

STARTERSKE KULTURE V MLEKARSTVU

ZGODOVINA

- udomačitev ovc in govedi = 12000 BC
- legenda: pri transportu mleka v ovčji koži, je, zaradi delovanja vročega puščavskega podnebja, to koaguliralo
- slikovne upodobitve (hieroglifi) izdelave sira na stenah grobnic faraonov (3000 BC)
- zapisi o siru v stari zavezi (1500 BC)



IZVOR IN RAZVOJ

- starterske kulture prisotne še preden se je človek zavedal prisotnosti bakterij
- prva cepitev mleka s “startersko kulturo” – prenos majhne količine fermentiranega mleka prejšnjega dne v sveže mleko
- v začetku 19. stoletja raziskovalci začeli slutiti, da pri kisanju mleka sodelujejo živi organizmi
- 1857-Pasteur dokazal, da je mlečnokislinska fermentacija posledica delovanja živih organizmov in ne kemijskih reakcij

DEFINICIJA

- starterske kulture = mikrobiološko cepivo
- mono-, združene ali mešane kulture tehnološko koristnih živih mikroorganizmov z encimskim potencialom, ki v pogojih proizvodnje z usmerjenim delovanjem odločilno vplivajo na oblikovanje lastnosti končnega izdelka – fermentiranega živila
- povzročitelji različnih in specifičnih sprememb v mleku



NALOGE

- preprečevanje kvarjenja in podaljševanje obstojnosti izdelka (konzerviranje);
- zagotavljanje varnosti izdelka;
- oblikovanje želenih senzoričnih in reoloških lastnosti izdelka;
- oblikovanje terapevtskih in funkcionalnih lastnosti izdelka.

PREDNOSTI

- omogoča kontrolo in regulacijo procesa fermentacije – dani so pogoji za standardizacijo visokokvalitetne proizvodnje;
- izboljša se ekonomičnost proizvodnje, saj se skrajša čas fermentacije, manjši je tudi delež izdelkov s tehnološkimi napakami;
- dana je možnost zmanjšanja uporabe nekaterih kemijskih aditivov, npr. protimikrobnih sredstev, kemijskih zakisovalcev, encimov, zgoščevalcev, itd.;
- izboljša se dietetična oz. prehranska vrednost fermentiranega živila (lažja prebavljivost, višja vsebnost vitaminov, peptidov, aminokislin, prostih maščobnih kislin, zmanjšanje ostankov kemijskih dodatkov, zaščita pred tvorbo mikotoksinov, itd.). Dokazan je probiotičen vpliv nekaterih biokultur (*Lactobacillus acidophilus*, selekcionirani sevi bifidobakterij) na delovanje prebavnega trakta;
- zaradi vsebnosti različnih encimskih sistemov, daje možnost proizvodnje širšega izbora izdelkov, ki jih ni mogoče izdelati s spontano fermentacijo.

ZAHTEVE

- ustrezati morajo splošnim kriterijem glede higienske neoporečnosti, ne smejo vsebovati infektivnih ali toksikogenih sevov, prav tako ne smejo sintetizirati antibiotikov. Če ustrezajo vsem predpisanim higienskim kriterijem pridobijo oznako GRAS (Generally Recognized as Safe) oz. naziv, da je njihova uporaba splošno priznana kot varna;
- pripravki morajo vsebovati deklarirano število živih mikroorganizmov, ki morajo biti v pogojih proizvodnje metabolno aktivni, da prevladajo nad avtohtono mikrofloro in vodijo proces v želeno smer. Pri tem se komercialno dostopne starterske kulture, ki se uporabljajo v različnih vejah živilske industrije, razlikujejo po obliki (tekoče, zamrznjene, liofilizirane) in po načinu manipulacije (npr. potrebna je revitalizacija, pred-fermentacija ali pa je predvidena takojšnja inokulacija). Vse omenjene karakteristike morajo biti deklarirane in podane v specifikaciji proizvajalca.

ODBIRA IN PRIMERNOST

- ekološki pristop – osamitev prilagojenih sevov iz ekoloških niš, kjer jih želimo uporabiti
- preverjanje tehnoloških lastnosti: rast pri določenih pogojih, tvorba kisline, encimska aktivnost
- test kompatibilnosti – mešane kulture
- občutljivost za bakteriofage

OBLIKE

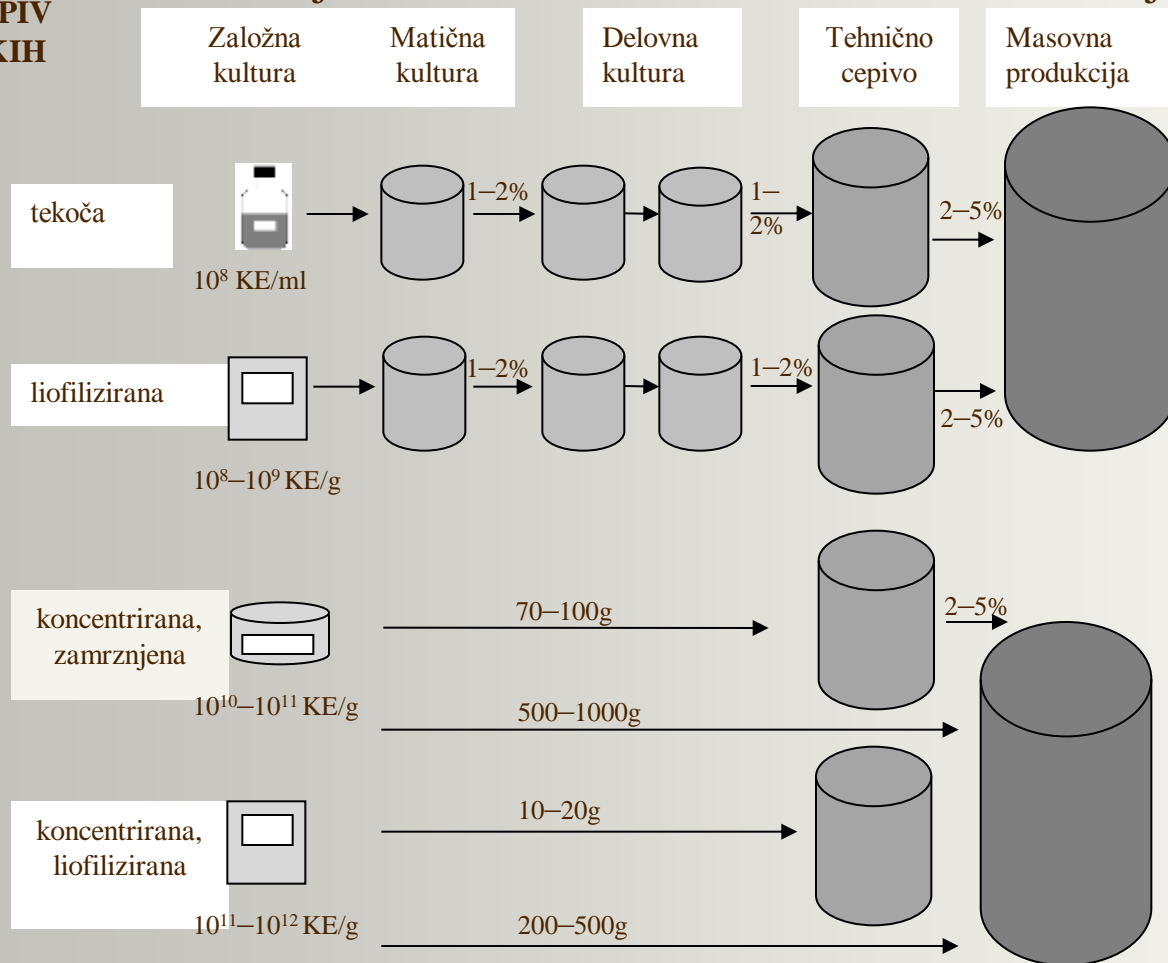
- **tekoče cepivo:** v obliki koaguluma, vsebuje 10^8 – 10^9 KE/ml;
- **dehidrirano cepivo:** v obliki praška in je lahko liofilizirano, ki vsebuje 10^8 – 10^9 KE/g ali koncentrirano liofilizirano, z vsebnostjo 10^{11} – 10^{12} KE/g;
- **zamrznjeno cepivo:** zamrznjena koncentrirana starterska kultura in vsebuje 10^{10} – 10^{11} KE/g;
- **koncentrirano cepivo:** lahko je zamrznjeno, liofilizirano ali v obliki koaguluma, primerno za direktno cepitev v bioreaktor (prednost predvsem glede zaščite pred bakteriofagi, ki so pogosto prisotni v odprtih fermentacijskih sistemih).

PRIPRAVA IN UPORABA

OBLIKE CEPIV STARTERSKIH KULTUR

Aktivacija starterske kulture v mlekarni

Produkcija



DELITEV – glede na sestavo

- enosevne starterske kulture (en sev določene vrste);
- večsevne starterske kulture (več sevov ene vrste);
- večsevne mešane starterske kulture (več različnih sevov iz različnih vrst);
- mešane starterske kulture (vrste in sevi so delno ali povsem neznani).

DELITEV – glede na T

- **mezofilne**: rastejo v območju od 10 – 40 °C, optimum okoli 30 °C
 - *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* } kislinotvorca
 - *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* } tip "O"
 - *Lact. lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* = tip "D" } izkoriščajo citrat
 - *Leuconostoc lactis* } tip "L" } aromotvorci
 - *Leuconostoc cremoris* } tip "DL"

DELITEV – glede na T

- **termofilne:** rastejo v območju od 40 -50 °C
 - *Lactobacillus*
 - *Streptococcus*

DELITEV — produkt fermentacije

- glede na končni produkt fermentacije mlečnega sladkorja – laktoze, jih delimo
 - Homofermentativne: mlečna kislina
 - Heterofermentativne: mlečna, propionska, maslena, CO₂, alkohol, aromatične snovi

DELITEV – po organizmih

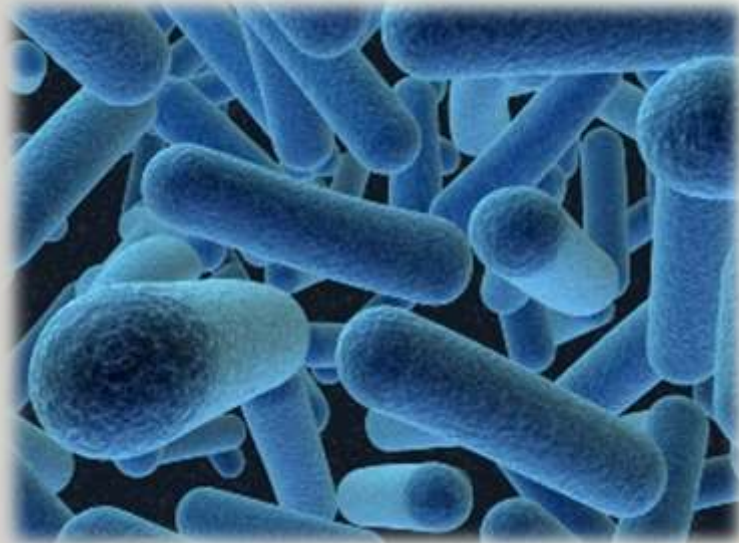
MLEČNOKISLINSKE BAKTERIJE

KVASOVKE

PLESNI

Mlečnokislinske bakterije

- Najpomembnejša skupina
- Tehnološko koristne bakterije
- Striktno fermentativne (mlečnokislinska fermentacija)
- Po Grammu pozitivne



RODOVI

Lactobacillus

Najpomembnejši

Lactococcus

Kislo mleko

Leuconostoc

Kislo mleko *

Pediococcus

Sorodni laktobacilom

Streptococcus

Jogurt

Bifidobacterium

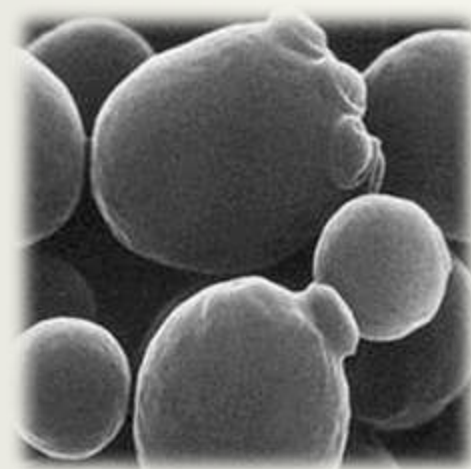
Probiotiki

Enterococcus

Avtohtoni siri + bakteriocini

Kvasovke

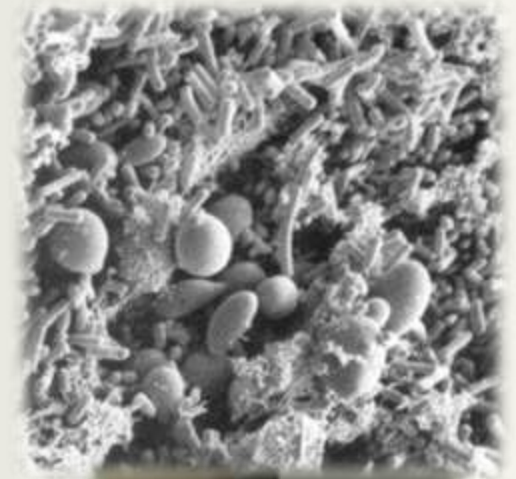
- Temperatura pasterizacije jih uniči
- Pokazateljice okužbe iz okolja
- Običajno kvarljivci (siri)
- Kombinaciji z mlečnokislinskimi bakterijami:
[kefir in kumis](#)
- alkoholna fermentacija (CO₂ + aroma)



Vrste kvasovk in izdelek

Candida kefyr

KEFIR



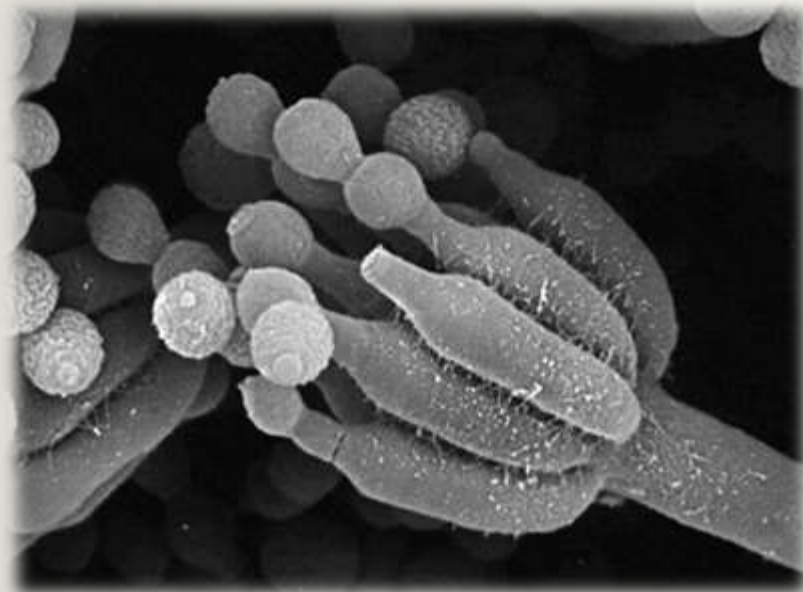
Torula koumiss
Saccharomyces lactis

KUMIS



Plesni

- Običajno kvarljivci
- Divje plesni: negativne organoleptične lastnosti sirov, tvorba strupenih mikotoksinov
- Žlahtne plesni: značilen okus, aroma in tekstura



Vrste plesni in izdelek

*Penicillium
camemberti*

camembert
brie



*Penicillium
roqueforti*

roquefort



*Penicillium
gorgonzola*

gorgonzola



*Geotrichum
candidum*

Villi

SHEMA



Občutljivost za antibiotike
Odpornost proti bakteriofagom

Shranjevanje v
zamrzovalniku

FUNKCIJE

- Tvorba kisline
- Proteoliza (proteinaze, peptidaze-laktobacili)
- Tvorba arome (kisline, diacetil, acetaldehid, acetoin)
- Tvorba eksopolisaharidov (Viili-laktokoki, kefiran)
- Tvorba protimikrobnih snovi (mlečna kislina, H_2O_2 , diacetil, bakteriocini)

Yo-Flex

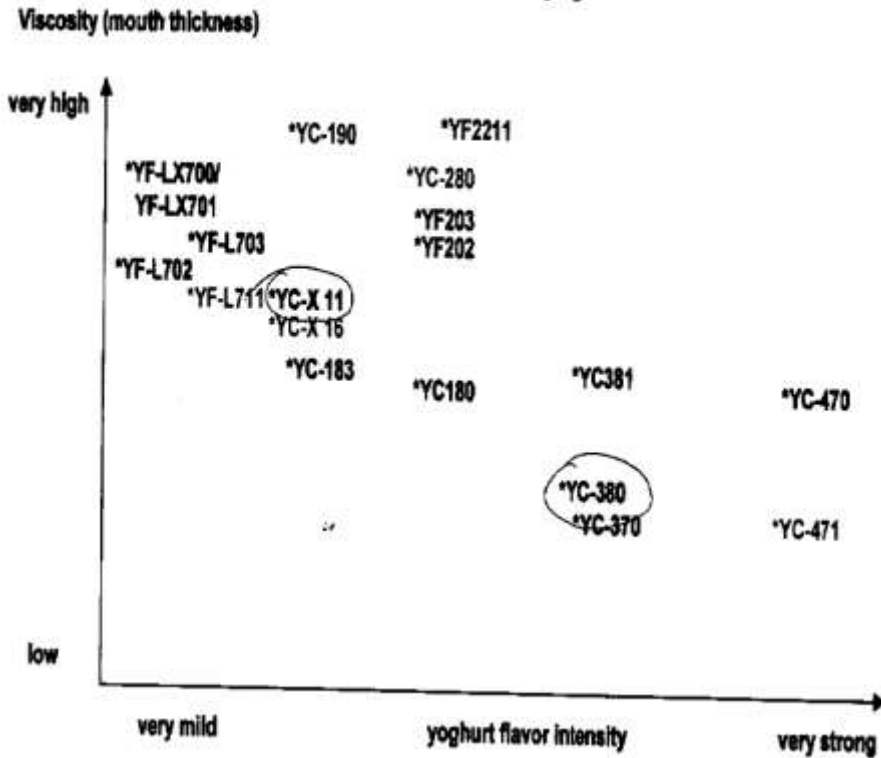
Segment Description	Typical Examples
Yo-Flex	Cup Set Yoghurt, Stirred Yoghurt, Drinking Yoghurt
nu-trish	Probiotic fermented milks supported by strain specific documentation available on Probio-Tec™ strains
	Acidophilus/Bifidus yoghurt made with Yo-Fast cultures
	Dairy and food products marketed with generic health claims available on Other nu-trish cultures
eXact	Buttermilk, Sour Cream/Crème Fraîche, Cream Cheese/ Fromage Frais, Smetana, Quark, Ymer, Thick milk, Sour milk, Dehi, Tvorag

Culture	Strains		Form	
	<i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> and subsp. <i>lactis</i>	Frozen pellet form F-DVS	Freeze-dried form FD-DVS
YF-LX700	X		X	
YF-LX701	X		X	
YF-L702	X		X	
YF-L703	X		X	
YF-L711	X			X
YF-D600	X		X	
YC-180		X		X
YC-183	X		X	
YC-190	X		X	
YC-280	X		X	X
YC-350	X			X
YC-370	X			X
YC-380	X		X	X
YC-381	X			X
YC-470	X		X	
YC-471	X		X	
YC-X11	X		X	X
YC-X16	X			X
CH-1	X		X	X
YF-202	X		X	
YF-203	X		X	
YF-2211	X		X	
YF-3331	X		X	X

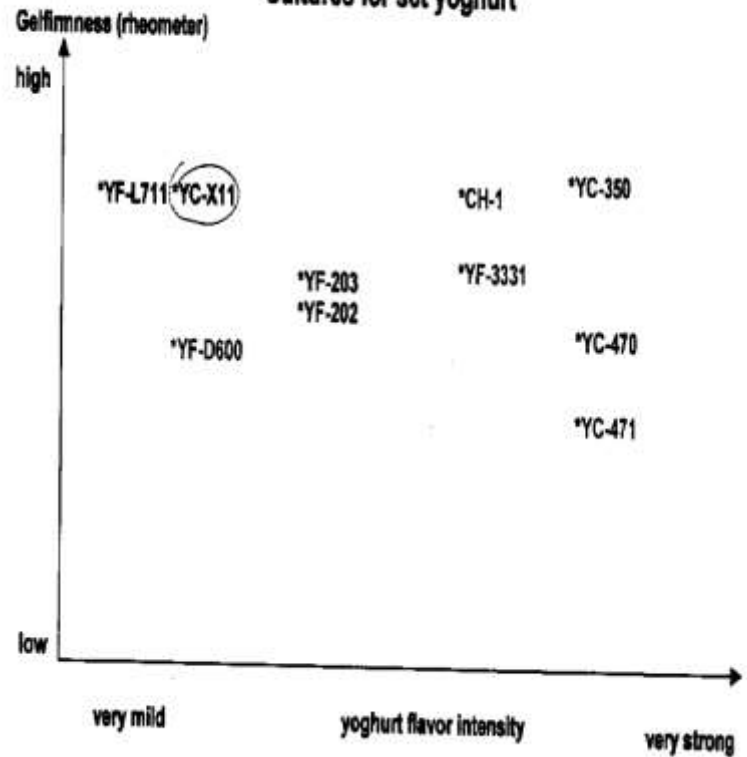
Table 1: Yo-Flex cultures for yoghurt products

Yo-Flex

Cultures for stirred yoghurt



Cultures for set yoghurt



Yo-Flex

Flavor intensity	Culture	Acetaldehyde level day 1 ppm	Texture properties	
			Mouth thickness	Ropiness
Very mild	YF-LX700	Approx. 10	Very high	Medium
	YF-LX701	Approx. 10	Very high	Medium
	YF-L702	Approx. 10	High	Medium
	YF-L703	Approx. 10	High	Medium
	YF-L711	Approx. 10	High	Short
Mild	YC-181	Approx. 10	High	Medium
	YC-182	Approx. 10	High	Short
	YC-183	Approx. 10	High	Medium
	YC-190	Approx. 10	Very high	Ropy
Medium	YC-281	Approx. 10	High	Medium
	YC-280	12 -15	High	Slightly ropy
	YF-202	12 -15	High	Medium
	YF-203	12 -15	High	Medium
	YF-2211	12 -15	Very high	Ropy

Table 3: Acetaldehyde levels and texture properties for Yo-Flex cultures with very mild to medium yoghurt flavor intensity. Yoghurts fermented at 43°C (109°F) to pH 4.55 in whole milk (3.5% fat) with 2% skimmed milk powder, no addition of sugar or stabilizer. Inoculation percentage is 0.02%. Acetaldehyde is determined by HSGC (Headspace gas chromatography). The texture properties are determined by stress tech rheometer.

Yo-Flex

Flavor intensity	Culture	Acidification time* to pH 4.55	Post acidification, storage at 8°C (46°F)	
				Delta pH ± 0.1 at day 21
Very mild	YF-LX700	5h - 5h 30min	Very low	0.2
	YF-LX701	5h - 5h 30min	Very low	0.2
	YF-L702	4h 30min - 5h	Very low	0.2
	YF-L703	4h 15min - 4h 45min	Very low	0.2
	YF-L711	4h 30min - 5h	Very low	0.2
Mild	YC-X11	4h 30min - 5h	Low	0.3
	YC-X16	5h - 5h 30min	Low	0.3
	YC-183	4h 30min - 5h	Low	0.3
	YC-190	6h - 6h 30min	Low	0.3
Medium	YC-180	6h - 6h 30 min	Medium	0.4
	YC-280	4h 30min - 5h	Medium	0.4
	YF-202	5h - 5h 30min	Medium	0.4
	YF-203	5h - 5h 30 min	Medium	0.4
	YF-2211	5h - 5h 30 min	Medium	0.4

Table 4: Acidification time to pH 4.55 and post acidification at 8°C (46°F). Yoghurts fermented at 43°C (109°F) to pH 4.55 in whole milk with 2% skimmed milk powder, no addition of sugar or stabilizer. Inoculation percentage is 0.02%.

* The acidification time is dependent on the fermentation temperature. Acidification curves at 35°, 41° and 43°C (95°, 106° and 109°F) are shown in product information sheets for each culture.

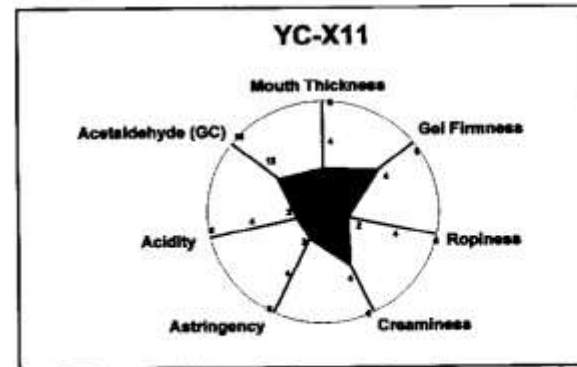
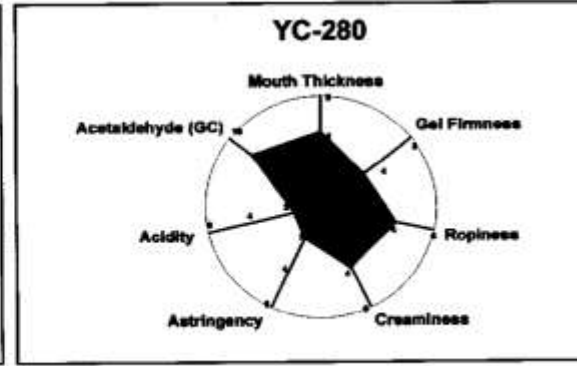
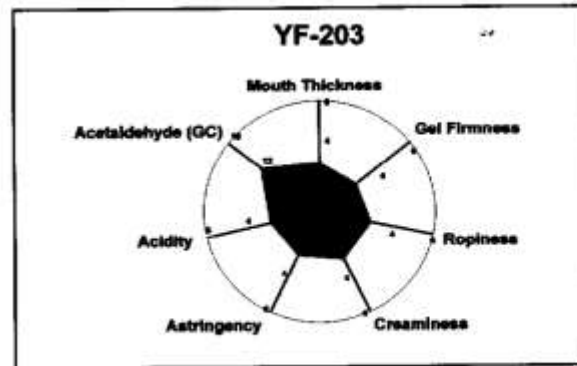
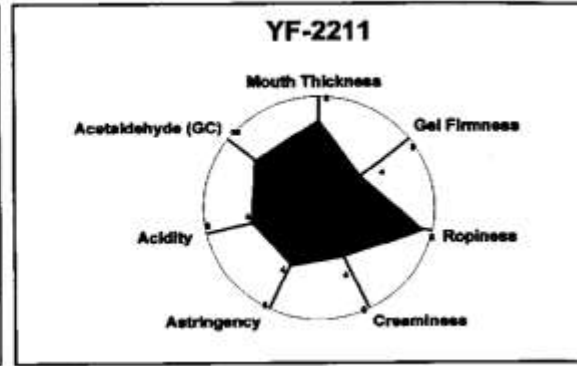
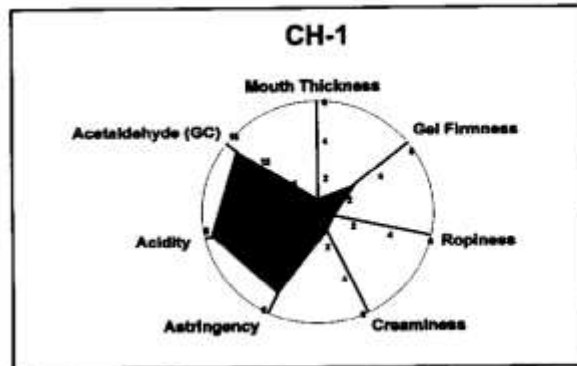


Figure 3: Spider diagrams of five selected Yo-Flex cultures in whole milk yoghurt.

Barvila

Shade	Color name	Color type	Origin
Lemon yellow	T-PT8-WS	Turmeric	Turmeric root
Warm yellow	BC-140-WSS	Beta carotene	Artificial or nature identical
Lemon to warm yellow	Natural carotene		Palm fruit oil
Warm yellow to apricot orange	A-320-WS	Annatto	Annatto seeds
Strawberry red	CC-500-WS	Carmine	Carmine cochineal
Kiwi green	CT-7020-WS	Copper chlorophyll and turmeric	Green plants and turmeric root
Brown	CA-19,000C-WS	Caramel	Heat treated sugar

Table 13: shades and the recommended natural colors from Chr. Hansen.

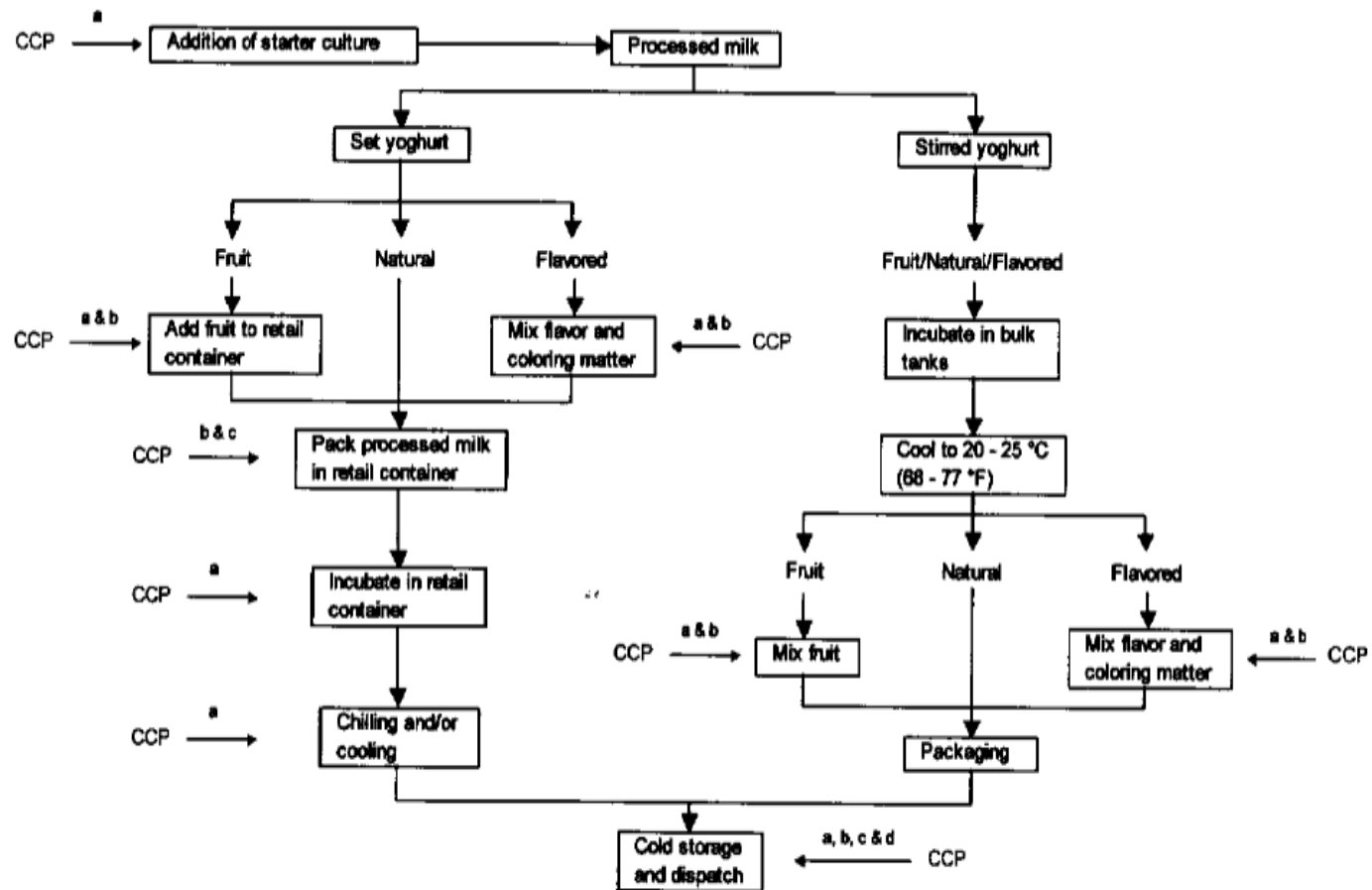


Figure 6. Flow diagram and typical HACCP scheme showing the manufacturing stages for set and stirred yoghurt. HACCP: Hazard appraisal (analysis) critical control point. CCP: Critical control points inspection. a: physico-chemical; b: microbiological; c: visual; d: organoleptic. Adapted from Tamime and Robinson (1999) in *Yoghurt Science and Technology*.

Nu-trish

Probio-Tec Cultures	Strain					Physical form		
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Bifidobacterium</i> BB-12	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	<i>Lactobacillus casei</i> 01	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LR 35	Frozen pellet F-DVS	Freeze dried FD-DVS
BB-12		X					X	X
LA-5			X				X	X
LR-35						X	X	
Nutrish A/B		X	X				X	X
ABT-1	X	X	X				X	X
ABT-2	X	X	X				X	X
ABT-3	X	X	X					X
ABT-4	X	X	X				X	X
ABT-5	X	X	X					X
ABT-6	X	X	X				X	
ABT-21	X	X	X				X	
ABY-1	X	X	X		X			X
ABY-2	X	X	X		X		X	X
BCT-1	X	X		X			X	

Table 1. Probio-Tec cultures – composition and physical form

Nu-trish

Culture	Fermentation temperature (°C/°F)	Fermentation time	Post-acidification Δ pH at 8°C/46°F after 28 days
ABT-1	37/99	12 h 30 min – 13 h	≤ 0.3
ABT-2	37/99	12 h 30 min – 13 h	≤ 0.3
ABT-5	43/110	5 h 30 min – 6 h	≤ 0.3
ABT-6	43/110	5 h 30 min – 6 h	≤ 0.3
ABT-21	43/110	5 h 30 min – 6 h	≤ 0.3
BCT-1	37/99	14 h – 14 h 30 min	≤ 0.3
ABT-3	43/110	5 h – 5 h 30 min	≤ 0.3
ABT-4	43/110	5 h – 5 h 30 min	≤ 0.3
ABY-1	43/110	4 h 30 min – 5 h	≤ 0.3
ABY-2	37/99	7 h 30 min – 8 h	≤ 0.3

Nu-trish

2.5 Clinical documentation on Probio-Tec™ strains

	Chr. Hansen's open Probio-Tec™ range		
	Bifidobacterium BB-12®	LA-5®	LR-35
Clinical study on			
Infant diarrhea and rotavirus	XXXXX		XXX
Traveler's diarrhea	XXXXX	XXXXX	
Immunity	XXXX	XX	
Skin disorders	XXX		
Adhesion	XXXXX	XXXX	XXX
Safety	XXXXX*	XXXXX*	XXXXX*
Lactose intolerance		XXX	
Constipation	XXX	XXX	XXX
Survival in GI-tract	XXXXX	XXXX	XXXX
Antibiotic side effects	XXXX	XXXX	XXXX
Yeast infection	XXXX	XXX	
Radiation induced diarrhea			XXX

- *Safety evaluation based on studies and/or long history of safe use.
- Numbers of **xs** indicate the quantity and quality of the studies

VAJE-izdelava jogurta

- Kultura
- Dodatki
- Čvrst, tekoč jogurt
- Tehnologija (priprava surovine, nacepitev, T,...)
- Spremljanje vrednosti pH
- Analize fermentiranega izdelka (SH, %M, barvanje)
- Senzorična analiza
- Poročilo