

Reološke promjene kozjeg i kravljeg mlijeka tijekom fermentacije bakterijom *Lactobacillus acidophilus**

Predrag Novaković, Jasna Kordić, Vedran Slačanac, Tihomir Moslavac

Prethodno priopćenje - Preliminary communication

UDK: 637.146.34

Sažetak

*U radu su praćene promjene reoloških parametara tijekom fermentacije kozjeg i kravljeg mlijeka bakterijom *Lactobacillus acidophilus*. Reološka svojstva gruša jedan su od osnovnih parametara kvalitete fermentiranih mliječnih proizvoda. Grušanje mlijeka odvija se uslijed snižavanja pH-vrijednosti tijekom fermentacije i uvjetovano je neutralizacijom i demineralizacijom kazeinskog kompleksa i otpuštanjem vode iz micelijske mreže kazeinata uslijed povećane koncentracije H^+ -iona. Promjene strukture gruša kozjeg i kravljeg mlijeka praćene su sa svrhom uspoređivanja s brzinama njihove fermentacije. I kozje i kravlje mlijeko newtonovske su tekućine, koje tijekom fermentacije postupno poprimaju izrazita svojstva karakteristična za pseudo-plastični (tikotropni) tip tekućina. Formiranje gruša kod kozjeg i kravljeg acidofila započinje u trećem satu fermentacije. Pokazalo se da znatnije promjene reoloških svojstava kozjeg mlijeka nastupaju pri nižim pH vrijednostima od onih kravljeg, a porast prividnog viskoziteta kozjeg fermentiranog acidofilnog mlijeka je ujednačeniji i proporcionalniji padu pH vrijednosti tijekom fermentacije. Na kraju fermentacije kozje acidofilno mlijeko je prividno nižeg viskoziteta od kravljeg pri 22°C. Tijekom tri dana čuvanja pri 4°C značajno se poboljšavaju reološka svojstva kozjeg fermentiranog acidofilnog mlijeka koje postaje konzistentnije, dok je promjena konzistencije kravljeg acidofilnog mlijeka tijekom skladištenja neznatna.*

Ključne riječi: kozje i kravlje mlijeko, acidofilno mlijeko, fermentacija, reološke promjene

Uvod

Fermentirano acidofilno kravlje mlijeko poznati je i cijenjeni proizvod kako zbog svojih senzornih karakteristika, tako i zbog visoke nutritivne

*Rad je prikazan na 32. Hrvatskom simpoziju mljekarskih stručnjaka održanom u Opatiji, 28.-30. studenog 1996.

vrijednosti, a niz autora pripisuje mu i antibaktericidno djelovanje (Petričić, 1984; Gilliland, 1989; Rogelj, 1994; Kršev i Borović, 1995). S druge strane kozje mlijeko samo po sebi visoke je nutritivne vrijednosti utemeljene na specifičnom kemijskom sastavu i strukturi, te mu se pripisuju izrazito terapijska i probiotička svojstva (Jenne, 1980; Franić, 1993; Magdalenić i sur., 1994).

Reološka svojstva gruš jedan su od osnovnih parametara kvalitete fermentiranih mliječnih proizvoda; njegovih senzornih značajki posebice izgleda, okusa i konzistencije (Mottar i Bassier, 1989; Garcia i sur., 1994; Marić i sur., 1996). Aktivnošću bakterija mliječne kiseline grušenje mlijeka prati niz fizikalno-kemijskih procesa (Loewenstein i sur., 1980; Petričić, 1984; Ormrod i sur., 1994). Uslijed opadanja pH vrijednosti povećanjem koncentracije H⁺-iona dolazi do neutralizacije i demineralizacije kazeinskog kompleksa mlijeka, zatezanja micelijske mreže i otpuštanja vode. Pojedine strukturne i fizikalno-kemijske promjene odvijaju se pri određenim pH vrijednostima, a pri izoelektričnoj točki (pH 4,6-4,7) kazein se potpuno demineralizira i koagulira. (Petričić, 1984; Marić i sur., 1996.)

Svrha rada je usporediti promjene strukture gruš kozjeg i kravljeg acidofilnog mlijeka tijekom fermentacije i skladištenja, praćenjem ovisnosti napona smicanja o brzini smicanja, te usporedba s brzinama fermentacije (Novaković i sur., 1996).

Materijal i metode rada

Za pripravu fermentiranog acidofilnog mlijeka upotrebjeno je svježe punomasno kozje i kravlje mlijeko većeg broja koza ili krava iz više seoskih domaćinstava, a za inokulaciju pripremljenih uzoraka mlijeka kultura bakterije *Lactobacillus acidophilus*. Istraživanja su provedena u četiri serije uzoraka kozjeg i kravljeg mlijeka u razmaku od mjesec dana između serija.

Postupak pripreme mlijeka za fermentaciju sastojao se od pročišćavanja mlijeka filtriranjem i toplinske obrade (100-105°C/3 min). Toplinski obrađeno mlijeko punjeno je u sterilne staklene boce, ohlađeno do 4°C i pri toj temperaturi čuvano do trenutka pripreme za nacjepljivanje (najduže 24 sata).

Uzorci kozjeg i kravljeg mlijeka zagrijani su do temperature inkubacije (40°C), cjepljeni s 3% kulture bakterija *Lactobacillus acidophilus* (FD DVS La-5, Chr. Hansen A/S, koncentracije stanica 1 x 10¹¹ cfu/g) i fermentirani pri 40°C do pojave koagulumata, približno tijekom 5 sati. Fermentirani uzorci

su ohlađeni do sobne temperature i nakon toga čuvani 3 dana u hladnjaku pri 4°C.

Fermentativna aktivnost uzoraka acidofilnog kozjeg i kravljeg mlijeka praćena je pH-metrijski (Radiometar, Kopenhagen), mjerenjem kiselosti (pH vrijednosti) nakon svakog sata fermentacije i poslije trećeg dana čuvanja.

Za mjerenje reoloških parametara uzorka kozjeg i kravljeg acidofilnog mlijeka korišten je rotacijski viskozimetar (Rheomat 15T) pri 22°C nakon 3, 4 i 5 sati fermentacije i pri 10°C nakon trodnevnog čuvanja.

Mjerenje reoloških svojstava provedeno je u području brzina smicanja od 11,16 do 702,30 s⁻¹ za acidofilno kozje mlijeko nakon 3,4 i 5 sati i za kravlje acidofilno mlijeko nakon 3 sata fermentacije, odnosno u području brzina smicanja od 3,111 do 195,7 s⁻¹ za uzorke kravljeg acidofilnog mlijeka nakon 4 i 5 sati fermentacije i za sve uzorke poslije trodnevnog čuvanja.

Ovisnost napona smicanja (τ) o brzini smicanja (D) određena je izrazom $\tau = mD^n$, gdje je m = koeficijent konzistencije, a n = indeks tečenja. Reološka su svojstva nenenewtonovske tekućine određena reološkim parametrima: m i n . Rezultati mjerenja statistički su obrađeni metodom linearne regresije pomoću programa MSOFFICE EXCEL 6,0.

Rezultati rada i rasprava

Promjene prosječnih pH vrijednosti tijekom fermentacije kozjeg i kravljeg mlijeka (tablica 1) ukazuju na veću koncentraciju vodikovih iona u kozjem mlijeku u odnosu na kravlje mlijeko u svakom satu fermentacije.

Tablica 1.: Promjena prosječne pH vrijednosti kozjeg i kravljeg mlijeka tijekom fermentacije bakterijom *Lactobacillus acidophilus*.

Table 1: Average pH values changes during the fermentation of goat's and cow's milk using *Lactobacillus acidophilus*.

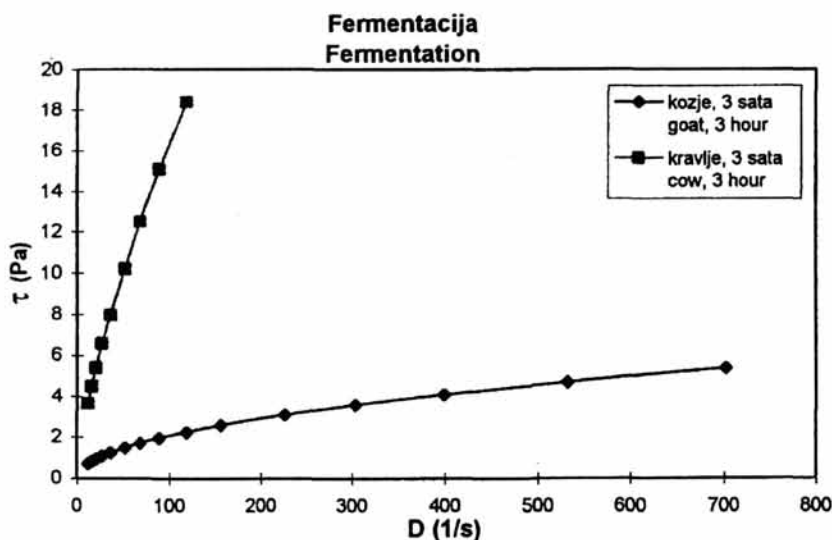
vrijeme (sati) time (hours)	pH vrijednost pH value	
	KOZJE MLIJEKO GOAT'S MILK	KRAVLJE MLIJEKO COW'S MILK
0	6,21	6,33
1	5,99	6,14
2	5,48	5,64
3	4,92	5,15
4	4,53	4,60
5	4,24	4,37

Brži pad pH vrijednosti kozjeg mlijeka je posljedica veće proizvodnje mliječne kiseline (Novaković i sur., 1996) tijekom fermentacije što rezultira i bržim nastankom koaguluma kozjeg acidofilnog mlijeka. Izo-električna točka koaguluma pri pH vrijednosti oko 4,6, kada kazein koagulira, postignuta je u kozjem acidofilnom mlijeku između trećeg i četvrtog sata, a kravljem nakon četvrtog sata fermentacije. Ovi rezultati ukazuju da kozje mlijeko predstavlja bolju podlogu za rast i razvoj bakterija *Lactobacillus acidophilus* od kravljeg mlijeka jer brže koagulira, a uvjetovano je specifičnim kemijskim sastavom i strukturom kozjeg mlijeka (Jenness, 1980).

Praćenjem reoloških parametara ovisnosti napona smicanja o brzini smicanja tijekom fermentacije kozjeg i kravljeg mlijeka, uočene su promjene u strukturi gruš, koje se odvijaju različitim intenzitetom. Nakon 3 sata fermentacije (slika 1) kozje mlijeko je znatno nižeg prividnog viskoziteta u odnosu na kravlje.

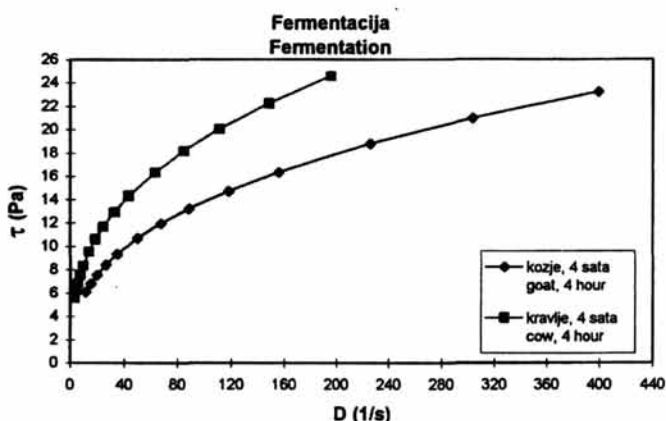
Slika 1.: Ovisnost napona smicanja (τ) o brzini smicanja (D) kozjeg i kravljeg mlijeka nakon 3 sata fermentacije bakterijom *Lactobacillus acidophilus*.

Figure 1: Dependency of shear stress (τ) to shear rate (D) of goat's and cow's acidophilus milk after 3-hour-fermentation using *Lactobacillus acidophilus*.



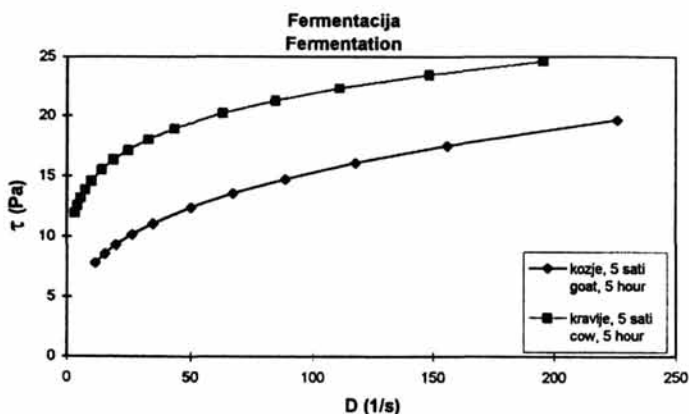
Izrazita svojstva newtonovskih tekućina karakteristična su za pseudoplastični (tikotropni) tip tekućina i kravljeg i kozjeg mlijeka nakon 4 sata fermentacije (slika 2), a više su izražena u kravljem mlijeku.

Slika 2.: Ovisnost napona smicanja (τ) o brzini smicanja (D) kozjeg i kravljeg mlijeka nakon 4 sata fermentacije bakterijom *Lactobacillus acidophilus*.
 Figure 2: Dependency of shear stress (τ) to shear rate (D) of goat's and cow's acidophilus milk after 4-hour-fermentation using *Lactobacillus acidophilus*.



Iz odnosa krivulja prikazanih slikom 3 vidljivo je da je prividni viskozitet kravljeg mlijeka nakon 5 sati fermentacije viši od kozjeg te da je konzistentnije.

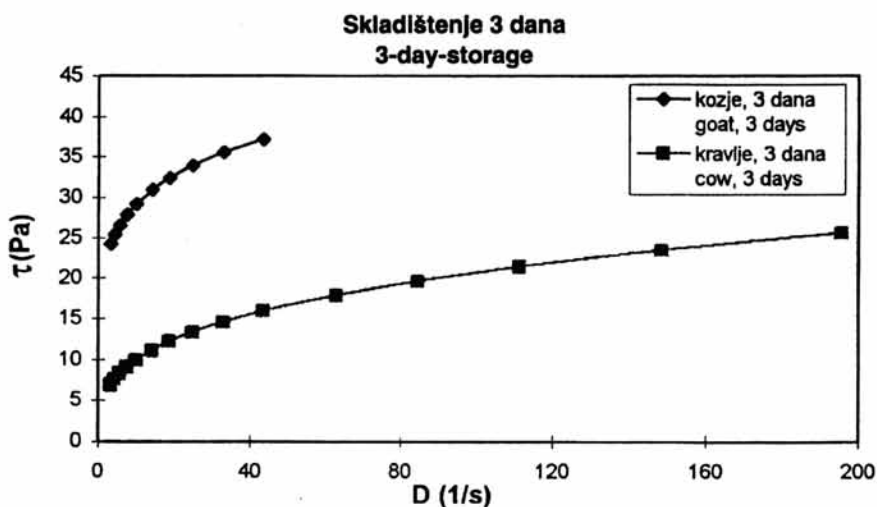
Slika 3.: Ovisnost napona smicanja (τ) o brzini smicanja (D) kozjeg i kravljeg mlijeka nakon 5 sati fermentacije bakterijom *Lactobacillus acidophilus*.
 Figure 3: Dependency of shear stress (τ) upon shear rate (D) of goat's and cow's acidophilus milk after 5-hour-fermentation using *Lactobacillus acidophilus*.



Nakon trodnevnog čuvanja pri 4 °C kozje acidofilno mlijeko postalo je znatno konzistentnije u odnosu na kravlje (slika 4).

Slika 4.: Ovisnost napona smicanja (τ) o brzini smicanja (D) kozjeg i kravljeg fermentiranog acidofilnog mlijeka nakon 3 dana čuvanja

Figure 4: Dependency of shear stress (τ) upon shear rate (D) of goat's and cow's fermented acidophilus milk after 3-day-storage



Iz rezultata mjerenja vidljivo je da kozje mlijeko, unatoč većoj pH-vrijednosti tijekom fermentacije, koagulira sporije i mekše je konzistencije. Razlozi tome mogu se potražiti u strukturnim razlikama kozjeg i kravljeg mlijeka, ali i u različitim brzinama fermentacije. Različita fermentativna aktivnost uvjetuje i različite fizikalno-kemijske i strukturne promjene kazeinskog kompleksa u kozjem i kravljem mlijeku (L o e w e n s t e i n i sur., 1980; H y s l o p, 1993). Uz nižu početnu pH vrijednost (tablica 1) porast koncentracije vodikovih iona teče brže u kozjem acidofilnom mlijeku. Uslijed toga pH vrijednost kozjeg acidofilnog mlijeka brže opada, do izoelektrične točke (tablica 1). Kazeinske molekule brže gube električni naboj i otpuštaju ione kalcija i fosfora (demineralizacija). Uslijed naglijeg pada pH vrijednosti do izoelektrične točke, micelijska mreža kazeinskog kompleksa u kozjem acidofilnom mlijeku ne stiže se kompaktno stegnuti kao ona u kravljem acidofilu, niti istisnuti toliko molekula vode iz rešetke. Kako je time i sinereza manja, (B r i n g e i sur., 1991.) kogulum kazeina u kozjem acidofilnom mlijeku na kraju fermentacije mekši je i rastresitiji, s više uklopljenih molekula vode, ali kompaktniji i ujednačeniji nego onaj kravljeg acidofilnog mlijeka.

Tablica 2.: Prosječna promjena napona smicanja ($\Delta\tau$) u ovisnosti o padu pH vrijednosti (ΔpH) kozjeg i kravljeg mlijeka pri brzini smicanja (D) 11,16 s⁻¹.

Table 2: Average shear stress ($\Delta\tau$) changes depending on pH value lowering (ΔpH) in goat's and cow's acidophilus milk at shear rate (D) 11,16 s⁻¹.

D (s ⁻¹)	Period (sat) Period (hour)	KOZJE MLIJEKO GOAT'S MILK		KRAVLJE MLIJEKO COW'S MILK	
		$\Delta\tau$ (N/m ²)	ΔpH	$\Delta\tau$ (N/m ²)	ΔpH
11,16	0-3	1,29	1,059	4,316	1,18
	3-4	0,39	3,022	2,831	0,59
	4-5	0,29	3,677	5,239	0,23

Iz rezultata mjerenja (tablica 2) vidljivo je da se napon smicanja mijenja obrnuto proporcionalno padu pH vrijednosti, odnosno sukladno matematičkom izrazu:

$$\Delta\tau = \frac{1}{\Delta\text{pH}} \cdot k \quad (1)$$

gdje je k koeficijent proporcionalnosti ($\Delta\tau$, ΔpH) i vrijedi pri konstantnoj temperaturi (T) i konstantnoj brzini smicanja (D). Za brzinu smicanja 11,16 s⁻¹ izračunati k iznosi približno 1,2 (za 1 sat fermentacije). Promjenom brzine smicanja mijenjaju se i vrijednosti za k . Pomoću izraza (1) moguće je izračunati k vrijednosti pri raznim brzinama smicanja nakon izvršenih reoloških mjerenja.

Tijekom trodnevnog čuvanja pri 4 °C (slika 4) značajno se usporavaju fermentativni procesi te kozje fermentirano acidofilno mlijeko poprima čvršću konzistenciju što je uvjetovano i većim udjelom suhe tvari (tablica 3) u odnosu na kravlje mlijeko (Franić, 1993.).

Tablica 3.: Sastav kozjeg i kravljeg mlijeka (srednje vrijednosti)

Table 3: Composition of goat's and cow's milk (mean values)

	Proteini Proteins (%)	Mast Fat (%)	Mliječni šećer Lactose (%)	Mineralne soli Mineral salts (%)	Suha tvar Dry matter (%)
Kozje mlijeko Goat's milk	4,2	4,4	4,6	0,8	14
Kravlje mlijeko Cow's milk	3,6	3,5	4,6	0,7	12

Zaključci

Uspoređivanjem promjena strukture gruša kozjeg i kravljeg acidofilnog mlijeka tijekom fermentacije i čuvanja, praćenjem ovisnosti napona smicanja o brzini smicanja, te komparacijom s brzinama fermentacije može se zaključiti:

1. Tijekom fermentacije pH vrijednost brže opada u kozjem mlijeku, a trajanje fermentacije je kraće.

2. Kozje i kravlje acidofilno mlijeko su izrazitih svojstava newtonovskih tekućina karakterističnih za pseudoplastični (tikotropni) tip tekućina.

3. Nakon pet sati fermentacije kravlje acidofilno mlijeko je konzistentnije i višeg prividnog viskoziteta od kozjeg acidofilnog mlijeka.

4. Poslije tri dana čuvanja pri 4°C kozje fermentirano acidofilno mlijeko je znatno konzistentnije u odnosu na kravlje acidofilno mlijeko.

RHEOLOGICAL CHANGES DURING FERMENTATION OF GOAT'S AND COW'S MILK USING LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Summary

The changes of rheological properties during goat's and cow's milk fermentation using Lactobacillus acidophilus were observed in this paper. Rheological properties of curd are one of the basic parameters of fermented milk products quality. Milk curdling occurs as a consequence of the pH-value lowering during milk fermentation and it is the result of caseinat complex demineralisation and water molecules discharge from the lactic caseinate owing to the increase of H⁺-ions concentration. The differences in the curd structure between goat's and the cow's acidophilus milk were attended in the aim to compare those differences with fermentation velocities. Both of them, goat's and cow's acidophilus milk, are nonnewton fluids progressively obtaining characteristic properties of pseudoplastic (tikotropni) type of fluids during fermentation. Goat's and cow's milk curdling starts in the third hour of fermentation. It was shown that extensive changes of goat's milk rheological properties were starting with the significantly lower pH-value than cow's milk and the increase of apparent viscosity is more steady in goat's acidophilus milk and it is proportional to pH-value fall during fermentation. At the end of the fermentation goat's acidophilus milk has lower apparent viscosity than cow's acidophilus milk at 22°C. During three storage days at

4°C rheological properties of goat's acidophilus milk were considerably improved (goat's acidophilus milk became more consistent). During storage the consistency change of cow's acidophilus milk is minor.

Key words: goat's and cow's milk, acidophilus, fermentation, reological changes.

Literatura

- Bringe, N. A. Kinsella, J. A. (1991): "Effects of cations and anions on the rate of the acidic coagulation of casein micelles the possible roles of different forces", *Journal of Dairy Research* 58, 195-209.
- Franić, I. (1993): "Kozarstvo", Adria book, Split
- Garcia Fernández, S., Bareacó Serra, M., Adria Casas, M., López Bes, J., Ruiz Pol, J. Trillas Gay, E., Rodríguez Pico, A., Bago Lopez, P. (1994): "Rheological changes during the processing of cultured milks. Yoghurt", *Alimentaria*, 31 (254) 41-48.
- Gilliland, Š. E. (1989): "Acidophilus milk products: a review of potential benefits to consumers", *Journal of Dairy Science*, 72 (10) 2483-2494.
- Jenness, R. (1980): "Composition and Characteristic of goat milk: Rewiev 1968-1979.", *Journal of Dairy Science*, 63 (10) 1605-1631.
- Kršev, Lj., Borović, A. (1995): "Utjecaj AB-kulture acidofilnog mlijeka na rast bakterije *Escherichia coli*", *Mljekarstvo*, 45 (3) 151-156.
- Loewenstein, M., Speak, S. J., Bernhart, H. M., Frank, J. F. (1980): "Research on Goat Milk product: A. Rewiev", *Journal of Dairy Science*, 63 (10) 1631-1649.
- Magdalenić, B., Evačić, S., Jovanović-Bunta, V., Kostanjevac, Lj. (1994): "Imunološki test otkrivanja dodavanja kravljeg u kozje mlijeko", *Mljekarstvo* 44 (1) 41-46.
- Marić, O., Carić, M., Božanić, R., Tratik Lj. (1996): "Utjecaj koncentrata proteina sirutke na viskoznost jogurta, acidofila te acidofilnog jogurta", *Mljekarstvo*, 46 (2) 91-100.
- Mottar, J., Bassier, A. (1989): "Effect of heat-induced association of whey proteins and casein micelles on yogurt texture", *Journal of Dairy Science*, 72 (9) 2247-2256.
- Novaković, P., Kordić, J., Slačanac, V. (1996): "Usporedba fermentativne aktivnosti kozjeg i kravljeg mlijeka", Knjiga sažetaka 8. Ružičkine dani, Bizovačke toplice, 27. i 28. lipnja 1996.
- Ormrod, I. H. L., Holt, C., Thomas, P. C. (1982): "The inorganic constituent of milk. Diffusible calcium and magnesium concentration in goat's milk and the effect of starvation", *Journal of Dairy Research*, 49 (3) 179-186.
- Petričić, A. (1984): "Konzumno i fermentirano mlijeko", Udruženje mljekarskih radnika Hrvatske, Zagreb.
- Rogelj, I. (1994): "Lactic acid bacteria as probiotics", *Mljekarstvo*, 44 (4) 277-284.

Adrese autora - Author's addresses:

Prof. dr. Predrag Novaković
Jasna Kordić, dipl. inž.
Vedran Slačanac, dipl. inž.
Tihomir Moslavac, dipl. inž.
Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek

Primljeno - Received:

15. 2. 1997.