

Prema tome može se zaključiti da su prosječne vrijednosti svih uzoraka blizu prosjeku velikog broja krava. U pojavama individualnih kolebanja vrijednosti pojedinih komponenata, u ovom ispitivanju refrakcije mlječnog seruma i procenta mlječnog šećera ima jedan faktor varijabiliteta, koji je vrlo važan, prisutan i ne zavisi o drugim poznatim faktorima, jer je vezan za biološku osnovu svake pojedine životinje.

L I T E R A T U R A

1. N. Dozet, M. Stanišić, S. Jovanović, Z. Džalto: Radovi broj 15, 1964, Sarajevo.
2. N. Dozet: Radovi broj 16, 1966, Sarajevo.
3. N. Dozet, M. Stanišić: Radovi broj 18, 1967. Sarajevo.
4. N. Dozet: Radovi, broj 19, 1968, Sarajevo.
5. P. V. Kugenev: Moločnoe delo, Moskva, 1967.
6. P. Dechambre: La vache laitière. 1948., Paris.
7. J. G. Davis i F. J. MacDonald: Richmond's dairy chemistry.
8. A. A. Hofi, J. D. Rifaat, M. A. Rhorshid: Indian J. Dairy Sci. 1966, 19, 118—121.
9. R. B. Davidov: Spravočnik po moločnome delu, Moskva, 1958.

Prof. dr Ivan Bach, Zagreb
Tehnološki fakultet

MIKROBIOLOŠKA KVALITETA VODE U PROIZVODNJI MASLACA*

Uvod

Poznato je, da mnogi mikroorganizmi svojom raznovrsnom i velikom aktivnošću mogu uzrokovati nepoželjne promjene u mlijeku i njegovim prerađevinama, pa su oni u stvari najčešći uzrok kvarenju ove najvrednije grupe namirnica životinjskog porijekla. Proizvođači mlijeka i vrhnja moraju, stoga, poznavati izvore mikroorganizama koji izazivaju brze promjene u tim proizvodima, uvjete koji pogoduju njihovom rastu i razmnožavanju te metode s pomoću kojih se oni mogu ukloniti odnosno spriječiti njihova aktivnost. Jednako tako moraju i proizvođači mlječnih prerađevina biti upoznati, ne samo sa spomenutim problemima koji se odnose na uvijek prisutne mikroorganizme u sirovini, već i s ulogom mikroorganizama koja dolazi do izražaja u toku proizvodnog postupka, a naročito u toku duljeg čuvanja odnosno skladištenja gotovih proizvoda.

Mikrobiologija maslaca razlikuje se u mnogo čemu od mikrobiologije mlijeka. Maslac je, naime, zbog svog kemijskog sastava manje pogodan za rast većine mikroorganizama, nego mlijeko. Laktozu, koju mnoge vrste bakterija spremno razgrađuju, maslac sadrži u malim količinama, jer oko 80% maslaca čini mikroorganizmima relativno nepristupačna mast. Postotak vode u maslacu je srazmjerno nizak, a kapljice vode okružene su mašću tako da voda nije u kontinuiranoj fazi kao u mlijeku. Većina prisutnih mikroorganizama u maslacu nalazi se upravo u njegovoj vodenoj fazi i pošto ima više kapljica vode nego mikroorganizama, srazmjerno velik broj kapljica ostaje sterilan, jer bakterije ne mogu migrirati kroz mast. No, usprkos tome što se maslac još i čuva pri niskim temperaturama mnoge se bakterije, a također kvasci i plijesni mogu u njemu razmnožavati, i prema tome izazvati neželjene promjene.

* Referat sa V Seminara za mljekarsku industriju održanog 9—11. 2. 1967. pri Prehrambeno-tehnološkom institutu u Zagrebu.

Izvori i zastupljenost mikroorganizama u maslacu

Koje će vrste mikroorganizama i u kojem broju dospjeti u maslac i u kojoj će se mjeri u njemu razmnožiti, zavisi o nizu faktora. Kao najvažniji od njih mogu se nabrojiti: količina mikroorganizama ishodnog mlijeka odnosno vrhnja; način pasterizacije vrhnja; upotreba slatkog ili kiselog vrhnja; postupak proizvodnje maslaca ; količina vode i raspoređenost vode u maslacu; način uskladištenja i opremanja maslaca i; temperatura skladišta. Djelovanje spomenutih faktora može u danom slučaju biti presudno. Ono se napose nepovoljno odrazuje u slabim higijenskim uvjetima proizvodnje, zbog kojih dolazi do kontaktnog mikrobnog onečišćenja vrhnja nakon njegove pasterizacije (nečiste cijevi, crpke, hladionici, zrijači, bučkalice i dr.) — tog najvećeg neprijatelja u proizvodnji kvalitetnog maslaca.

Mnogi se istraživači slažu, da za 95% slučajeva svih pogrešaka maslaca treba uzroke tražiti baš u mljekari, a ne u preuzetom mlijeku odnosno vrhnju (Libbert, 1931; Guthrie et al., 1932; Olson i Hammer, 1933; Dörge, 1936; Parker i Breugman, 1937). Između ostaloga, naročito se ukazuje na važnost bučkalica, pogotovo onih drvenih, kao izvora mikroorganizama i, također, na teškoće da se one održavaju na zadovoljavajućem stupnju mikrobiološke čistoće.

Broj bakterija u maslacu je izvanredno promjenljiv i može se kretati u velikom rasponu, zavisno o vrsti i starosti maslaca kao i o mjestu uzimanja uzorka za analizu. U svježem maslacu taj broj varira od nekoliko hiljada u 1 g, kada je proizvod pravilno proizveden iz propisno pasteriziranog vrhnja i bez dodatka maslarske kulture, pa do nekoliko desetaka milijuna, kada je dodana kultura i/ili kada je proizvodni postupak bio neispravan. Primjera radi, zanimljivi su podaci kvantitativne bakteriološke analize maslaca prema Orla-Jensen-u (1902) (tab. 1).

Tabela 1

Kretanje broja bakterija u 1 g maslaca

Vrst maslaca	Starost maslaca	Mjesto uzimanja uzoraka	
		izvana	iznutra
Maslac iz slatko vrhnja	svjež nakon 3 dana	2,500.000	4,600.000
		35,000.000	12,000.000
		do 59,000.000	do 19,000.000
	nakon 6 tjedana	1,600.000	480.000
Maslac iz slatko vrhnja	svjež nakon 1 tjedna nakon 2 mjeseca	880.000	1,140.000
		17,000.000	18,000.000
		640.000	660.000
Seljački maslac iz spontano zakiseljenog vrhnja	svjež nakon 1 tjedna	11,000.000	13,000.000
		12,000.000	2,000.000
	do 16,000.000		
	nakon 4 tjedna	2,480.000	80.000
		do 3,000.000	do 640.000
Maslac iz kiselog vrhnja umjetno zakiseljenog	svjež nakon 1 tjedna nakon 2 mjeseca	2,000.000	11,000.000
		6,000.000	12,000.000
		30.000	140.000

(Iz Demeter-a, 1956)

Demeter i Maier (1931) utvrdili su nakon bakteriološke analize 500 uzoraka maslaca, koji je čuvan 10 dana u hladioniku, ove standardne vrijednosti za nesoljeni 10 dana stari maslac iz kiselog vrhnja: vrlo dobar i dobar maslac (prema sistemu bodovanja od 20 tačaka) mora na hranjivoj podlozi kazein-agara razviti manje od 1,000.000/g kolonija i ne preko 2,000.000/g. Ako maslac spomenute starosti sadrži preko 2,000.000 živih bakterija u 1 g, tada je on vjerojatno sumnjive kvalitete; ukoliko, pak, sadrži manje od 1,000.000 živih bakterija i usprkos tome je slabe kvalitete, tada uzrok tome nije bakteriološke naravi, već su tu posrijedi ostali nepoželjni utjecaji.

Osim broja živih bakterija najčešće se u maslacu određuje još i broj spora plijesni i broj kvasaca, dok se u pojedinim slučajevima utvrđuje prisutnost bakterija koje tvore ili ne tvore kiseline, koje razgrađuju bjelancevine odnosno masti, koje tvore alkalije i konačno prisutnost koliformnih bakterija.

Bakteriološka kvaliteta vode za potrebe mljekare

Bakteriološka kvaliteta vode koja dolazi u neposredan dodir s mlječnim proizvodima ili sa strojnim uređajima mljekare od važnosti je iz dva posebna razloga: 1. voda može sadržavati **patogene mikroorganizme** koji njome prelaze u mlječne proizvode i/ili; 2. voda može sadržavati **mikroorganizme kvarenja** tih proizvoda. Još jedan razlog za neprekidnu bakteriološku kontrolu vode u mljekari je zdravlje uposlenog osoblja, jer mljekarski radnici često piju velike količine vode, naročito kada rade pri relativno visokim temperaturama okoline.

Mikroorganizmi u vodi dospijevaju u mlječne proizvode najčešće izravnim dodirrom s vodom. Ukoliko nakon pranja zaostanu na površinama strojnog uređaja bit će tamo redovno ubijeni prilikom pravilno provedenog čišćenja i sterilizacije odnosno, bolje rečeno, sanitizacije. Međutim, ako ti postupci nisu brižno provedeni, preživjeli mikroorganizmi dospjet će odande u proizvod u toku proizvodnog postupka. Opasnost od prispeća mikroorganizama ovim putem utoliko je veća ukoliko je strojni uređaj izrađen iz drveta, kao što su to npr. bučkalice i sl. Kod manjkave sanitizacije takvog uređaja, mikroorganizmi koji su tamo dospjeli iz vode upotrijebljene za pranje, mogu se na određenim pogodnim mjestima razmnožavati i stvoriti žarišta koja su uzrok teškim mikrobnim kontaminacijama.

Od svih mlječnih proizvoda, maslac i sir su jedini proizvodi s kojima voda dolazi u neposredan dodir prilikom pranja odnosno standardizacije sastava proizvoda, pa pri tome lako u njih dospijevaju i mikroorganizmi prisutni u vodi. Ukoliko zbog toga dođe do kvarenja proizvoda, najveća opasnost postoji za maslac, jer su različite vrste bakterija koje izazivaju kvarenje maslaca često prisutne u vodi. To su najčešće psihrofilni organizmi koji rastu prilično brzo pri onim temperaturama koje se najčešće upotrebljavaju za čuvanje mlijeka i vrhnja.

Voda koja je zadovoljavajuća s javno-zdravstvenog stanovišta ne mora zadovoljavati sa stanovišta mikroorganizama kvarenja maslaca, sira itd. Bakteriološke metode koje se upotrebljavaju u ispitivanju ispravnosti vode za piće ne obuhvaćaju, naime, mnoge vrste bakterija koje uzrokuju kvarenja mlječnih proizvoda tako, da odobrenje za upotrebu vode koje izdaju sanitarni inspektorati može relativno malo značiti u odnosu na prikladnost te vode za proizvodnju maslaca i ostalih proizvoda. Poznati su slučajevi kvarenja maslaca do kojih je došlo zbog upotrebe vode iz gradskih vodoopskrbnih objekata, a koja je prema bakteriološkim analizama potpuno zadovoljavala s javno-zdravstvenog stanovišta.

Bakteriološka kvaliteta vode može se od vremena do vremena mijenjati tako, da je za pravilnu kontrolu vode neophodno da se prilično često uzimaju uzorci vode radi bakteriološkog pregleda.

Voda kao izvor mikroorganizama kvarenja maslaca

Već su prvobitna ispitivanja pokazala, da voda koja služi pri proizvodnji maslaca može sadržavati mikroorganizme koji izravno utječu na njegovu kvalitetu. To su prvenstveno bakterije iz rodova *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* i *Proteus*.

Neke od pogrešaka u okusu, mirisu i boji maslaca vuku svoj trag do kontaminirane vode. Tako je Herreid et al. (1934) prilikom ispitivanja jedne maslarnice, koja je preko tri godine imala poteškoće s mirisom i okusom po siru i gnjiloći svog maslaca utvrdio, da je bakterijama onečišćena voda uzrokovala te poteškoće; one su uklonjene kada je osigurana opskrba vodom odgovarajuće kvalitete. I ostala ispitivanja o uzrocima pojava promijenjenog okusa i mirisa maslaca pokazala su, da je kontaminirana voda bila uzrokom tih pojava. Vrste bakterija koje su izazivale te promjene potjecale su iz zemlje i vode, a obuhvaćale su naročito pripadnike roda *Pseudomonas*. Njihova sposobnost da rastu pri srazmjerno niskim temperaturama značajna je, jer su to najčešće oni temperaturni uvjeti pod kojima se maslac uskladištuje i čuva. **Možda je najuvjerljiviji dokaz da bakterijama kontaminirana voda uzrokuje pogreške u mirisu i okusu maslaca, što su se te nepoželjne promjene redovno javljale u onim maslarnama koje su upotrebljavale takvu vodu, i to sve dotle, dok nisu uvele kloriranje vode.**

Organizmi kvarenja maslaca porijeklom iz vode

Utvrđeno je, da su organizmi kvarenja maslaca često potjecali baš iz vode. Tako su Corley et al. (1943) ispitali 436 uzoraka vode iz 70 maslarnica sjeveroameričke države Iowa, i našli u 25% uzoraka fluorescentne *pseudomonade*, u 5% uzoraka vrstu *Pseudomonas putrefaciens*, a u nekoliko uzoraka vrlo štetne vrste *Ps. fragi*, *Ps. graveolens* i *Ps. mephitica*. Isti autori u svojim detaljnim ispitivanjima voda iz spomenutih maslarnica utvrdili su, da su neke od njih redovno zadovoljavajuće, druge redovno nezadovoljavajuće, dok su ostale varirale u kvaliteti od jednog do drugog bakteriološkog pregleda. Oni su, nadalje, utvrdili da su se koliformne bakterije nalazile redovno u 1 g, a većinom u 0,1 g nesoljenog maslaca ukoliko je taj maslac pran vodom koja je sadržavala spomenute bakterije.

U većini bakterioloških pregleda dokazana je izravna veza između visokog broja živih bakterija u vodi za pranje maslaca i kasnijih pojava kvarenja maslaca. Nerijetko se događa, da se u rezervoarima za vodu nalaze bakterije koje kvare maslac, a među njima i *Escherichia coli*. Tako je Fuchs (1949) prilikom ispitivanja vode u sirarskim pogonima u Švicarskoj, a koja se također upotrebljavala i za pranje maslaca, utvrdio da je oko 50% uzoraka vode sadržavalo više od 1000 bakterija u 1 ml, od kojih su najčešće bile zastupljene proteolitičke vrste. Više od 80% uzoraka vode nije odgovaralo higijenskim propisima u pogledu sadržine koliformnih bakterija.

Zapažena je jedna interesantna pojava koja se odnosi na rezervoare za vodu u mljekarama, a koju je vrijedno ovdje iznijeti. Iako mnogi od njih znatnije ne utječu na kvalitetu vode pokazalo se, da je voda koja izlazi iz

tih rezervoara ponekad lošije kvalitete od ulazne vode. Daljnja ispitivanja su potvrdila, da rezervoari za vodu mogu biti izvori koliformnih bakterija i/ili bakterija koje kvare maslac. Voda u slabo pokrivenim rezervoarima može se onečistiti mikroorganizmima izravno iz zraka ili neizravno prašinom, pa se tako prispjeli mikroorganizmi mogu u vodi i razmnožavati, naročito ako postoji mogućnost da se u rezervoaru nakupi organske tvari. Castell i McDermott (1942) su prilikom ispitivanja nekoliko stotina uzoraka voda iz dubokih i plitkih bunara, koje su imale nizak početni broj bakterija, utvrdili da su te vode sadržavale one vrste bakterija koje su se u velikoj mjeri razmnožavale u vodi kada je ona stajala u rezervoarima. To su bili pretežno pripadnici rodova *Alcaligenes*, *Pseudomonas* i *Achromobacter*, od kojih su mnogi bili lipolitični, proteolitični i vrlo aktivni pri niskim temperaturama.

Prema tome, rezervoari (tankovi) za vodu smatraju se potencijalnim izvorima mikrobne kontaminacije vode. Zato im treba obratiti posebnu pažnju i osigurati ih od bilo kojeg onečišćavanja sa strane. Osim toga, potrebno je redovno sprovoditi bakteriološke preglede vode koja ulazi i vode koja izlazi iz tih rezervoara.

Otkrivanje mikroorganizama kvarenja maslaca iz vode

Najveći broj ispitivanja u svrhu otkrivanja organizama kvarenja iz vode kojom se opskrbljuju mljekare proveden je zbog maslaca, jer takva kontaminacija vode predstavlja najveću opasnost upravo za maslac. Postoje kvalitativne i kvantitativne metode utvrđivanja spomenutih mikroorganizama.

Pokusno pranje maslaca. To je kvalitativna metoda koja se sastoji u tome, da se pokusna količina maslaca (proizvedena iz 0,5 litre vrhnja) ispere vodom koja je u pitanju, i takav maslac ostavi da stoji pri pogodnoj temperaturi, najbolje od 21° C. Istovremeno se proizvede jednaka količina kontrolnog maslaca iz istog vrhnja, ali se za njegovo pranje upotrijebi sterilizirana voda. Brzo kvarenje pokusno proizvedenog maslaca u usporedbi s kontrolnim, koji se dobro očuvao pod istim uvjetima držanja, uvjerljivo će dokazati opasnost koja prijete od upotrebe kontaminirane vode. Ova metoda otkrivanja organizama kvarenja maslaca je naročito upotrebljiva, kada se radi o takvim vrstama bakterija koje vrlo slabo ili uopće ne rastu na hranjivim podlogama na koje se voda naciepljuje prilikom bakteriološke analize.

Napominjem, uzgred, da se mikrobiološki laboratoriji naših mljekara moraju što prije opskrbiti inkubatorima za uzgoj psihrofilnih organizama, tj. termostata u kojima je moguće održavati stalnu temperaturu od barem 20° C.

Određivanje broja živih bakterija — Očigledno je, da će veći broj bakterija u vodi za pranje maslaca predstavljati i veću opasnost za maslac. Ovu međuzavisnost najbolje ilustriraju podaci do kojih su došli Corley et al. (1943), a iznijeti su u tabeli 2.:

Ovi rezultati pokazuju, da je mali postotak uzoraka vode s niskim brojem bakterija izazvao kvarenje, i da neki uzorci vode s visokim brojem bakterija nisu doveli do kvarenja. Do prvospomenute nepravilnosti došlo je vjerojatno zbog toga, što izvjesne vrste bakterija koje kvare maslac nisu bile sposobne da razviju kolonije na upotrijebljenoj hranjivoj podlozi; posljednje spomenuta nepodudarnost dobivenih rezultata ukazuje, da neke vrste bakterija ne uzrokuju kvarenje maslaca čak ni kada su prisutne u znatnom broju.

Tabela 2.

**Odnos između broja živih bakterija u vodi za pranje maslaca
i pojave promijenjenog mirisa i okusa nesoljenog maslaca**

Uzorci vode u grupi	Broj živih bakterija u 1 ml vode		Broj uzoraka vode u grupi	Uzorci vode koji su izazvali promjene u mirisu i okusu maslaca unutar 4 dana ili prije — u %
	Raspon broja bakterija			
a	1	do 50	204	7
b	51	» 100	43	23
c	101	» 200	52	44
d	201	» 300	31	32
e	301	» 400	22	50
f	401	» 750	35	47
g	751	» 1.500	36	61
h	više od 1.500		13	69

(Iz Hammer-a, 1957)

Zahtjevi za mikrobiološku kvalitetu vode za potrebe mljekara

Iako su kvarenja koja uzrokuje kontaminirana voda rjeđa kod ostalih mlječnih proizvoda, nego kod maslaca, nema nikakvog opravdanja da se i prilikom njihove proizvodnje ne upotrijebi voda koja po svojoj kvaliteti odgovara potrebama proizvodnje maslaca.

Kao standardne zahtjeve za kvalitetnu vodu koja odgovara potrebama proizvodnje maslaca, postavili su Corley et al. (1943) ove:

1. voda mora odgovarati higijenskim propisima za pitku vodu;
2. broj živih bakterija, određen na podlozi tripton - glukoza - kvašćev ekstrakt - agaru s emulgiranom masti, treba nakon četverodnevne inkubacije pri 21° C iznositi najviše 100 odnosno, još bolje, da ne prekoračuje 50 u 1 ml vode;
3. proteolitičke i lipolitičke bakterije mogu biti prisutne samo u vrlo neznatnom broju, tj. ne smije ih biti više od 5 u 1 ml vode; i
4. vodu kojom se opskrbljuje maslarna treba redovno bakteriološki kontrolirati u određenim vremenskim razmacima.

Ukoliko je mljekari dostupna voda takve kvalitete koja ne odgovara spomenutim zahtjevima treba je — klorirati. Obrada klorom je od svih ostalih postupaka kondicioniranja vode najraširenija, jer je jednostavna, jeftina i djelotvorna. Koncentracije aktivnog klora, bez obzira u kojem se on obliku upotrijebi, trebaju biti mnogo veće od onih koje se obično primjenjuju u kloriranju pitkih voda.

Samo upotrebom tako kondicionirane vode, naše će mljekare biti u mogućnosti da očuvaju svoje proizvode od opasnosti koju inače predstavlja mikroorganizmima kontaminirana voda, a to će se naročito povoljno odraziti na kvaliteti proizvedenog maslaca.