

MLJEKARSTVO

LIST ZA UNAPREĐENJE MLJEKARSTVA

God. XVI

AUGUST 1966.

BROJ 8

Nikola M. Nikolov, Sofia

Centralni laboratorij pri »Mlječnoj industriji«

MIKROBIOLOŠKI TEST ZA DOKAZIVANJE PENICILINA I DRUGIH ANTIBIOTIKA U MLJEKU

Antibiotici u mlijeku su faktori koji sprečavaju razvitak bakterija mlječne kiseline, koje učestvuju u fermentativnim procesima kod proizvodnje fermentiranih proizvoda, sireva i maslaca. U nizu ispitivanja je ustanovljeno da minimalna sadržina penicilina od 0,02 do 0,2 IJ/ml, aureomicina i oksitetraciklina od 0,5 do 1 gama/ml, streptomocina od 7,5 do 10 gama/ml djeluju inhibitory na gram-pozitivne bakterije mlječne kiseline (4, 5, 12). Posljedica tog djelovanja antibiotika je neodvicanje ili zakašnjenje fermentativnog procesa u proizvodnji kiselog mlijeka i drugih fermentiranih proizvoda s osjetljivim promjenama u konzistenciji, okusu i hranjivosti; sprečavanje procesa zrenja vrhnja i dobivanje niskokvalitetnog maslaca bez izrazitog specifičnog okusa i mirisa. Štetan utjecaj antibiotika odražava se i na ljudski organizam u koji se unose mlijekom koje ih sadržava.

Poznato je da se penicilin i drugi antibiotici unijeti u tijelo životinje izlučuju u mlijeko već 6 sati nakon unošenja, što traje 72—96 sati nakon posljednjeg tretiranja (3, 8, 10) antibiotikom.

Štetno djelovanje penicilina i drugih antibiotika u mlijeku na ljudski organizam i mlječne proizvode razlog su da je zakonski zabranjena potrošnja mlijeka koje ih sadržava u SAD, Engleskoj, Skandinavskim zemljama, Bugarskoj i dr. U nekim mjestima se zahtijeva da se mlijeko, dobiveno od životinja liječenih antibioticima, dostavlja u mljekarska poduzeća u posebno označenim posudama. Usprkos tome se još uvijek u mnogim mjestima mlijeko, dobiveno od životinja liječenih antibioticima, miješa s ostalim mlijekom i predaje mljekarima. Našim ispitivanjima 34 uzorka mljekarskim poduzećima dostavljenog mlijeka, koje se nije grušalo, ustanovili smo sadržinu penicilina kako slijedi: 0,05 IJ/ml u 17 uzoraka, 0,02 IJ/ml u 6 uzoraka, 0,1 IJ/ml u 10 uzoraka i 1 IJ/ml mlijeka u 1 uzorku.

Sadržina penicilina u mlijeku ispitivana je difuzionom metodom u agaru.

Brzo ustanovljivanje penicilina i drugih antibiotika u mlijeku problem je koji nije riješen na zadovoljavajući način. Različiti autori su opisali niz kemijskih, mikrobioloških i biofotometrijskih metoda (2, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

Prilog tome je i mikrobiološki test za brzo ustanovljivanje penicilina i drugih antibiotika u mlijeku po Brdarov-u i Nikolov-u.

Test bazira na ovim principima:

1. na svojstvu penicilina i drugih antibiotika da inhibitorno djeluju na mikrofloru kiselog mlijeka: *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacterium bulgaricum*
2. na svojstvu enzima penicilinaze da razgrađuje penicilin
3. na poznatom mlječno-kiselom fermentacionom pokusu.

Velika osjetljivost mikroflora kiselog mlijeka prema penicilinu i drugim antibioticima omogućuje da se ustanove male količine penicilina u mlijeku od 0,02 do 0,05 IJ/ml. Ubrzavanje i ispitivanje se postiže s povišenjem količine cjevica na 5% i povišenjem temperature fermentacionog procesa na 50 °C (48 do 54 °C). Kod takvih uvjeta mlijeko koje ne sadržava penicilin i druge antibiotike i konzervanse, koji djeluju inhibitorno na *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricum*, grušava se oko 80-e minute. Kod testa upotrijebljena penicilinaza omogućuje da se inhibitorno djelovanje penicilina razluči od djelovanja drugih antibiotika i konzervanse. Penicilinaza je enzim koji je sposoban da djeluje i kod temperature od 50 do 55 °C. Reakcija penicilin-penicilinaza u mlijeku teče kao i u vodenoj otopini. Kod upotrebe penicilinaze u količini od 100 J/ml inaktivacija 1 IJ penicilina nastupa gotovo odmah. Penicilinaza u količini od 1 J/ml inaktivira 1 IJ penicilina kod temperature od 37 °C za 1—2 sata, a kod temperature od 15 do 25 °C 15—20 sati (1, 6).

Zbog inaktivacije penicilina penicilinazom ne pojavljuje se inhibitorni efekt, *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricum* se normalno razvijaju, fermentacioni proces teče normalno i mlijeko se grušava u određenom vremenu. Za isto vrijeme drugi antibiotici koji nisu aktivirani penicilinazom, koče razvoj bakterija *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricum*, i mlijeko se uopće ne grušava. Po toku fermentacionih procesa u cijepjenom mlijeku, koje sadržava penicilin i druge antibiotike, a tretirano je penicilinazom — napose po njegovom gružanju oko 80-te minute nakon pripreme uzorka — može se sa sigurnošću odrediti vrstu tvari koja djeluje inhibitorno.

Materijal i metoda pripreme uzorka

Za provedbu ispitivanja potrebna je otopina penicilinaze od 1000 J/ml, kiselo mlijeko ili čista kultura sastava *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricum* stana 15—24 sata i čuvana kod sobne temperature od cca 20 °C. Za fermentacioni proces potrebna temperatura u granicama od 48 do 54 °C najbolje se može održavati u običnoj vodenoj kupelji ili u specijalno za ovu svrhu pripremljenoj vodenoj kupelji s električnim grijačem (2).

Kod ispitivanja mlijeka test se izvodi na ovaj način:

1. u Erlenmeyerovoj tikvici ili u Beherovoj čaši iskuha se i na nekih 50 °C ohladi mlijeko namijenjeno ispitivanju;
2. u dvije čiste epruvete odmjeri se po 10 ml mlijeka;
3. u jednu od epruveta stavi se 100 J/ml penicilinaze (0,1 ml ili 3 kapi pripremljene otopine);
4. u obje epruvete doda se po 0,5 ml kiselog mlijeka;
5. nakon energičnog miješanja obje epruvete se stave u vodenu kupelj
6. rezultati se očitavaju po konzistenciji mlijeka oko 80-e minute. Kod očitavanja rezultata imamo tri moguća rezultata:

a) da gružanje mlijeka u obje epruvete nastupi istovremeno. To je dokaz da mlijeko ne sadržava penicilin ni druge antibiotike i konzervanse;

b) da se mlijeko u epruveti tretiranoj s penicilinazom grušala oko 80-e minute, a mlijeko u drugoj epruveti ostaje u tekućem stanju. To je dokaz da mlijeko sadržava penicilin; i

c) mlijeko u obje epruvete kod cca 80-e, 100-te i više minuta nakon toga sačuva tekuću konzistenciju. To je dokaz da mlijeko sadržava druge antibiotike i konzervanse.

Rezultati

Metoda je ispitana i primijenjena u širokoj praksi. Od ispitana 184 uzorka uzeta na punktovima, u kojima se mlijeko nije grušalo, u 112 uzoraka ustanovljeno je prisustvo penicilina, a u 72 uzorka prisustvo drugih antibiotika.

Metoda se primjenjuje svakodnevno u laboratorijskoj praksi poduzeća koja prerađuju mlijeko.

Rezultati primjene ove metode u proizvodnim uvjetima daju osnova da se izvede zaključak:

brzim mikrobiološkim testom po Brdarovu i Nikolovu sadržina penicilina i drugih antibiotika može se odrediti za otprilike 80 minuta. Ovom se metodom sa sigurnošću može diferencirati penicilin od drugih antibiotika i konzervansa u mlijeku.

Literatura:

1. Brdarov Sv.: Izvestija na Mikrobiologičeskija institut na BAN, knjiga 5, 1954., str. 45.
2. Nikolov N.: sp. Životnovdni nauki, god. I, No 10, 1964., str. 65. — Akademija na Selskostopanskite nauki
3. Nikolov N., Evastatiev St., Ismailov I. i Češmedžieva N.: Sekretirane na antibioticite črez mljakoto pri parenteralno i intrauterinno tretirane s infuzija, pod pečat
4. Nikolov N.: Vlijanie na antibioticite vrhu mikroflorata na kiseloto mljako, pod pečat
5. Aliprandi L.: Il latte, 11, 1963.
6. Bradwarov S.: Archiv für Mikrob. Bd. 29, 1958, 143—153.
7. Brochu E.: L'industrie laitière, 189, 1962.
8. Cannon R. Y., Hawkins G. E. and Wiggins A. M., J. of Dairy Science, Vol. 45, 6, 1962, 769.
9. Dopter P.: C. R. Ac. Agric., 42, 1956.
10. Ienistea C.: Industria alimentera, 11, 1963.
11. Jaquet J., Charton Fr.: Le lait, 431—432, 1964.
12. Leali L., Ruffo G., Aliprandi L.: Il latte, 10, 1963.
13. Pien J., Lignac J., Claude P.: Le lait, 33, 38, 369, 1953.
14. Silverman G. and Kosikowski J.: Milk and Food Technol., 15, 20, 1952.
15. APHA: Standard methods for the examination of dairy products. Microbiological and chemical., New York, 1953.
16. Witter L.: Le lait, 411—412, 1962.

Prof. dr Ante Petričić, Zagreb

Tehnološki fakultet

PROJEKTIRANJE KONZUMNIH MLJEKARA

Projektiranje zgrade

Prvu skicu zgrade s rasporedom i dimenzijama prostorija razrađuje tehnolog u suradnji s građevinarom. Tehnolog je odgovoran da zgrada bude funkcionalna s tehnološkog stanovišta, a građevinar rješava građevinsku stranu mljekare.