

Sl. 3 — Vizuelni pregled opranih boca

(prema Davis-u)

Osnovna pravila kod ovog pregleda jesu:

- a) pregledač mora biti udobno smješten na kontrolnom mjestu;
- b) **neprekidno pregledavanje po osobi (»puno radno vrijeme«) ne smije trajati dulje od pola sata;**
- c) izvor svjetla mora biti tako odabran, da boce osvjetljava dovoljno jako, a da pri tom ne zamori oči pregledača.

S obzirom da boce punimo pasteriziranim mlijekom, s higijenskog je staništa posebno opravdano da za pregledača ne postavljamo osobe, koje boluju na dišnim organima. Zato, da se ukloni ova potencijalna opasnost, preporučuje se stavljati na lice zaštitne maske od tkanine, kakve se upotrebljavaju na kirurškim odjelima bolnica. Osim toga, boce na beskrajnoj traci moraju biti sve do stroja za punjenje boca mlijekom zaštićene još i prikladnom »nadstrešnicom«, izrađenom od materijala koji se lako čisti, najbolje od nezardiva čelika.
(nastavit će se)

Doc. dr Gavra Tamburašev, Zagreb

Tehnološki fakultet

Nisin i njegova primena u mlekarnstvu*

Nisin je antibiotik polipeptidnog tipa kao što su bacitracin, subtilin, gramicidin i dr. Mattick i Hirsch god. 1944. objavljuju da su iz kulture *Streptococcus lactis*-a (Lancefield-ove grupe N) izolirali metabolit koji je pokazao aktivnost prema mnogim gram pozitivnim mikroorganizmima, pa čak i prema *Mycobacterium tuberculosis*.

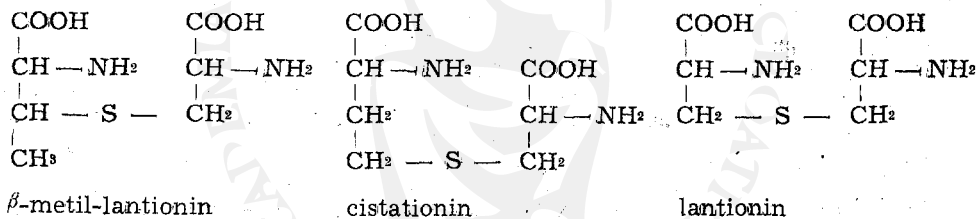
Berridge (1949) je prvi dobio nisin u čistom stanju iz 80% (v/v) etanola. Pri hidrolizi utvrđeno je da nisin nije jedinstveni spoj već da je smeša

* Skraćeni izvod iz predavanja na I Seminaru za mljek. ind. Seminar je organizirao Prehrambeno — tehnološki institut Tehnološkog fakulteta u Zagrebu od 11 — 14. II 1963.

raznih aminokiselina, a iz krivulje topivosti bilo je vidljivo da postoje bar dve supstance. Konačno su kromatogrami posle kisele hidrolize pokazali da se radi o nisinu A, B, C i D. Utvrđeno je da su nisini A, B i C dosta slični, a da se D znatno razlikuje, jer ne sadržava valin i metionin, ali sadržava glutaminsku kiselinu.

Dalje se pokazalo da je hidrolizat smeša ovih aminokiselina: leucina (4), valina (2), alanina (2), glicina (2), prolina (2), lizina (2), histidina (2), metionina (2), lantionina (1), asparaginske kiseline (1), serina (1) i cistationina (4).

Cistationin, ova retka sumporna aminokiselina nalazi se u velikoj količini i najviše ga ima od svih aminokiselina u nisinu. Ovo su utvrdili Newton i saradnici te su pronašli, da je ta retka aminokiselina izomer beta-metil-lantionina. Sličan odnos tih aminokiselina nađen je i kod subtilina.



Nisin je u mnogočem sličan subtilinu, kako u pogledu sastava aminokiselina (Tabela 1) tako i po svojim fizikalnim i antibakterijskim osobinama. Ipak su to dve potpuno različite supstance, jer nisin nema triptofana, a subtilin ne sadržava metionin.

Tabela 1 — Aminokiseline u hidrolizatima nisina i subtilina

Aminokiseline	subtilin	nisin
glicin	++	+++
leucin	++++	+++
izoleucin	+	++
lizin	+++	++
β - metil lantionin	++++	++
prolin	+	++
alanin	+	+
valin	+	+
asparaginska kiselina	+	+
lantionin	+	+
glutaminska kiselina	+++	—
fenilalanin	+	—
triptofan	+	—
histidin	—	+
metionin	—	+
serin	—	+

(prema Berridge-u, 1953)

Elementarna analiza pokazuje da nisin hidroklorid sadržava 5,6% sumpora i 5,5% klora. Putem protustrujnog razdelivanja preko Craigovog aparata iz nisinske supstance izdvojeno je niz komponenata i to: 49% nisina A, 32% B, 12% C, 4% D i moguće 3% neke supstance E. Nisin A i B pokazuju sličnu aktivnost prema test-organizmu *Strept. agalactiae*, dok su C i D mnogo slabiji po svojoj aktivnosti.

Fizikalno-kemijska svojstva nisina

Prečišćeni nisin je beli kristalni prah koji se otapa u vodi pri pH 2. Topivost u vodi pri pH 7,4 iznosi svega 0,1 mg/ml. Inače se lako topi u razređenim kiselinama i kiselim vodenim alkoholima. Nisin je relativno termostabilan. Grijanjem na 100°C nekoliko minuta on se ne razara. Pri pasterizaciji mleka on se ne uništava. Nisin je aktivan u području pH 4—7, koji ima mleko i većina sireva.

Nisin deluje inhibitorno na ove vrste bakterija:

Streptococcus, grupa A, B, E, F, G, H, K, M i N

Pneumococcus, tip I i II

Staphylococcus aureus,

Neisseria spp.

Bacillus spp. (poneki)

Clostridium spp.

Mycobacterium tuberculosis

Corynebacterium spp.

Lactobacillus spp.

Actinomyces spp.

Nisin ne deluje na *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria catarrhalis*.

Kratak opis dobivanja nisina

Kao hranjiva podloga za uzgoj *Streptococcus lactis*-a koristi se podloga ovog sastava:

glukoza	1—3%
kvašćev ekstrakt	0,7—1%
Na-citrat	0,6%
K ₂ HPO ₄	1%
NaCl	0,3%
pH	7,2

Fermentacija se odvija na temperaturi od 30°C i traje od 36—40 sati. Kao i kod svih fermentacija, proces je ovisan od izbora proizvodnog soja, sastava i pH podloge tokom fermentacije, aeracije i temperature na kojoj se vodi uzgoj kulture.

Danas se u proizvodnji nisina postiže prinos od nekoliko hiljada jedinica po ml, dok se u početku obično postizalo 50—100 jed./ml podloge. Po završenoj fermentaciji prevrela podloga se zakiseli na pH 1,9 i time započinje izolacija aktivne supstance.

Izolacija se provodi primenom metode ekstrakcije s kloroformom pri pH 4,5—5. Potom se supernatantni sloj sifonira i zakiseli sa 0,12 ml 10 N HCl/1 računato na početni volumen podloge. Kloroform se zatim destilira u vakuumu, a ostatak suspenzije upari na 1/5 koncentrata. Tada se doda 2 vol. etilnog alkohola i 1 vol. etera. Nakon mešanja doda se još 3 volumena etilnog alkohola i na taj način obori nisin. Tako dobiveni nisin sirova je supstanca i sadržava oko 1000 jed./mg. Da bi se dobila čista supstanca sirovi nisin se podvrgava frakcionom prečišćavanju preko NaCl-a i na kraju sa 80% (v/v) etilnim alkoholom dobiju se igličasti kristali sa 40—50 hiljada jed./mg aktiviteta.

Nisin se u svetu komercijalno proizvodi i može se dobiti na tržištu (Aplin & Barrett Ltd., Yeovil, Somerset, England).

Određivanje nisina

Jačina nisina izražava se jedinicama. Jedna jedinica je ona količina antibiotika, koja sprečava rast *Strept. agalactiae* u 1 ml bujona (Berridge). Kriсталni nisin sadržava oko 40×10^6 jed./g.

Nisin se određuje biološkim putem. Prva metoda je turbidimetrijska (Berridge) i kao test organizam služi *Streptococcus agalactiae*. Druga se zasniva na merenju vremena koagulacije mleka (Chevalier i Mocquot), a kao test organizam se koristi *Streptococcus cremoris*.

Primena nisina

Iako nisin poseduje izvanredna svojstva, a naročito niski toksicitet, mišljenje je većine autora da s medicinskog stanovišta nema velike prednosti pred drugim antibioticima koji se već upotrebljavaju u medicinske svrhe. Međutim, Gowans, Smith i Florey smatraju da nisin zbog svojih antibiotskih svojstava može korisno da posluži kao idealni konzervans hrane, specijalno protiv mlečnih bakterija u pivu, a naročito u proizvodnji sira.

Clostridia, anaerobni spirogeni bacili, su u prirodi veoma rasprostranjeni. Kod topljenih sireva i sireva tipa gruyère i ementalac, ovi anaerobi bujaju, i stvarajući gas, nadimlju takve sireve te ih za kratko vreme upropašuju.

Tabela 2 — Utjecaj dodatka kulture *Streptococcus* sp., koji proizvodi nisin, na nadimanje topljenog sira u kutijama

Topljeni sir u kutijama držan kod 37°C	Broj jedinica nisina po g sira	
	0	100
0—10 dana	43*	2*
10—20 dana	57*	3*
20—30 dana	—	0
30—40 dana	—	0
40—50 dana	—	0
50—60 dana	—	0
Ukupno:	100*	5*

* Brojevi označavaju procenat nadutih kutija (Prema J. Dairy Res. 19 : 187, 1952)

Mattick je 1949. god. u proizvodnji sira gruyère i ostalih sličnih tipova sireva primenjivao nisin u koncentraciji 100—200 jed./g sira i na taj način sprečio rast Clostridia. Utvrđeno je da nisin nema dejstva na termofilne streptokoke i propionske bakterije koje daju ukus ovim sirevima. Nadalje je konstatovano da nisin nestaje iz sireva već posle 3 nedelje i da nema nikakav upliv na kvalitet i ukus sira.

Holandski istraživači otkrili su da neki sojevi vrste *Lactobacillus plantarum*, *Str. cremoris*, *Str. faecalis* i *Leuconostoc*, koji se obično nalaze u sirovom mleku, sadržavaju enzim nisinazu koja razgrađuje nisin. Isto tako nađeno je da prisustvo *L. casei* neutralizira dejstvo *L. plantarum*. Prema tome u proizvodnji sireva moguće je sa sigurnošću postići inhibirajući efekat nisina samo kod proizvodnje sireva od pasterizovanog mleka. Još jedna poteškoća u vezi primene nisina vezana je na prisustvo citrata, jer citrat smanjuje dejstvo nisina na klostridije.

Praktično, danas se u svetu pri proizvodnji topljenih sireva, sireva tipa gruyère i drugih koriste ili posebno izolirane kulture »starteri« — producenti nisina, ili se dodaje 100—200 jed./g samog nisina radi zaštite od nadimanja sira koje je izazvano od strane klostridija (Tabela 2). Tako je mpr. upotreba nisina kao konzervansa u proizvodnji sireva, konzervisanih namirnica u limenkama i dr. dozvoljena u Engleskoj prema zakonskom propisu (Food Regulations) od 1962. god. Prema tome očekujemo da će i kod nas, u našoj zemlji nisin naći na svoju široku primenu u sirarstvu, jer se u mnogim zemljama u svetu danas uspešno primenjuje.

Literatura :

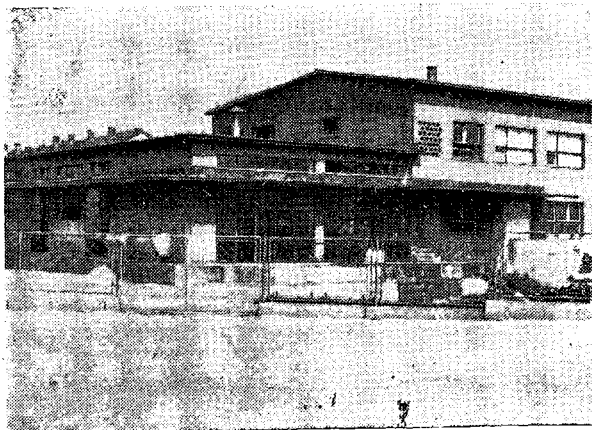
1. Mattick, A. T. R., Hirsch, A.: A powerful inhibitory substance produced by group N Streptococci, Nature, 1944, 157.551.
2. Berridge, N. J.: Preparation of the antibiotic nisin, Biochem. J., 1949, 45, 486.
3. Berridge, N. J.: The antibiotic nisin and its use in the making and processing of cheese, Chemistry and Industry, 1953, str. 374.
4. Berridge, N. J., Newton, G. G. F., Abraham, E. P.: Purification and nature of antibiotic nisin, Biochem. J., 1952, 52.529.
5. Gowans et al.: Some properties of nisin. Brit. J. Pharm. and Chemother., 1952, 7, 438.

Iz naših mljekara

Inž. Slavojka Jovanović, Sarajevo
Poljoprivredni fakultet

Mljekara u Zenici

Zenica je grad u razvoju sa svakodnevnim povećanjem stanovništva, tako da se broj stanovnika povećao od god. 1945. za 4—5 puta. Ovako nagli porast stanovništva stvara izvjesne probleme u pogledu snabdijevanja grada hranom. Jedan od takvih problema je opskrba grada mlijekom.



Mljekara — Zenica

Prije rata, kada je Zenica još bila mala bosanska kasaba, snabdijevanje mlijekom nije predstavljalo neki problem. Organiziranog snabdijevanja za-
pravo nije ni bilo, ali su svakodnevno »mljekari« iz okoline Zenice donosili