

Proizvod:	Upotreba	Primjena koncentracija:	Vrijednosti p*	Vrijednosti m**
ZLATOL B	ručno pranje boca, posuda, pri tvrdoj vodi	0,3—1%	7,5	9,8
ZLATOL D	kombinirano sredstvo za čišćenje i dezinfekciju uređaja za mužnju, također i cjevovoda, punjačica. Primjena kod tvrde vode	0,5—1%	3,7	8,8
ZLATOL L	jako alkalno sredstvo za pločaste pastere i cjevovode	1 —2%	21,5	22,7
ZLATOL A	jako kiselo sredstvo za pločaste pastere i cjevovode od V2A čelika	1,2% negativno (7,8)		

Dr Ante Petričić, Zagreb
Tehnološki fakultet

PRISUSTVO ŠETNIH TVARI I MIKROORGANIZAMA U MLJEKU I MLJEČNIM PROIZVODIMA

Mlijeko i mlječni proizvodi, poznati po svojoj velikoj hranjivoj i biološkoj vrijednosti, mogu koji put biti uzročnici smetnja u ljudskom organizmu. To se dešava kad se putem ovih proizvoda prenose štetne tvari, npr. antibiotici, insekticidi, zatim patogeni mikroorganizmi ili produkti njihovog metabolizma.

Štetne tvari i mikroorganizmi mogu dospjeti u pasterizirano mlijeko na više načina: iz sirovine, putem uređaja, putem zraka, ambalaže i dr., a mogu se — kao što je to slučaj kod mikroorganizama — i povećavati u toku obrade, prerade i držanja mlijeka i mlječnih proizvoda.

Antibiotici — God 1944. penicilin je prvi put s uspjehom upotrebljen u liječenju mastitisa kod goveda. Uspješna primjena ovog antibiotika utjecala je na njegovu široku primjenu u liječenju oboljele stoke. Nakon penicilina počelo se primjenjivati u liječenju stoke i druge antibiotike kao što su streptomycin, aureomicin, chloromicin i dr. Na taj način mogu znatne količine antibiotika dospjeti u mlijeko.

Količina antibiotika koja dolazi u mlijeko varira, ovisno o raznim faktorima — individualnim svojstvima grla, količini ubrizganog antibiotika, vrsti preparata i količini proizvedenog mlijeka. Već normalne terapijske doze antibiotika, npr. penicilina u koncentraciji od 25 000 do 100 000 I. J. (1 I. J. = internacionalna jedinica, označuje kod penicilina 0,6 mikrograma čistog kristaliziranog natrijevog penicilina — G); uslovljuju znatne koncentracije antibiotika u mlijeku. Povećanjem koncentracija kod tretiranja stoke dolazi do još većih količina antibiotika u mlijeku.

Kod ubrizgavanja oko 25 000 I. J. penicilina po četvrti vimena pojavljuju se relativno znatne količine penicilina u mlijeku do 2. odnosno 3. mužnje, a u

* Referat održan na Seminaru za sanitarne inspektore SR Hrvatske iz tehnologije i kontrole mlijeka i mlječnih proizvoda u Prehrambeno-tehnološkom institutu u Zagrebu, od 18—20. I 1965.

mlijeku od 6. mužnje dalje više ga nema, prema mišljenju Mocquota i Kosikowskog. Neka novija istraživanja, međutim, dokazuju da se on može izlučivati još i kasnije.

Prisutnost antibiotika u mlijeku može djelovati u više pravaca:

- na mikroorganizme u mlijeku
- na fermentativne procese u čistim kulturama i mlječnim proizvodima
- na potrošače mlijeka i mljećnih proizvoda.

Budući da antibiotici nisu osjetljivi na obradu i pasterizaciju, oni prelaze u proizvode, bilo da su iz sirovog ili pasteriziranog mlijeka.

Pojedini mikroorganizmi u mlijeku pokazuju različitu osjetljivost prema antibioticima. Među njima su naročito osjetljive neke vrste streptokoka mlječno-kiselog vrenja, koji čine normalnu mikrofloru mljekarskih »startera«, a priječi ih već koncentracija od 0,05 I. J. penicilina po ml.

Svojim prisustvom antibiotici mogu da ugroze normalan rast mikroflore u čistoj kulturi i onesposobe je za primjenu. Prema Katznelsonu i Hoodu utjecaj antibiotika na kulture opada ovim redom: penicilin, subtilin, streptomycin, aureomicin, bacitracin i chloromicin.

Pored toga antibiotici, koji se nalaze u mlijeku izravno prelaze u sir i sprečavaju normalno zrenje. Prema Mocquotu i Kosikowskom u siru cemembert-u koji je sadržavao antibiotike, slabo se razvijala površinska plijesan, okus je bio loš, sir se nadimao. Sir gruyère pokazivao je jako nadimanje uz karakterističan loš okus.

Pojava antibiotika u mlijeku je sve češća uz pojačano tretiranje bolesnih grla. Danas postoje vrlo mnoge relativno brze metode za utvrđivanje antibiotika u mlijeku, tako da bi njihova primjena trebala postati sastavni dio analiza u laboratoriju mljekarskih pogona.

Za sprečavanje onečišćenja mlijeka antibioticima predlaže se poduzimanje ovih mjera:

1. izbor rezistentnih sojeva bakterija koje dolaze u čistoj kulturi,
2. korištenje enzima penicilinaze (proizvedenog od *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis*), koji može inaktivirati penicilin,
3. zadržavanje »antibiotičnog« mlijeka na farmi,
4. označavanje kanta s »antibiotičnim« mlijekom.

U nekim zemljama već je uočena opasnost od »antibiotičnog« mlijeka i doneseni su odgovarajući propisi, npr. u SAD: »Mlijeko od krava tretiranih antibioticima treba izlučiti ili upotrijebiti za drugu svrhu nego prehranu ljudi, najmanje 72 sata nakon posljednjeg tretiranja«. Prema našem »Pravilniku« također je zabranjeno stavljati u promet mlijeko muznih grla dok se liječe antibioticima i 5 dana nakon toga.

Insekticidi — Novija istraživanja su utvrdila da insekticidi koji se upotrebljavaju u poljoprivredi također mogu preko mlječne žlijezde prelaziti u mlijeko. Mlječna stoka može primati insekticide na razne načine:

- a) putem krme, — trave, okopavina, mahunjača i sl. koja je tretirana, ili koja se nalazila u području koje je prskano insekticidima,
- b) u staji, u kojoj se insekticidima tretiraju stajski uređaji i zidovi,
- c) suzbijanjem kožnih parazita stoke, pri čemu insekticid direktno ili indirektno prelazi u mlijeko.

Primljeni insekticidi izlučuju se u manjoj ili većoj mjeri putem mlječne žlijezde u mlijeko. Među mnogim insekticidima naročito su štetni oni koji se u tijelu čovjeka ne razgrađuju nego u tjelesnom tkivu deponiraju i kumuliraju.

Kästli navodi (1953) podatak, da je kod 75 ispitanih osoba u SAD 80% imalo DDT u tjelesnoj masti. Te osobe nisu nikada dolazile u direktan doticaj sa DDT-om nego su ga vjerojatno primile putem živežnih namirnica.

Takvi osobito nepoželjni insekticidi su klorirani ugljikovodici kao što su DDT (diklor-difenil trikloretran), HCH (heksaklorcikloheksan), klordan, aldrin, dieldrin i dr.

Pokusima su utvrđene količine insekticida koje se izlučuju preko mliječne žlijezde u mlijeko. Tako je npr. utvrđeno, da se kod davanja kravama kristalnog DDT-a u sojinom ulju 2 puta dnevno u kapsulama, u toku 50 dana izlučuje u mlijeku:

kod	50 mg DDT na dan	—	0,23 dijelova na milion u mlijeku
	250 mg DDT na dan	—	1,33 dijelova na milion u mlijeku
	1000 mg DDT na dan	—	4,15 dijelova na milion u mlijeku

Izlučivanje DDT-a je bilo veće kada je on adsorbiran na biljke i primljen od stoke putem krme, nego u slučaju gornjeg pokusa s kristaliziranim proizvodom u sojinom ulju (Elly i Moore).

Ranije se mislilo, da je DDT potpuno neškodljiv za ljude. Međutim, različita ispitivanja potvrdila su da to nije sasvim tačno. Westermark je utvrdio da DDT-Aerosolkoncentracija od 0,15 g/m³ može biti toksična za stoku koja se nalazi u staji.

Letalne doze DDT iznose prema raznim autorima:

čovjek	150—600 mg/kg tjelesne težine	(Brieskorn)
krava	500 mg/kg tjelesne težine	(Jolly)
ovca	1000 mg/kg tjelesne težine	(Jolly, Horber)

Isto je mišljenje i za HCH, koji može u većim koncentracijama biti škodljiv, pa čak i smrtonosan (1250 mg gamaizomera na kg tjelesne težine, prema Brieskornu). Uzevši u obzir rezultate do kojih su došli strani istraživači, moramo povesti i kod nas računa o ovim štetnim tvarima koje se preko mlijeka mogu prenositi u ljudski organizam. Kod nas još nemamo objavljenih podataka o ovoj pojavi, te zbog toga i ne možemo poduzimati potrebne zaštitne mjere.

Mikroorganizmi — Za razliku od antibiotika i insekticida mikroorganizmi čine grupu, na koju se može u mlijeku vrlo uspješno djelovati primjenom različitih tehnoloških zahvata. Zadatak tehnoloških procesa u mljekarstvu u vezi s mikroorganizmima sastoji se u tome da uništimo nepoželjne i patogene, a favoriziramo poželjne mikroorganizme. Postavlja se pitanje koji su postupci efikasni u cilju usporavanja razvoja i destrukcije mikroorganizama. Njihovo suzbijanje i uništavanje provodi se raznim fizikalnim, kemijskim i biološkim sredstvima:

- zračenjem proizvoda i predmeta zrakama razne valne dužine,
- ultrazvučnim valovima i električnom strujom
- sušenjem
- hladnoćom
- toplinom
- kemijskim sredstvima

U novije vrijeme koristi se antibiotik *nisin*, proizveden od nekih sojeva *Str. lactis*, za suzbijanje nekih štetnih mikroorganizama u mliječnim proizvodima, npr. *Clostridia*. Budući da je to neškodljiva supstanca, može se dodavati u konzerve životnih namirnica za suzbijanje razvoja nepoželjnih mikroorganizama.

U tehnološkom procesu proizvodnje konzumnog mlijeka, sireva, maslaca i drugih mlječnih proizvoda primjenjuju se ranije navedeni postupci. Ukratko ćemo iznijeti kakav efekat imaju ti postupci na štetnu mikrofloru u pojedinim mlječnim proizvodima.

Pasterizirano mlijeko — Temperature i trajanje pasterizacije dovoljni su da unište gotovo sve nesporigene patogene mikroorganizme. *Mycobacterium tuberculosis*, koji spada među najotpornije patogene bakterije mlijeka može poslužiti kao indikator ispravno sprovedene pasterizacije.

Efekat na *saprofitsku* mikrofloru je nešto slabiji. Uz efekat pasterizacije od 99,5 do 99,9%, preživjet će u mlijeku određeni broj ovih mikroorganizama. Njihov broj zavisiće o ukupnom broju mikroorganizama u sirovu mlijeku.

Broj termofilnih bakterija (*Str. thermophilus* i dr.) može ponekad porasti u toku pasterizacije, osobito kod niske trajne pasterizacije — u kotlastim uređajima za pasterizaciju mlijeka.

Isto tako mogu pasterizaciju preživjeti termorezistentne bakterije, npr. *Str. faecalis*, *Str. liquefaciens*, zatim *Micrococcus luteus* i *candidus* i dr. Isto tako preživljuju i sporogeni mikroorganizmi kao *Bacillus cereus*, i dr.

Kao što se vidi pasterizacija ne daje higijenski besprijekoran proizvod — a kvaliteta ovog mlijeka u času potrošnje zavisiće znatno o manipulaciji i čuvanju od pasterizacije do potrošnje, o čistoći uređaja, ambalaže za mlijeko i dr.

Sterilizirano mlijeko — Pod ovim pojmom obuhvaćeno je mlijeko koje je dobiveno postupkom sterilizacije. Budući da je u industrijskoj praksi gotovo nemoguće dobiti sterilan proizvod (u kojem su uništeni *svi* mikroorganizmi i njihove spore) upotrebljava se u posljednje vrijeme za ovaj postupak izraz »sanitacija«. Sterilizacijom se uništavaju sve vegetativne stanice bakterija i plijesni kao i veći dio spora bakterija. Preostala flora ograničena je na *bacile* i *klostridije*, među kojima je najveći dio također uništen. Najčešće se nalaze *B. licheniformis* i *B. subtilis*.

Ovi preostali sporogeni mikroorganizmi — skraćuju trajnost steriliziranog mlijeka. Zbog postizanja bolje kvalitete steriliziranog mlijeka potrebno je koristiti sirovinu sa što nižim brojem spora, i pažljivo provoditi proces sterilizacije.

Evaporirano mlijeko — Sterilizacija mlijeka u limenki uzrokuje razaranje svih vegetativnih stanica mikroorganizama. Uništen je također veći dio njihovih spora. Najotpornije među njima mogu preživjeti — zaštićene zaštitnim slojem proteina — i prouzrokovati proizvodnju plina — bombažu — zatvorenih limenki. Klostridiji mogu uzrokovati stvaranje plina. *B. coagulans* uzrokuje stvaranje gruševine i gorak okus. U slučaju da je evaporirano mlijeko inficirano sa *Staphylococcus aureus*, on će biti uglavnom uništen djelovanjem visokih temperatura. Međutim, iako su bakterije uništene u produktu ostaju toksini uništenih bakterija i mogu uzrokovati trovanje hranom.

Kondenzirano mlijeko — Predgrijavanje mlijeka — kod čega se danas ide na sve više temperature — na preko 100°C (predsterilizacija), eliminira veliki postotak mikroflora. U gotovom produktu naći će se nešto saprofita i sporogenih mikroorganizama (*B. subtilis*) čije su spore preživjele termičku obradu. Oni — onemogućeni u kondenziranom mlijeku u djelovanju uslijed visoke koncentracije šećera — aktiviraju se kad se mlijeko razrijedi s vodom. U većem broju dolaze u kondenziranom mlijeku i otporni kvasci *Torula lactis-condensi* i *To-*

rula globosa, koji uz plinotvorne *Aerobacter aerogenes* i *Clostridium butyricum*, u uvjetima držanja limenki na višoj temperaturi, mogu uzrokovati bombažu.

U fermentiranim mlječnim proizvodima (jogurtu, acidofilnom mlijeku, kefiru) koji se proizvode od pasteriziranog mlijeka ispravna pasterizacija uništava većinu mikroorganizama. Kao i kod konzumnog mlijeka mogu se održati sporogeni i termofilni mikroorganizmi. Međutim koncentracija mlječne kiseline u ovim proizvodima onemogućuje jači razvoj štetne mikroflore. Ipak, i ovi proizvodi mogu ponekad predstavljati izvor infekcije nepoželjnim mikroorganizmima, osobito uz slabi razvoj mlječne kiseline (slabo aktivna kultura).

Kod **maslaca**, koji se proizvodi od pasteriziranog vrhnja toplinska obrada uglavnom uništava sve patogene mikroorganizme i većinu saprofita. Isto tako su uništene i spore plijesni i kvasaca, ali ne one bakterija. Naknadno, putem uređaja i preko vode za pranje maslaca, može doći do jačeg razvoja plijesni, osobito *Geotrichum candidum* (*Oidium lactis*), *Cladosporium butyri* i *Penicillium* spp., čestih uzročnika ranketljivosti maslaca. Pojavljuje se i *Pseudomonas* sp. stanovnik vode, koji razgrađuje bjelančevinu. Patogeni mikroorganizmi, osobito *Mycobacterium tuberculosis* mogu biti dosta česti u nepasteriziranom vrhnju i maslacu, jer se prilikom separiranja koncentriraju u masnom dijelu mlijeka (vrhnju).

Mlječni prah — Mlječni prah redovno nije sterilan, te sadržava veći ili manji broj mikroorganizama. Prah sušen na valjcima je bolje bakteriološke kvalitete zbog primjene viših temperatura kod sušenja. Flora je uglavnom ograničena na bacile, npr. *B. cereus*, *B. mesentericus*, *B. megaterium* i dr.

U prahu sušenom raspršivanjem najčešće se nalaze termorezistentni streptokoki (*Str. thermophilus*, *Str. durans*, *Str. bovis* i dr.), zatim mikrokoki (*M. freudenreichii*, *M. varians*, *M. luteus*) sarcine i kvasci.

Do jačeg naknadnog razvoja mikroorganizama može doći u mlječnom prahu ako se u toku stajanja navlaži, uslijed čega može doći do stvaranja štetnih produkata razgradnje mlječnih bjelančevina i masti.

Kod polutvrdih i tvrdih **sireva** koji se proizvode iz pasteriziranog i nepasteriziranog mlijeka vrlo je česta mikrobiološka greška: nadimanje. Uzročnici ranog nadimanja su obično coliformni organizmi, *Aerobacter* s većom i *Escherichia* s manjom proizvodnjom plina, ugljičnog dioksida i vodika, i kvasci. Ova pojava dolazi do izražaja već »pod prešom« i u prvim danima nakon proizvodnje. Uzročnici kasnog nadimanja su organizmi *Clostridium* spp. — čije se spore u povoljnim uvjetima aktiviraju naknadno u toku zrenja i uskladištenja, uz veliku proizvodnju vodika. Patogeni mikroorganizmi dosta se rijetko održavaju i nalaze u zrelom siru. Iako patogeni mikroorganizmi teško podnose kiselinu stvorenu u siru u toku proizvodnje i zrenja, može se u njemu naći *Clostridium botulinum*. Isto tako može doći do infekcije preko sira sa *Salmonellom* koje većinom dođu u sir (prema Seamanu) vanjskom kontaminacijom. Trovanje sirom može nastupiti uslijed toksina stvorenih od *Staphylococcus aureus*, (iz bolesnog vimena) koji su preostali u siru iz nepasteriziranog mlijeka. Prema Hökl-u pojedini patogeni mikroorganizmi održavaju se i još su djelotvorni u pojedinim mlječnim proizvodima u ovom razdoblju:

Mycobacterium tuberculosis:

u kiselom mlijeku (pH 4—6)	18—21 dan
u sirutki	4—14 dana
u jogurtu i kefiru	14 dana
u maslacu	21 dan
u sirevima	3—28 tjedana

Brucella abortus:

u mlijeku	7— 9 dana
u kiselom mlijeku	9 dana
u jogurtu	8 dana
u kefiru	19 dana
u slatkom i kiselom vrhnju	9 dana
u maslacu	50 dana
u mekim sirevima	35 dana

Virus slinavke i šapa:

u mlijeku kod 17—20°C	27 sati
u vrhnju kod 18—20°C	3 dana
u nesoljenom maslacu iz kiselog vrhnja	nestaje već u vrhnju
u nesoljenom maslacu iz slatkog vrhnja	8 dana

Posebno treba spomenuti mogućnost **reinfekcije** kod svih mlječnih proizvoda, koja je u našim uvjetima vrlo česta. Do reinfekcije dolazi putem nedovoljno očišćenih mlječnih cijevi i boča za mlijeko, bučkalice, stroja za pakovanje i omotne ambalaže kod maslaca, sirnih marama, uređaja za mehaničku obradu, kotlova i kada, kalupa, polica za zrenje kod sira. Reinfekcija je često uzročnik kvarenja okusa pa i grušanja konzumnog mlijeka, jakog razvoja plijesni u maslacu, nadimanja u siru i dr. Prisutni mikroorganizmi u većem broju mogu svojim metabolizmom stvarati znatnu količinu škodljivih tvari, te proizvod učiniti škodljivim i opasnim po ljudsko zdravlje.

Literatura:

1. G. Mocquot—F. Kosikowski: Advances in cheesetechnology, FAO, Rome, 1958.
2. P. Kästli: Beeinflussung der Milchqualität durch die Verwendung von Insektiziden, FAO, 53/11/8673, No 40.
3. A. Seaman: Bacteriology for dairy students, Cleaver-Hume press, London, 1963.

Mr. ph. Radmilo Jović, Niš

Hemijski institut Medicinskog fakulteta

PRIOLOG PROUČAVANJU PROTEINSKIH FRAKCIJA KRAVLJEG MLEKA

Proteini mleka su do sada dosta ispitivani. Oni sačinjavaju jedan heterogeni sistem čija je kompleksnost izučavana hemijskim i fizičkim metodama, a u novije vreme i elektroforezom na papiru, mikroelektroforezom, elektroforezom i skrobnom gelu i disk elektroforezom u poliakrilamidu.