

- Hammer, B. W.: Dairy bacteriology (3rd ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York, 1948.
- Kudrjavcev, V. M. (1963): Kolekcija tipovih kultur mikroorganizmov. *Mikrobiologija* 32 (5).
- Sherman, J. M. (1955): Streptococcus lactis and the streptococci of the so-called lactic group. *J. Dairy Sci.* 38 (10) 1184.
- Whitehead, H. R. & COX, G. A. (1935): The occurrence of bacteriophage in cultures of lactic streptococci. *New Zealand J. Sci. Technol.* 16.

JEDAN OD FAKTORA KOJI UTIČU NA KVARENJE STERILIZOVANOG MLEKA*

Stojanka MITIĆ, Ivana SPASIĆ, Ivanka OTENHAJMER
i Desanka MILENKOVIĆ
Institut za mlekarstvo Jugoslavije,
Novi Beograd

Uvod

Termički tretmani koji se upotrebljavaju za sterilizaciju mleka ne uništavaju uvek sve mikroorganizme, naročito ne izvesne forme spora termo-rezistentnih bakterija iz familije *Bacillaceae* i to rodova *Bacillus* i *Clostridium*. Ova rezistencija može biti vezana za jednu vrstu ili jedan soj, ili za neke ćelije jednog soja. Za kvarenje sterilizovanog mleka među termofilnim bakterijama naročito su značajne spore *Bacillus stearothermophilus*, a među mezofilnim spore *B. subtilisa*, *B. licheniformisa* i *B. circulansa*. Preživele spore ovih bakterija mogu vrlo brzo da stvaraju vegetativne oblike, te s toga brzo dovode i do kvarenja mleka. Međutim, mnogo su opasnije tzv. »uspavane« spore (*B. coagulans*), koje posle nekoliko nedelja ili meseci mogu da izazovu kvarenje mleka.

Kod »biološki sterilnog mleka« uništene su sve forme mikroorganizama i encima, bez vidljivih promena u fizičko-hemijskom i organoleptičkom pogledu. Međutim, u »komercijalno sterilnom mleku« može biti prisutan mali broj »inertnih« spora, koje nisu u stanju da pokvare mleko. Zbog toga se u zemljama s umerenom klimom toleriše prisustvo malog broja termofilnih spora u sterilizovanom mleku.

Međutim, poznato je da do kvarenja sterilizovanog mleka, prvih dana posle sterilizacije, može doći ili usled nedovoljnog dejstva toplote ili usled neispravnosti uređaja, koje omogućavaju mešanje sterilizovanog mleka sa sirovim mlekom, ili usled naknadne kontaminacije mikroorganizmima posle ispravno sprovedene sterilizacije.

Usled nedovoljnog dejstva toplote pri sterilizaciji mleka dolazi do preživljavanja spora prisutnih u sirovom mleku. Po navodima iz literature, a i našem sopstvenom iskustvu, do kvarenja sterilizovanog mleka najčešće dolazi usled prisustva sledećih sporogenih bakterija: *B. coagulansa*, koji daje gorak ukus mleku, *B. circulansa*, koji izaziva njegovu užeglost, zatim *B. cereusa*, *B. stearothermophilusa*, *B. subtilisa*, prouzrokovača slatkog zgrušavanja mleka i klostridija — *Cl. perfringensa* odnosno *Cl. sporogenesa*.

* Referat sa VIII Seminara za mljekarsku industriju od 2. do 4. II — 1970, Tehnološki fakultet, Zagreb

Problem zgrušavanja sterilizovanog mleka danas je vrlo aktuelan u pojedinačnim našim mlekararnama i dovodi do velikih materijalnih gubitaka. Ovakvi problemi javljaju se i u mnogim mlekararnama s najsavremenijim uređajima za sterilizaciju mleka.

U cilju ustanovljavanja uzroka zgrušavanja sterilizovanog mleka u jednoj takvoj mlekararni sprovedli smo:

- dokazivanje prisustva i identifikaciju karakterističnih mikroorganizama prisutnih u zgrušanim uzorcima sterilizovanog i čokoladnog mleka i
- bakteriološko snimanje vazduha u cilju iznalaženja bakterija sposobnih da izazovu zgrušavanje sterilizovanog mleka i njihovu identifikaciju.

Materijal i metode

Materijal za ova ispitivanja činilo je 288 uzoraka sterilizovanog mleka u tetra - paku od $\frac{1}{2}$ litra, proizvodnih partija od 6. i 7. septembra 1969. i 54 uzorka čokoladnog mleka takođe u tetra - paku od $\frac{1}{2}$ litra, proizvodnih partija od 9. i 15. septembra 1969. Ispitivani uzorci mleka bili su proizvedeni na »Steri-plak« uređajima (proizvod firme Sondi iz Lodia, Italija) u toku rada prve i druge smene.

Odmah po prispeću uzoraka u laboratoriju otvoreno je, pod aseptičnim uslovima, 26 % uzoraka sterilizovanog mleka i 33 % uzoraka čokoladnog mleka. Kod otvaranja uzoraka rukovodili smo se da iz svake kutije uzmemo odmah na ispitivanje isti broj slučajno odabranih uzoraka. Svaka kutija je bila obeležena posebnim znakom, a svaki uzorak odgovarajućim rednim brojem.

Od zgrušanih uzoraka pripremani su odmah mikroskopski preparati i svi ovi uzorci su radi daljeg postupka presejavani u obrano sterilno mleko i inkubirani na 37° C u toku 18^h. Radi izolovanja bakterija vršeno je presejavanje u duboki suzutkim agar. Iz pogodnog razređenja, gde su bile dobro odbrojene kolonije, vršeno je pikiranje istih i njihovo zasejavanje u bujon za streptokoke. Kulture bakterija u ovom bujonu korišćene su za biohemijsku determinaciju. Determinisanje sojeva je vršeno prema Bergey-u (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1957.).

Da bi pratili vizuelno pojavu zgrušavanja mleka izvestan broj uzoraka je prebačen u sterilne boce i inkubiran na temperaturi od 30° C i 55° C.

Uzorci koji kod otvaranja nisu pokazivali nikakvih vizuelnih promena ispitivani su po metodi koja se primenjuje u Pasterovom institutu u Liliu.

U cilju otkrivanja aerobnih i anaerobnih mikroorganizama zasejavanje je vršeno u podloge za obogaćivanje: hranljivi bujon za aerobe, bujon sa tioglikolatom i Rosenovu podlogu za anaerobe. Zasejane podloge su inkubirane na 30° C i 55° C u toku 4 dana. Subkultivisanje je vršeno na hranljivom agaru, površinski s pomoću eze i ubodom u tioglikolatni agar. Inkubacija je sprovedena na istim temperaturama i za isto vreme. Posle makroskopskog posmatranja iz svake epruvete i Petri šolje u kojima je bilo porasta pripremani su mikroskopski preparati.

Ostali uzorci su klasirani u dve približno jednake grupe, a njihova inkubacija je vršena na temperaturama:

30° C u periodu od 21 dan, radi razvicia mezofilnih bakterija,

55° C u periodu od 10 dana, radi razvoja termofilnih bakterija.

Posle određenog vremena inkubacije uzorci bez pojave zgrušavanja zasejavani su na isti način kao i nezgrušani uzorci koji su odmah otvarani.

Bakteriološko snimanje vazduha vršili smo na sledeći način:

- eksponiranjem surutkinog hranljivog agara, razlivenog u Petri šolje i
- eksponiranjem sterilnog mleka razlivenog po 20 ml u otvorene duboke Petri šolje.

Posle određenog vremena eksponiranja materijal je inkubiran na 30° C u toku 24^h. Sve karakteristične kolonije su mikroskopski pregledane, a streptokokne grupacije koje su zgrušavale mleko determinisane su dalje na isti način kao i streptokoke izolovane iz uzoraka sterilizovanog mleka.

Bakteriološko snimanje vazduha izvršeno je mesec i po dana po proizvodnji uzoraka sterilizovanog mleka dostavljenih na bakteriološko ispitivanje.

Rezultati ispitivanja

Sprovedena ispitivanja su pokazala da je odmah kod pripremanja uzoraka sterilizovanog i čokoladnog mleka za bakteriološku kontrolu konstatovano 29 % zgrušanih uzoraka. Pretpostavljamo, da bi ovaj procenat bio znatno veći da je izvršena opservacija pri otvaranju svih prispelih uzoraka.

Rezultati zgrušavanja sterilizovanog mleka pre i posle inkubacije na 30° C (21 dan) i na 55° C (10 dana) prikazani su u narednoj tabeli.

Analizom dobivenih rezultata može se zaključiti, da je procenat zgrušanih uzoraka sterilizovanog mleka iz »steriplaka« II (28,1 %) bio veći nego iz »steriplaka« I (14,9%). Međutim, kao što se iz tablice vidi između uzoraka sprovedenih za vreme rada smene I i smene II nije postojalo bitnih razlika u pogledu zgrušanih uzoraka.

Mikroskopski preparati odmah otvorenih zgrušanih uzoraka sterilizovanog mleka pokazali su da izrazito dominira streptokokna mikroflora. Prisustvo grampozitivnih štapićastih bakterija bilo je veoma retko, 2—3 štapića na 30 pregledanih vidnih polja.

Već ove prve naše konstatacije dale su indicacije da dalja ispitivanja usmerimo u pravcu izolovanja u čistoj kulturi bakterija roda *Streptococcus*.

Izolovanje navedenih sojeva vršeno je bez poteškoća, budući da je upotrebljena podloga — surutkin agar omogućivala optimalan rast ovih bakterija.

Determinisano je 47 izolovanih sojeva roda *Streptococcus*. Svi ovi sojevi pokazivali su veliku biohemijsku aktivnost u pogledu stvaranja kislosti, te su samim tim za kratko vreme zgrušavali mleko. Ova karakteristika bila je naročito značajna za otkrivanje uzroka kvarenja (zgrušavanja) sterilizovanog mleka.

Determinisani sojevi su imali karakteristike *Viridans grupe*:

- rasli su na 45° C;
- nisu proizvodili amonijak iz arginina;
- nisu bili beta hemolitični;
- nisu rasli u bujonu sa 6,5 % natrijumhlorida;
- nisu rasli u bujonu čiji je pH iznosio 9,6, ni u mleku sa 0,1 % metilenskog plavila.

Unutar *Viridans grupe* dominirali su sojevi koji su determinisani kao *Streptococcus thermophilus*. Bilo je izvesnih sojeva koji su po jednoj ili po dve osobine odstupali od klasifikacione šeme po Bergey-u. Ovi varieteti su ili fermentirali maltozu ili su rasli u 2 % koncentraciji natrijumhlorida ili su ispoljavali obe ove osobine. Međutim, neki autori (E. Scharpe) i pored ovih osobina svrstavaju takve sojeve u vrstu *Str. thermophilus*.

Oko 10 % sojeva je determinisano kao *Streptococcus bovis*, a samo je jedan soj determinisan kao *Streptococcus acidominimus*.

Rezultati kontrole bakteriološke sterilnosti neinkubiranih uzoraka sterilizovanog i čokoladnog mleka, kod kojih nije bilo nikakvih vizuelnih promena, pokazali su da su ovi uzorci bili sterilni u komercijalnom smislu. Od aerobnih bakterija kulturom su izolovani grampozitivni štapićasti oblici roda *Bacillus* i to samo iz malog broja uzoraka. Nije konstatovano prisustvo anaerobnih bakterija roda *Clostridium*.

Tablica

Zgrušani uzorci sterilizovanog mleka pre i posle inkubacije

Mešina i smena	Ukupan broj uzoraka	Broj uzoraka				Zgrušani uzorci						Ukupno	
		inkubiranih		otvoreno po prispeću	30° C		55° C		Po prispeću				
		30° C	55° C		broj	%	broj	%	broj	%	broj	%	
Sterioplak I	87	35	34	18	4	11,4	7	20,5	2	11,1	13	14,9	
Sterioplak II	192	62	67	63	13	20,9	16	23,8	25	39,6	54	28,1	
Smena I	139	56	54	29	13	23,2	13	24,0	5	17,2	31	22,3	
Smena II	140	41	47	52	4	9,9	11	23,4	22	42,3	37	26,4	

Ovakvu bakteriološku sliku dobili smo i kod nezgrušanih uzoraka koji su bili inkubirani na temperaturama od 30° C i 55° C.

Rezultati mikroskopskih posmatranja zgrušanih uzoraka posle inkubacije pružali su istu mikroskopsku sliku u pogledu dominantnosti streptokoknih grupacija kao i zgrušani uzorci mleka pre inkubacije.

Iz ovih uzoraka nije mogao biti izolovan ni jedan soj, što je i razumljivo kada se zna da višak stvorene mlečne kiseline štetno utiče na vitalnost streptokoka, koja postepeno inaktivira sojeve i dovodi do njihovog izumiranja.

Zgrušavanje ovih uzoraka ne dovodimo u vezu ni s temperaturom inkubacije ni s dužinom njenog trajanja, nego smatramo da su ovi uzorci već bili zgrušani prilikom klasiranja, što mi naravno nismo mogli da uočimo zbog načina pakovanja.

Dobiveni rezultati su pokazali da su izvesna pakovanja, i ako su poticala iz istih kutija u kojima je bilo i zgrušanih uzoraka, bila sterilna u komercijalnom smislu.

Vizuelno praćenje zgrušavanja mleka u laboratorijskim bocama pokazalo je, da samo prva dva dana inkubacije predstavljaju kritičan period za zgrušavanje. Posle ovog perioda uopšte nije bilo pojave zgrušavanja mleka.

Makroskopsko i mikroskopsko opserviranje kolonija izraslih na surutkinom agaru, eksponiranom vazduhu u prostoriji sa »sterioplak« uređajima, pokazalo je prisustvo mikroorganizama iz rodova: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Sacharomyces* i *Penicillium*, što je potvrđeno i pregledom mikroskopskih preparata. Od mikroorganizama izolovanih iz vazduha sprovodili smo determinaciju samo kod bakterija iz roda *Streptococcus*, budući da smo kao prouzrokovaoče zgrušavanja sterilizovanog mleka utvrdili bakterije koje pripadaju ovom rodu.

Sterilizovano mleko koje je bilo izloženo kontaminaciji iz vazduha bilo je potpuno zgrušano posle 16^h inkubiranja na 30° C. Mikroskopski preparati su pokazali izrazitu dominaciju streptokokne mikroflore kao i u zgrušanim uzorcima dostavljenog sterilizovanog mleka.

Ukupno smo determinisali 38 sojeva streptokoka, izolovanih, s pomoću navedenih podloga, iz vazduha.

Determinisani sojevi pripadali su vrstama: *Str. dyctis*, *Str. thermophilus*, *Str. bovis*, *Str. dysgalactiae*, *Str. acidominimus* i *Str. faecalis*. Među njima najzastupljeniji su bili sojevi vrste *Str. lactis*.

Iz iznetih rezultata se vidi da je iz vazduha prostorije sa »Steriplak« uređajima izolovan veći broj vrsta streptokoka nego iz uzoraka sterilizovanog mleka. Rezultati determinacije streptokoka su pokazali da je najveći broj sojeva izolovanih i zgrušanih uzoraka sterilizovanog mleka pripadao vrsti *Str. thermophilus*, dok je najveći broj sojeva izolovanih iz vazduha pripadao vrsti *Str. lactis*.

S obzirom na dužinu vremena ekspozicije podloga vazduhu (15 minuta do 2 časa) i na činjenicu da ova ispitivanja nisu vršena u vreme proizvodnje ispitivanog sterilizovanog mleka, već znatno kasnije, razumljivo je da je dobivena i drugačija bakteriološka slika u pogledu broja zastupljenih vrsta streptokoka, kao i u pogledu njihovog međusobnog brojnog odnosa.

Međutim, značajno je da su i iz zgrušanog sterilizovanog mleka i iz vazduha izolovane ne samo iste vrste streptokoka, već i unutar jedne iste vrste potpuno identični sojevi.

Poznato je, da su streptokoke sposobne da u spoljnoj sredini sačuvaju svoju vitalnost izvesno duže ili kraće vreme (pojedine i do 5 meseci), zavisno od uslova sredine u kojoj se nalaze: materijala u kome se nalaze (gnoj, mleko, feces, itd.), temperature, vlažnosti vazduha, uticaja svetlosti i dr.

Napred izneti rezultati bakteriološkog ispitivanja uzoraka sterilizovanog i čokoladnog mleka jasno pokazuju da do zgrušavanja mleka nije došlo usled nedovoljne temperature sterilizacije. U ispitivanim uzorcima zgrušanim i komercijalno sterilnim, bilo je veoma retko prisustvo grampozitivnih štapićastih bakterija. Činjenica da su se u istim kutijama nalazili i zgrušani i komercijalno sterilni uzorci takođe isključuje mogućnost nedovoljne temperature sterilizacije.

S obzirom na to, da su u svim zgrušanim uzorcima mleka izrazito dominantnu floru činile streptokoke i da su streptokoke bez ikakvih teškoća izolovane iz vazduha prostorije u kojoj se proizvodi sterilizovano mleko, može se zaključiti — da je izvor kontaminacije sterilizovanog mleka bio vazduh i da je do nje došlo usled neke neispravnosti uređaja koja je omogućila ulazak vazduha u inače zatvoreni sistem uređaja za sterilizaciju.

ZAKLJUČAK

Na osnovu eksperimenata koje smo sprovedi, dobivenih rezultata identifikacije mikroflore odgovorne za zgrušavanje mleka i stečenih zapažanja iznosimo sledeće zaključke:

- da je do zgrušavanja sterilizovanog mleka došlo usled prisustva velikog broja bakterija iz grupe Viridans roda *Streptococcus*. Najzastupljeniji su bili sojevi vrste *Str. thermophilus* i *Str. bovis*;
- da je mikroflora vazduha, takođe pokazivala prisustvo velikog broja bakterija iz roda *Streptococcus* i to uglavnom iz grupa Viridans i *Lactis*. Najveći broj izolovanih sojeva pripadao je vrstama: *Str. lactis*, *Str. thermophilus* i *Str. bovis*;

- da su svi sojevi izolovani iz sterilizovanog mleka i iz vazduha bili vrlo aktivni u pogledu stvaranja kiselosti odnosno zgrušavanja mleka;
- da je bilo potpuno identičnih sojeva među sojevima izolovanim iz sterilizovanog mleka i iz vazduha.

Na osnovu dobivenih rezultata može se konstatovati da je glavni uzrok masovnog zgrušavanja sterilizovanog mleka bio u nekoj neispravnosti uređaja koja je omogućila kontaminaciju sterilizovanog mleka bakterijama iz vazduha.

PRINCIP RADA STROJEVA TIPRA »HASSIA« U MLJEKARSKOJ INDUSTRIJI

Dipl. inž. Nebojša ŽIVIĆ
Mljekara, Banja Luka

U periodu od 1967. do 1970., gotovo sve mljekare u Jugoslaviji, provodile su veće ili manje rekonstrukcije, uvodeći savremeniju tehnologiju obrade i prerade, uključivo i pakovanje mlijeka i mlječnih proizvoda u nepovratnu ambalažu.

U našoj mljekarskoj industriji zastupljeno je više oblika pakovanja mlijeka i mlječnih proizvoda u nepovratnu ambalažu, i to:

- a) TETRA - PAK (čvrsti oblik pakovanja), zastupljen je kod većih mljekara kao: Beograd, Zagreb, Ljubljana, Novi Sad itd.
- b) PREPAK (pakovanje u polietilenskim vrećicama) zastupljen je kod mljekara srednjeg kapaciteta, kao što su: Banja Luka, Sremska Mitrovica, Rijeka, Sušotica i dr.
- c) POLI - PAK (pakovanje u polietilenskim vrećicama) zastupljeno je također kod nekih mljekara, i to: Novi Sad, Alibunar itd.

Slična situacija je i sa strojevima za pakovanje jogurta, kojih ima više tipova, i to: TETRA - PAK (za pakovanje tečnog jogurta), »Hamiba«, »Benhil« i »Vexsina« za pakovanje čvrstog jogurta u gotove čašice i »Hassia« koja sama formira čašice za pakovanje jogurta.

Namjera mi je, da iznesem dvogodišnje iskustvo s primjenom novih strojeva tipa »Hassia« iz Zapadne Njemačke, Rastand, Hessen, koje su kod nas zastupljene u procesu proizvodnje.

Mljekara Banja Luka zamijenila je prvom fazom rekonstrukcije stare strojeve manjeg kapaciteta novim savremenijima, a samim tim riješila je i pakovanje mlijeka i mlječnih proizvoda u nepovratnu ambalažu.

STROJ ZA PAKOVANJE MLJEKA

U liniji pakovanja pasteriziranog mlijeka mljekara u Banja Luci ima dva stroja tipa »Hassia« TA - MP.

Tehnički podaci:	1/4 l.	dimenzija vrećice	140 × 110 mm	
Veličina kalupa:	1/2 l.	»	»	140 × 160 mm
	1 l.	»	»	140 × 250 mm
Kapacitet:	1/4 l.	=	25 — 30	vrećica u minuti
	1/2 l.	=	25 — 30	»
	1 l.	=	25 — 30	»