-1:2017 Mikrobiologija u lancu hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i određivanje broja *Enterobacteriaceae* -- 1. dio: Dokazivanje prisutnosti *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-1:2017; EN ISO 21528-1:2017) Dostupno na: <https://repositorij.hzn.hr/norm/HRN+ISO+21528-2%3A2008>
Pristupljeno 17.11.2022.
9. ANONIMNO (2017. b): HRN EN ISO 6579-1:2017 Mikrobiologija u lancu hrane -- Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* -- 1. dio: Dokazivanje prisutnosti *Salmonella* spp. (ISO 6579-1:2017; EN ISO 6579-1:2017) Dostupno na: <https://repositorij.hzn.hr/norm/HRN+EN+ISO+6579-1%3A2017%2FA1%3A2020> Pristupljeno 18.11.2022.
10. ANONIMNO (2018.): Codex Alimentarius. International Food Standards. Standard for fermented milks CXS 243-2003. (Adopted in 2003. Revised in 2008, 2010, 2018.) FAO/WHO Dostupno na: <https://www.fao.org/3/i2085e/i2085e00.pdf>
Pristupljeno 10.10.2022.
11. ANONIMNO (2021.): The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. EFSA Journal 19 (12). doi: 10.2903/j.efsa.2021.6971 Dostupno na: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2021.6971>
Pristupljeno 17.10.2022.
12. BAI, M., M. QING, Z. GUO, Y. ZHANG, X. CHEN, Q. BAO, H. ZHANG, T. SUN (2010.): Occurance and dominance of yeast species in naturally fermented milk from the Tibetan plateau of China. Can. J. Microbiol. 56 707-714doi: 10.1139/w10-056
13. BINTSIS, T. (2017.): Foodborne pathogens. AIMS Microbiol., 3, 529-563. doi: 10.3934/microbiol.2017.3.529

14. BINTSIS, T. (2018.): Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiol.* 4, 665-684. doi: 10.3934/microbiol.2018.4.665
15. BORN, B. (2013.): Cultured/Sour Cream. U: *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks.* (R. C. Chandan, A. Kilara, Eds.). Second edition. John Wiley & Sons, Inc., pp. 381-386.
16. BOŽANIĆ, R., LJ. TRATNIK, O. MARIĆ (2000.): Senzorska svojstva i prihvatljivost jogurta i aromatiziranog jogurta proizvedenog od kozjeg i kravljeg mlijeka. *Mljekarstvo* 50, 199-208.
17. CAPOZZI, V., M. FRAGASSO, F. BIMBO (2021.): Microbial resources, fermentation and reduction of negative externalities in food systems: patterns toward sustainability and resilience. *Fermentation* 7, 54. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020054>
18. CLARK, S., M. COSTELLO, M. DRAKE, F. BODYFELT (2009.): *The Sensory Evaluation of Dairy Products.* Second edition. Springer Science + Business Media, LLC. New York, pp. 73-135, 191-225, 403-427.
19. EL-ANSARY, M. A. (2014.): Assessment of microbiological quality of yogurt sold in El-Behera governorate. *Alex. J. Vet. Sci.*, 43, 52-57.
20. FILAJDIĆ, M., M. RITZ, V. VOJNOVIĆ (1988.): Senzorska analiza mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 38, 295-301.
21. FOLEY, J., A. J. MULCAHY (1989.): Hydrocolloid stabilisation and heat treatment for prolonging shelf life of drinking yoghurt and cultured buttermilk. *Irish J. Food Sci. Tec.* 13, 43-50.
22. FOLKENBERG, D. M., A. SKRIVER (2001.): Sensory properties of sour cream as affected by fermentation culture and storage time. *Milchwissenschaft* 56, 261-264.
23. GEMCHU, T. (2015.): Review on lactic acid bacteria function in milk fermentation and preservation. *Afr. J. Food Sci.* 9, 170-175. doi: 10.5897/AJFS2015.1276
24. GODDIK, L. (2012.): Sour Cream and Crème Fraiche. U: *Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology.* Second edition. (Y. H. Hui, O. Evranuz, Eds). CRC Press. New York, pp. 235-244.
25. GOLIĆ, N., N. CADEŽ, A. TERZIĆ-VIDJEVIĆ, H. SURANSKA, J. BEGANOVIĆ, J. LOZO, B. KOS, J. SUŠKOVIĆ, P. RASPOR, LJ. TOPISIROVIĆ (2013.): Evaluation of

- lactic acid bacteria and yeast diversity in traditional white pickled and fresh soft cheeses from the mountain regions of Serbia and lowland regions of Croatia. *Int. J. Food Microbiol.* 166, 294-300. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.032
26. HERVET, C. J., N. H. MARTIN, K. J. BOOR, M. WIEDMANN (2017.): Survival and detection of coliforms, *Enterobacteriaceae* and Gram-negative bacteria in Greek yogurt. *J. Dairy Sci.* 100, 950-960. doi: 10.3168/jds.2016-11553
27. HUTKINS, R. W. (2006.): *Microbiology and technology of fermented foods*, 1.izdanje. Wiley-Blackwell. New York, pp. 15-145.
28. JAKI TKALEC, V., S. FURMEG, M. KIŠ, J. SOKOLOVIĆ, M. BENIĆ, L. CVETNIĆ, Ž. PAVLINEC, S. ŠPIČIĆ, Ž. CVETNIĆ (2020.): Nalaz patogenih bakterija u sirovom mlijeku i mliječnim proizvodima s posebnim osvrtom na vrstu *Yersinia enterocolitica*. *Vet. stanica* 51, 487-495. doi:10.46419/vs.51.5.9
29. JORDANO, R., L. M. MEDINA, J. SALMERON (1991.): Contaminating microflora in fermented milk. *J. Food Prot.* 54, 131-132. doi:10.4315/0362-028X-54.2.131
30. KAMBER, U., S. HARMANKAYA (2019.): The effect of fruits to the characteristics of fruit yogurt. *Pak. J. Agric. Sci.* 56, 495-502. doi: 10.21162/PAKJAS/19.5706
31. KARAGÜL-YÜCEER, Y., M. DRAKE (2013.): Sensory analysis of yogurt. U: *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks, Second Edition.* (R. C. Chandan, A. Kilara, Eds.), John Wiley & Sons, Inc.2013, pp. 353-367.
32. KIRIN, S. (2009.). Bjelovarsko domaće vrhnje. *Mljekarstvo*, 59, 343-348.
33. KOZAČINSKI, L., Ž. CVRILA, M. HADŽIOSMANOVIĆ, D. MAJNARIĆ i B. KUKURUZOVIĆ (2003.): Mikrobiološka ispravnost mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 53, 17-22.
34. LASLO, E., E. GYORGY (2018.): Evaluation of the microbiological quality of some dairy products. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria* 11, 27-44. doi:10.2478/ausal-2018-0002
35. MAGDALENIĆ, B. (1993.): Značaj nalaza *Listeria monocytogenes* u mlijeku i mliječnim proizvodima. *Mljekarstvo* 43, 11-21.
36. MEUNIER-GODDIK, L. (2004.): Sour Cream and crème fraîche. U: *Handbook of food and beverage fermentation technology*, First edition. (Y. H. Hui, L. Meunier-Goddik, O.

- S. Hansen, J. Josephsen, W. K. Nip, P. S. Stanfield, F. Told , Eds.), CRC Press, New York, pp. 171-183.
37. MARASOVIĆ, I. (2017.): Održivost svježeg sira pakiranog u vakuumu i modificiranoj atmosferi. Diplomski rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
38. MARKOV, K., J. FRECE, D. ČVEK i F. DELAŠ (2009): *Listeria monocytogenes* i drugi kontaminanti u svježem siru i vrhnju domaće proizvodnje s područja grada Zagreba. *Mljekarstvo* 59, 225-231.
39. MENG, L., Y. ZHANG, H. LIU, S. ZHAO, J. WANG, N. ZHENG (2017.): Characterization of *Pseudomonas spp.* and associated proteolytic properties in raw milk stored at low temperatures. *Front. Microbiol.* doi:10.3389/fmicb.2017.02158
40. MLADENOVIĆ, K. G., M. Ž. GRUJOVIĆ, M. KIŠ, S. FURMEG, V. JAKI TKALEC, O. D. STEFANOVIĆ, S. D. KOCIĆ-TANACKOV (2021.): *Enterobacteriaceae* in food safety with emphasis on raw milk and meat. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 105, 8615-8627. doi: 10.1007/s00253-021-11655-7
41. MOSCHOPOULOU, E., G. MOATSOU, M. K. SYROKOU, S. PARAMITHIOTIS, E. H. DROSINOS (2019.). Food quality changes during shelf life. *Food Quality and Shelf Life*, 1–31. doi:10.1016/b978-0-12-817190-5.00001-x
42. MRAZOVIĆ, M. (2017): Mikrobiološki rizici u proizvodnji svježeg sirovog mlijeka. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet. Zagreb, Hrvatska.
43. NARVHUS, J. A., N. OTSBY, R. K. ABRAHAMSEN (2019.): Science and technology of cultured cream products: A review. *Int. Dairy J.* 93, 57-71. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.011>
44. OWUSU-KWARTENG, J., F. AKABANDA, D. AGYEI, L. JASPERSEN (2020.): Microbial safety of milk production and fermented dairy products in Africa. *Microorganism* 8, 752. doi: 10.3390/microorganisms8050752.
45. OYELEKE, S. B. (2009.): Microbial assessment of some commercially prepared yoghurt retailed in Minna, Niger State. *Afr. J. Microbiol. Res* 3, 245-248. <https://doi.org/10.5897/AJMR.9000485>
46. PAL, M., S. MULU, M. TEKLE, S. V. PINTOO, J. P. PARAJAPATI (2016.): Bacterial contamination of dairy products. *Beverage Food World* 43, 40-43.

47. PERKINS, V., S. VIGNOLA, M. LESSARD, P. PLANTE, J. CORBEIL, E. DUGAT-BONY, M. FRENETTE, S. LABRIE (2020.): Phenotypic and genetic characterization of the cheese ripening yeast *Geotrichum candidum*. *Front. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00737>
48. PETROVICKY, B. (2016.): Primjena starter kultura u prehrambenoj industriji. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Hrvatska.
49. QUIGLEY, L., O. O'SULLIVAN, C. STANTON, T. P. BERESFORD, P. ROSS, G. F. FITZGERALD, P. D. COTTER (2013.): The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 664-698. doi: 10.1111/1574-6976.1203
50. RAKHMANOVA, A., K. SHAH (2018.): A mini review of fermentation and preservation: role of lactic acid bacteria. *J. Food Process. Technol.* 18, 414-416. doi: 10.15406/mojfpt.2018.06.00197
51. RANASINGHE, J. G. S., N. T. R. PERERA (2016.): Prevalence of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* stability in commercially available yogurt in Sri Lanka. *Asian J. Med. Sci.* 7, 97-101. <https://doi.org/10.3126/ajms.v7i5.14326>
52. ROBINSON, R. K., A. Y. TAMIME (1999.): *Yoghurt - Science and Technology*, Second edition. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, Engleska, pp. 15-149.
53. ROŽIĆ, J. (2014): Utjecaj pohrane na rast bakterije *L. monocytogenes* u kuhanom kravljem siru. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
54. SALOPEK, L. (2016.): Kakvoća i mikrobiološka ispravnost kuhanog sira. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet. Zagreb, Hrvatska.
55. SAMARŽIJA, D. (2021.): Mljekarska mikrobiologija. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb. str. 2-21, 130-176, 187-193, 228-235, 240-259.
56. SAMARŽIJA, D., M. PODOREŠKI, S. SIKORA, A. SKELIN, T. POGAČIĆ (2007.): Mikroorganizmi - uzročnici kvarenja mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 57, 251-273.
57. SAMARŽIJA, D., Š. ZAMBERLIN, T. POGAČIĆ (2012.): Psihrotrofne bakterije i njihov negativni utjecaj na kvalitetu mlijeka i mliječnih proizvoda. *Mljekarstvo* 62, 77-95.

58. SERIO, A., C. CHAVES-LÓPEZ, A. PAPARELLA, A. CORSETTI, G. MARTINO, G. SUZZI (2006.): Microbiological and physico-chemical characterization of Pecorino Abruzzese cheese during ripening. U: Proceedings of Technological Innovation and Enhancement of Marginal Products (C. Severini, T. De Pilli, R. Giuliani, Eds.). 6-8 April 2005, Foggia. Grenzi C. Publ., Foggia, Italy.
59. SINGH, R., M. NIKITHA, S. MANGALLEIMA, N. MANGALLEIMA (2021.): The product and the manufacturing of yoghurt. Int. J. Mod. Trends Sci. Technol., 7, 48-51. doi: 10.46501/IJMTST0710007
60. SOBEIH, A. M. K., I. I. AL-HAWARY, E. M. KHALIFA, N. A. EBIED (2020.): Prevalence of *Enterobacteriaceae* in raw milk and some dairy products. KVMJ 18, 9-13. doi: 10.21608/KVMJ.2020.39992.1009
61. SURONO, I. S. (2011.): Fermented milks-types and standards of identity. U: Encyclopedia of Dairy Science. Second edition. (J. W. Fuquay, P. F. Fox, P. L. M. McSweeney, Eds). Elsevier Ltd., pp. 470-476.
62. TAHOUN, A. B. M. B., R. M. M. ABOUELEZ, E. N. ABDELFAH, I. ELSOHABY, A. A. EL-GEDANY, A. M. EL MOSLEMANY (2017.): *Listeria monocytogenes* in raw milk, milking equipment and dairy workers: molecular characterization and antimicrobial resistance patterns. Glob. Antimicrob. Resist., 264-270. doi: 10.1016/j.jgar.2017.07.008
63. TESFAW, L. B. TAYE, S. ALEMU, H. ALEMAYEHU, Z. SISAY, H. NEGUSSIE (2013.): Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* isolates from dairy products of Addis Ababa, Ethiopia. Afr. J. Microbiol. Res. 7, 1-24. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5635>
64. VISAKH, P. M., L. B. ITURRIAGA, P. O. RIBOTTA (eds) (2013.): Advances in Food Science and nutrition, vol. 2. Wiley-Scriver. New York., pp. 4-5. doi: 10.1002/9781118865606.ch3
65. WIDYASTUTI, Y., A. FEBRISANTOSA (2013.): Milk and Different Types of Milk Products. U: Advances in Food Science and Nutrition, vol. 2 (P. M.Visakh, L. B. Iturriaga, P. O. Ribotta, Eds.). Wiley-Scriver. New York, pp. 49-69. doi: 10.1002/9781118865606.ch3

66. WOUTERS, J. T. M., E. H. E. AYED, J. HUGENHULTZ, G. SMIT (2002.): Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 12, 91-109. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00151-0)
67. YANG, J. J., C. GUO, W. GE, O. WANG, Y. ZHANG, Y. CHEN, J. YANG, Y. MA, Y. YUAN, L. QUIN (2014): Isolation and identification of yeast in yak milk dreg of Tibet in China. *Dairy Sci. Technol.* 94, 455-467. doi: 10.1007/s13594-014-0172-7
68. YOUSEF, M., H. RAMADAN, M. AL-ASHMAWY (2020.): Prevalence of *Listeria* species in raw milk, ice cream and yogurt and effect of selected natural herbal extract on its survival. *Mansoura Vet. Med. J.* 21, 99-106. <https://doi.org/10.35943/mvmj.2020.21.317>
69. YUAN, L., F.A. SADIQ, M. BURMØLLE, N. WANG, G. HE (2019.): Insights into psychrotrophic bacteria in raw milk: a review. *J. Food Prot.*, 82, 1148–1159. doi:10.4315/0362-028x.jfp-19-032
70. ZADRAVEC, M., V. JAKI TKALEC, S. FURMEG, M. KIŠ, M. MITAK, T. MIKUŠ (2020.): Molekularna identifikacija kvasaca iz svježeg mlijeka i tradicionalno proizvedenog svježeg sira. *Vet. stanica* 51, 605-610. <https://doi.org/10.46419/vs.51.6.4>
71. ZDOLEC, N., V. DOBRANIĆ, I. FILIPOVIĆ, M. KRGA, N. MIKULEC (2016.): Nalaz patogenih bakterija i bakterija kvarenja u mlijeku iz mljekomata. Zbornik radova 6. veterinarskog kongresa (Harapin I., ur.), Opatija. 155-160.
72. ŠUMIĆ, Z. (2008.): Starter kulture u tehnologiji mlijeka. Dostupno na: <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/starter-kulture-u-tehnologiji-mlijeka> (pristupljeno 24.11.2022.)

8. Sažetak

Održivost fermentiranih mliječnih proizvoda

Josipa Biljan

Cilj rada bio je istražiti održivost fermentiranih mliječnih proizvoda od pasteriziranog (jogurt i voćni jogurt) i nepasteriziranog mlijeka (kiselo vrhnje) u uvjetima pohrane u hladnjaku na različitim temperaturnim uvjetima (+4 °C i +12 °C). Svi su proizvodi proizvedeni u OPG-u, od mlijeka koje se dobiva iz vlastite proizvodnje. Provedene su senzorička, fizikalno-kemijska (pH), te mikrobiološka pretraga (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, kvasci i plijesni). Proizvodi su uzorkovani 1., 3., 7. i 14. dan pohrane. U senzoričkoj pretrazi voćnog jogurta, jogurta i kiselog vrhnja prvog dana pohrane nisu utvrđena značajnija odstupanja u ocjenjivanim parametrima pa su miris i okus bili svojstveni vrsti proizvoda a konzistencija gusta, tekuća. Praćenjem pH utvrđeno je da su vrijednosti u jogurtu (4,49-4,47; 4,49-4,43) i voćnom jogurtu (4,39-4,40; 4,39-4,37) ostale gotovo identične na obje temperature pohrane dok su vrijednosti u kiselom vrhnju rasle na +4 °C (4,61-4,75), a na +12 °C je mjerenje zaustavljeno zbog kvarenja posljednjeg dana. U mikrobiološkoj pretrazi baterije *Salmonella* spp. i *L. monocytogenes* nisu utvrđene. Enterobakterije u voćnom jogurtu i jogurtu nisu utvrđene od trećeg dana pohrane na obje temperature, dok je u kiselom vrhnju njihov broj rastao do $2,1 \times 10^5$ CFU/mL na temperaturi od +4 °C. Mikrobiološkom pretragom porast kvasaca u vrhnju utvrđen je već od prvog, a u jogurtu od trećeg dana pokusa. U obje vrste uzoraka na +4 °C utvrđene su vrste *Torulasporea quercuum*, *Pichia fermentans*, *Galactomyces candidus* (*Geotrichum*), dok su na +12 °C utvrđeni još i *Candida intermedia*, *Galactomyces geotrichum*, te plijesan *Aspergillus* sp. Navedeni nalaz sugerira kako su uzorci kontaminirani tijekom proizvodnje, te im je time narušena održivost, ali i sigurnost.

Ključne riječi: mliječni proizvodi, održivost, pohrana, kontaminacija, kvasci

9. Summary

Sustainability of fermented milk products

Josipa Biljan

The aim of this study was to investigate the viability of fermented dairy products from pasteurised (yoghurt and fruit yogurt) and unpasteurised milk (sour cream) at different storage conditions (+4 °C and +12 °C). All products are produced at the family farm, from milk obtained from their own production. Sensory, physio-chemical (pH), and microbiological testing for *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and yeasts and moulds were performed. Products were sampled on the 1st, 3rd, 7th and 14th day of storage. The sensory examination of fruit yogurt, yoghurt and sour cream did not reveal significant deviations in the evaluated parameters during storage, so the smell and taste were characteristic for the type of the product, and consistency was thick, liquid. Monitoring of pH showed that the values in yogurt remained almost identical at both storage temperatures (4.49-4.47; 4.49-4.43), and fruit yogurt (4,39-4.40; 4,39-4,37), while the values in sour cream increased to + 4 °C (4.61-4.75), and at +12 °C the measurement was stopped due to spoilage on the last day. *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were not detected in the microbiological examination. Enterobacteria in fruit yogurt and yogurt were not detected from the third day of storage at both temperatures, while in sour cream their number increased to 2.1×10^5 CFU/mL at a temperature of +4 °C. Microbiological examination showed yeast growth in cream from the 1st day, and in yogurt from the 3rd day of the experiment. In both types of samples at + 4 °C yeasts *Torulasporea quercuum*, *Pichia fermentans*, *Galactomyces candidus* (*Geotrichum*) were found. Additionally at +12 °C *Candida intermedia*, *Galactomyces geotrichum* and the mold *Aspergillus* sp. were determined. This finding suggests that the samples were contaminated during production, and thus their sustainability and safety were impaired.

Key words: dairy products, sustainability, storage, contamination, yeasts

10. Životopis

Josipa Biljan rođena je 27.3.1996. godine u Zagrebu. Po završetku osnovne škole u Dubravi (pored Vrbovca) upisala je Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga, smjer prirodoslovna gimnazija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2015. godine. Apsolventica je integriranog preddiplomskog i diplomskog studija Veterinarske medicine, smjer veterinarsko javno zdravstvo.