

**УТИЦАЈ ИНКОХЕРЕНТНЕ  
ПОЛАРИЗОВАНЕ СВЈЕТЛОСТИ НА  
АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЈА  
*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и  
*Streptococcus thermophilus* С ОБЗИРОМ  
НА ТИТРАЦИЈСКУ КИСЕЛОСТ**

Милка Стијепић, Милош Шолаја, Драгица Ђурђевић–Милошевић, Љиљана  
Топалић-Тривуновић

Виша медицинска школа Приједор  
Технолошки факултет Бања Лука

*Abstract*

**СТИЈЕПИЋ, Milka, M. SOLAJA, Dragica DJURDJEVIC-MILOSEVIC, Ljiljana TOPALIC-TRIVUNOVIC: THE INFLUENCE OF INCOHERENT POLARIZED LIGHT ON ACTIVITIES OF THE BACTERIA *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* И *Streptococcus thermophilus* C. Skup 2: 295-302.**

The point of this study is to show and improve the influence of incoherent polarized light to bacteriological activity of sour milk fermentation. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*, considering other light (darkness natural light) and continuance of treatment on the base of analyzed parameters sourness before and after the treatment.

For sourness:

- there is statistically important difference ( $p < 0,05$ ) only between IPL and natural light radiation (50 min)
- there is statistically difference on importance level  $p < 0,01$  for all periods of time except fifty and sixty minutes.

There is logarithmic dependence of reduction of all parameters: proteins, lactose, sourness on radiation energy (from  $2,4 \text{ J/cm}^2$ ) of IPL with very high determination coefficient.

**Сажетак**

У овом раду испитиван је утицај инкохерентне поларизоване свјетлости на активности бактерија киселомлијечног врења *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*, с обзиром на друге режиме зрачења (природна свјетлост и тама) и дужину третмана, а на основу анализе титрацијске киселости, прије и послје третмана.

За титрацијску киселост:

- постоји статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ) само између зрачења инкохерентном поларизованом свјетлошћу и природном свјетлошћу ( 50 minuta ),
- постоји статистичка разлика на нивоу значајности  $p < 0,01$  за све временске периоде изузев за педесет и шездесет минута.

Постоји логаритамска овисност смањења титрацијске киселости о енергији зрачења инкохерентне поларизоване свјетлости (од  $2,4 \text{ J/cm}^2$ ), уз врло висок коефицијент детерминације.

**Кључне ријечи:** инкохерентна поларизована свјетлост, титрацијска киселост, ферментисани млијечни производи

## УВОД

Биолошки ефекат дјеловања свјетлосног зрачења, настаје као резултат апсорпције енергије од стране ткива.

Прве клиничке студије о утицају поларизоване свјетлости у терапеутске сврхе датирају уназад тридесетак година, гдје је описано биостимулишуће дјеловање ове свјетлости примјеном нискоенергетског (low – energy) ласерског зрачења и позитиван учинак у зарастању рефрактерних и перзистентних улкуса (Mester E., Mester, A., Mester, At., 1988).

1981. године група физичара и љекара у Мађарској на челу са Martom Fenyö открила је да поларизована свјетлост стимулише природне одбрамбене и респираторне функције организма.

Главна индикацијска подручја примјене инкохерентне поларизоване свјетлости су зарастање рана, обнова ткива, те ублажавање боли, гдје се утицај процеса опоравка и обнове (репаративних и регенеративних) темељи на експресији фактора раста и цитокина који имају битну улогу у савладавању упалног процеса и опоравка ткива (Cocce et al., 2003).

Нове спознаје и могућности примјене видљивог инкохерентног поларизованог свјетла (VIP) у хирургији коже са поткожним ткивом дали су Peško 1998 и Micev 1999, а у лијечењу исхемичких, неуропатских, декубиталних и хипостатских улкуса, опекотина и лијечењу боли Cocce 2004, Zhevago 2004 и Ballyzes, 2004.

Већина досадашњих истраживања односе се на ефекте инкохерентне поларизоване свјетлости на еукариотске ћелије код виших организама.

Сврха овог рада је да се, на основу титрацијске киселости, утврди има ли инкохерентна поларизована свјетлост утицаја на активности бактерија киселомлијечног врења *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

За проучавање утицаја инкохерентне поларизоване свјетлости на активности бактерија *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* кориштена је лиофилизована стартер култура за производњу јогурта и киселог млијека Yoghurt V1 Visbyvac Dip 5u.

За производњу маје и киселомлијечних производа кориштено је краткотрајно стерилизовано, хомогенизовано и дјелимично обрано трајно млијеко стандардизовано на 2,8 % млијечне масти. Као извор зрачења инкохерентне поларизоване свјетлости видљивог и дијела IR спектра ( $\lambda = 400 - 2000 \text{ nm}$ ) кориштена је Bioptron Compact III лампа, произвођача Zepher, Switzerland, са степеном поларизације преко 95 % и константном свјетлосном енергијом од  $2,4 \text{ J/cm}^2$  у минути. Сноп свјетлости се поставља под углом од  $90^\circ$  у односу на објект који се зрачи (Skrobić, 1999).

Титрацијска киселост одређивана је методом Soxhlet – Henkel ( $^\circ \text{SH}$ ).

Одређена количина маје са стартер културом се преноси у три Петри шоље које се подвргавају инкохерентној поларизованој свјетлости, природној свјетлости и тами, у временским терминима 30, 40, 50 и 60 минута, а затим у загријано млијеко температуре инкубације и термостатира на  $42^\circ \text{C}$  у року 4,5 сати. Послије хлађења врши се титрација са  $0,1 \text{ mol/l NaOH}$  за одређивање киселости.

За обраду резултата: средње вриједности, варијансе, анализе варијансе с једним фактором варијабилитета, анализе варијансе са два фактора варијабилитета с понављањем, цртање хистограма и дијаграма, прорачун једначине криве и одређивање коефицијента детерминације кориштен је програм Microsoft®Excel 2002.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

За анализу утицаја инкохерентне поларизоване свјетлости на активност starter култура преко параметра киселости, извршена је анализа 60 узорака маје и 180 узорака ферментисаних производа добијених након ферментације млијека културама третираним инкохерентном поларизованом свјетлошћу, тамом и природном свјетлошћу у трајању 30, 40, 50 и 60 минута.

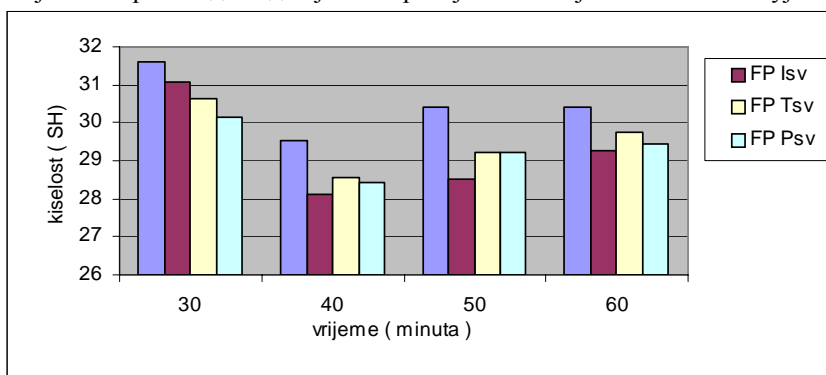
Титрацијска киселост свјежег млијека је резултат киселинских својстава његових компонената, као и њиховог пуферног дјеловања и поријеклом је из киселинских својстава протеина, примарних и секундарних фосфата, цитрата и CO<sub>2</sub>. Од укупне киселости, око 27 % отпада на киселинска својства протеина, око 10% на гасове, а осталих 63% условљени су калијум и калцијум фосфатима (Vujičić, 1985).

На развој киселости у јогурту умногоме има утицаја уједначени развој starter култура. Термофилне културе производе велику количину млијечне киселине. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* производи у млијеку од 1,7 до 1,8 % млијечне киселине, док *S. thermophilus* производи од 0,6 до 0,8 % (Kršev, 1989).

Према Tamim-u и Robinsonu (1985) млијечна киселина учествује у обликовању гел структуре производа промјеном колоидалног калцијум-фосфат комплекса ( који је саставни дио мицела казеина ) у топиву калцијум-фосфатну фракцију.

Према Kunathu и Kandleru (1980), различити омјер између кока и штапића може снизити или повећати киселост производа, гдје више штапића у starterу и виша температура инкубације, узрокују киселији производ.

Наши резултати приказани хистограмски (Слика 1) указују на незнатно смањење процента титрационе киселости ферментисаних производа у односу на мају, без обзира на врсту свјетлосног третмана. То је и разумљиво, с обзиром да starter културе за производњу јогурта имају висок киселински активитет (Bylund, 1995) што је и резултирало вишим степеном киселости маје у односу на киселост добијених киселомлијечних производа код којих се пресијавањем тај активитет смањује.



FP-фермент. производ, I – инкох. полар. свјетлост, T – тама, P– природна свјетлост, sv- средња вриједност

Слика 1. Средње вриједности степена киселости за мају и ферментисане производе у односу на вријеме

Анализа варијансе са једним фактором варијабилитета – врста третмана, чији су резултати приказани у табелама 1 и 2 показује да на нивоу значајности  $p < 0,05$  нема разлике у промјени процента титрационе киселости, без обзира на примијењен поступак третмана бактеријских култура у трајању од 30 и 40 минута, у односу на мају.

Табела 1. Анализа варијансе степена киселости са једним извором варијабилитета – врста третмана у трајању од 30 минута

Извор варијабилитета	Збир квадрата одступања	Степени слободе	Оцјена варијансе	Ф - однос	Вјероватноћа	Ниво вјероватноће
Врста третмана од 30 минута	6.677778	2	3,338889	0,793714	0,458827	<b>p &gt; 0,05</b>
Унутар експеримената	176.68	42	4,206667			
Укупно	183.3578	44	$F_{0,05;2;42} = 3.219938$			

Табела 2. Анализа варијансе степена киселости са једним извором варијабилитета – врста третмана у трајању од 40 минута

Извор варијабилитета	Збир квадрата одступања	Степени слободе	Оцјена варијансе	Ф - однос	Вјероватноћа	Ниво вјероватноће
Врста третмана од 40 минута	11.92044	2	5,960222	2,210505	0,122244	<b>p &gt; 0,05</b>
Унутар експеримената	113,2453	42	2,696317			
Укупно	125,1658	44	$F_{0,05;2;42} = 3,219938$			

Сљедећих 15 узорака - одређивања титрационе киселости, за временски период од 50 минута, кориштено је за ферментацију бактеријским културама третираним различитим третманима (инкохерентна поларизована свјетлост, тама, природна свјетлост).

Табела 3. Анализа варијансе степена киселости са једним извором варијабилитета – врста третмана у трајању од 50 минута

Извор варијабилитета	Збир квадрата одступања	Степени слободе	Оцјена варијансе	Ф - однос	Вјероватноћа	Ниво вјероватноће
Врста третмана од 50 минута	10,73911	2	5,369556	4,291394	0,020145	<b>p &lt; 0,05</b>
Унутар експеримената	52,552	42	1,251238			
Укупно	63,29111	44	$F_{0,05;2;42} = 3,219938$			

На основу анализе варијансе са једним фактором варијабилитета (Табела 3) видљиво је да постоји статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ) за степен киселости у узроцима ферментисаних производа и да је извор те разлике врста третмана бактеријске стартер културе у трајању 50 минута.

У односу на статистику Тукеу-евог теста, закључујемо да постоји статистички значајна разлика само између поступка зрачења инкохерентном поларизованом свјетлошћу и природном свјетлошћу у трајању 50 минута.

15 посљедњих узорака у оквиру ове експерименталне серије кориштено је за ферментацију бактеријским културама третираним инкохерентном поларизованом свјетлошћу, тамом и природном свјетлошћу у трајању 60 минута.

Анализа варијансе са једним фактором варијабилитета – врста третмана, није показала разлику у процентима титрационе киселости, за ниво статистике значајности  $p = 0,05$  (Табела 4).

Табела 4. Анализа варијансе степена киселости са једним извором варијабилитета – врста третмана у трајању од 60 минута

Извор варијабилитета	Збир квадрата одступања	Степени слободе	Оцјена варијансе	Ф - однос	Вјероватноћа	Ниво вјероватноће
Врста третмана при 60 минута	6,821333	2	3,410667	2,68805	0,079706	<b><math>p &gt; 0,05</math></b>
Унутар експеримената	53,29067	42	1,268825			
Укупно	60,112	44	$F_{0,05;2;42} = 3,219938$			

Анализом варијансе са два фактора варијабилитета (Табела 5) закључујемо да нема интеракције између врсте третмана и дужине трајања третмана, а да постоји статистички значајна разлика на нивоу врста третмана, што је већ приказано анализом варијансе са једним фактором варијабилитета. Такође, видљиво је да постоји статистички значајна разлика на нивоу  $p = 0,01$  за дужину трајања третмана и на основу Тукеу-евог теста да постоји статистичка разлика у проценту киселости за све временске периоде, осим за педесет и шездесет минута.

Посматрајући резултате средње вриједности смањења процента титрацијске киселости у ферментацијским производима у односу на средњу вриједност киселости маје, видљиво је да средња вриједност смањења киселости износи од 2,54 % у случају третмана природном свјетлошћу у трајању 60 минута, до 12,88 % при третману инкохерентном поларизованом свјетлошћу у трајању 40 минута (Табела 6).

Табела 5. Анализа варијансе степена киселости са два извора варијабилитета – вријеме трајања третмана и врста третмана

Извор варијабилитета	Збир квадрата одступања	Степени слободе	Оцјена варијансе	Ф - однос	Вјероват.	Ниво вјероват.
Вријеме трајања третмана	45,33661	3	15,1122	6,414996	0,000386	<b><math>p &lt; 0,01</math></b>
Врста третмана	33,57378	2	16,78689	7,125885	0,00107	<b><math>p &lt; 0,01</math></b>
Интеракција трајања и врсте третмана	2,584889	6	0,430815	0,182877	0,981244	<b><math>p &gt; 0,05</math></b>
Унутар експер.	395,768	168	2,355762	$F_{0,01;3;168} = 3,900311$		
Укупно	477,2633	179	-	$F_{0,01;2;168} = 4,733749$		
				$F_{0,05;6;168} = 2,152909$		

Табела 6. Смањење средњих вриједности киселости киселомлијечних производа у односу на средњу вриједност киселости маје

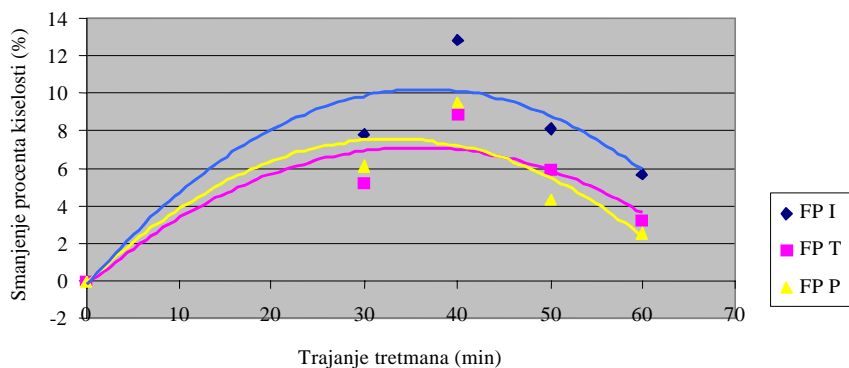
Трајање третмана (min)	Смањење средње вриједности киселости (%)		
	FP I	FP T	FP P
→ 0	0	0	0
30	7,84	5,21	6,12
40	12,88	8,92	9,59
50	8,17	5,99	4,30
60	5,68	3,17	2,54

FP I – ферментацијски производ – третман инкохерентном поларизованом свјетлошћу

FP T – ферментацијски производ – третман тамом

FP P – ферментацијски производ – третман природном свјетлошћу

Генерално гледајући, без обзира на вријеме трајања третмана, највеће смањење процента титрацијске киселости у ферментацијским производима у односу на средњу вриједност киселости маје је у случају код ферментисаних производа чија је starter култура зрачена инкохерентном поларизованом свјетлошћу, затим кад су ферментисани производи третирани природном свјетлошћу и на крају, у случају подвргавања ферментисаних производа тамом.



Слика 2. Смањење средње вриједности киселости киселомлијечних производа у односу на средњу вриједност киселости маје

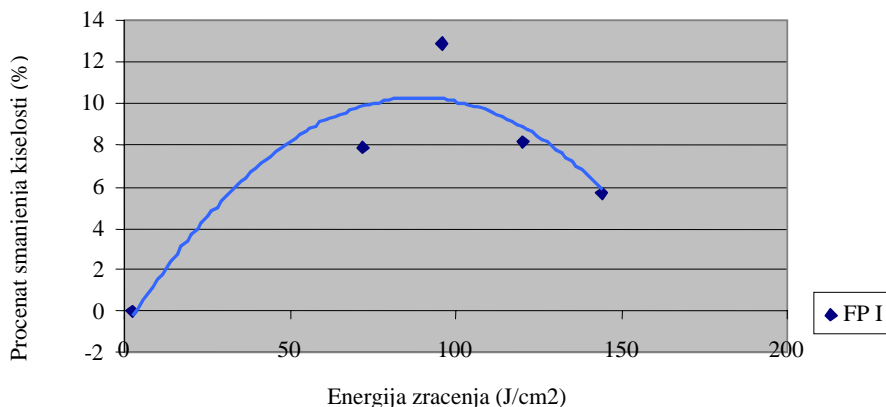
Овисност смањења процента титрацијске киселости о дужини трајања третмана бактеријске starter културе, приказана је на слици 2, гдје једначине криве имају карактеристике квадратних функција, уз врло високе степене детерминације (Табела 7).

Табела 7. Једначине криве и коефицијенти детерминације за проценат смањења средње вриједности киселости ферментацијских производа у односу на мају

Врста третмана	Једначина криве	Коефицијент детерминације
Инкохерентна поларизована свјетлост	$P_K = -0,0078 t^2 + 0,5732 t - 0,2312$	$R^2 = 0,8595$
Тама	$P_K = -0,0058 t^2 + 0,4138 t - 0,221$	$R^2 = 0,8427$
Природна свјетлост	$P_K = -0,0071 t^2 + 0,4686 t - 0,1255$	$R^2 = 0,828$

$P_K$  – смањење процента киселости у ферментацијским производима након различитих третмана (%)

$t$  – вријеме трајања третмана (мин)



Слика 3. Утицај енергије зрачења инкохерентне поларизоване свјетлости на смањење степена киселости ферментацијског производа

Табела 8. Једначине криве и коефицијент детерминације за проценат смањења средње вриједности киселости у ферментацијским производима – третман културе инкохерентном поларизованом свјетлошћу

Врста третмана	Једначина криве	Коефицијент детерминације
Инкохерентна поларизована свјетлост	$P_K = -0,0014 I^2 + 0,2506 I - 0,829$	$R^2 = 0,8626$

$P_K$  – проценат смањења процента киселости у ферментацијским производима након третмана инкохерентном поларизованом свјетлошћу  
 $I$  – енергија зрачења (J/cm²)

Ако се резултати средње вриједности промјене титрацијске киселости за ферментисане производе са културама третираним инкохерентном поларизованом свјетлошћу (Табела 6) прикажу у овисности о енергији зрачења, добије се крива као на слици 3. Ова крива показује логаритамску овисност процента смањења титрацијске киселости о енергији зрачења инкохерентне поларизоване свјетлости, уз врло висок коефицијент детерминације  $R^2 = 0,8626$  (Табела 8).

## ЗАКЉУЧАК

На основу експерименталних резултата и статистичке обраде за титрацијску киселост, могу се извести сљедећи закључци:

- постоји статистички значајна разлика ( $p < 0,05$ ) за степен титрационе киселости ферментисаних производа, гдје је извор те разлике врста третмана starter културе и то само између поступка зрачења инкохерентном поларизованом свјетлошћу и природном свјетлошћу у трајању 50 минута.
- постоји статистичка разлика у проценту титрацијске киселости на нивоу значајности  $p < 0,01$  за дужину трајања третмана, тј. за све временске периоде изузев за 50 и 60 минута.
- постоји логаритамска овисност смањења титрацијске киселости о енергији зрачења инкохерентне поларизоване свјетлости, уз врло висок коефицијент детерминације  $R^2 = 0,8626$

## ЛИТЕРАТУРА

1. Belomarković, R., M. Vulić, B. Bačić (1982): Promjene kiselosti jogurta u prodaji, *Mljekarstvo*, 32, 171 – 173.
2. Coce, F. (2005): Biopton svjetlo – svjetlo koje liječi <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/103/>
3. Komić, J.(2000): Metodi statističke analize kroz primjere, Ekonomski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, str. 137 –149.
4. Kubasova T, Fenyö M, Somosy Z and Kertesz I. (1988) Investigations on the biological effect of polarized light. *Photochemistry and Photobiology* 48 (4): 505-509.
5. Milošević–Đurđević D. (2001): Uticaj inkoherentne polarizovane svjetlosti na razmnožavanje *Escherichia coli*. Magistarski rad, Tehnološki fakultet Univerziteta u Banjoj Luci.
6. Pravilnik o kvalitetu mlijeka, proizvoda od mlijeka, sirila i čistih kultura, Sl. list SFRJ, br. 51, 1982.
7. Rasic JL & Kurman JA (ed) (1978): *Yogurt*. Copenhagen: Technica 164 -166l Dairy Publishing House. p. 45
8. Skrobić M. (1999): Biopton fototerapija, Zepter, Schwizerhand, str. 2-3, 4-12.
9. Vujičić, I. (1985): Mlekarstvo, I deo, Naučna knjiga, Beograd, 164 -1669.

Примљено: 11.11.2005.

Одобрено: 17.7.2007.