

Populacijska kinetika mikroflore pasteriziranog mlijeka (Population Kinetics of Microorganisms in Pasteurized Milk)

Irena ROGELJ, dipl. inž., Biotehniška fakulteta, Institut za mlekarstvo, Ljubljana, Marija KUS, dipl. inž., »Mercator«, Ljubljanske mlekarne, Ljubljana

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper
Prispjelo: 15. 3. 1988.

UDK: 637:579.6

Sažetak

Cilj rada bio je utvrditi utjecaj različitih temperatura skladištenja (4 °C, 12 °C, 18—20 °C) na dinamiku rasta mikroflore pasteriziranog mlijeka. Izračunati su prosječan broj generacija na dan i generacijsko vrijeme u danima za cijelu populaciju, te populacije kiselintvornih, nekiselintvornih, koliformnih i psihrotrofnih mikroorganizama.

Summary

The effect of different storage temperature (4 °C, 12 °C, 18—20 °C) on the growth rates of different bacterial populations in pasteurized milk was investigated. The mean number of generations per day and generation time in days for total bacteria, acid producing and non-acid producing bacteria, coliform and psychrotrophic bacteria were calculated.

Uvod i svrha rada

Slaba kakvoća i kratka trajnost konzumnog mlijeka problem je koji kod nas postoji već godinama, i to u prvom redu kao posljedica slabe mikrobiološke kakvoće sirovog mlijeka. Uz to, na trajnost pasteriziranog mlijeka utječu i drugi činioci, kao što su: proces obrade mlijeka u mljekari, stupanj i vrsta kontaminacije, ambalaža i uvjeti skladištenja. Kako neki nalazi pokazuju, prve greške u okusu i aromi pasteriziranog mlijeka nastaju kada u njemu poraste broj bakterija na 2×10^6 /ml (Tolle, 1982).

Iako je propisom određeno da se pasterizirano mlijeko do upotrebe čuva na temperaturama ispod 8 °C, u praksi se to često zanemaruje. Kritično je prvenstveno ljetno razdoblje, osobito u manjim prodavaonicama prehrambenih proizvoda u kojima su više temperature skladištenja pasteriziranog mlijeka (od 10 do 14 °C). Više temperature skladištenja su i u većim prodavaonicama, zbog pogrešno projektiranih rashladnih uređaja.

Viša temperatura skladištenja uz slabu mikrobiološku kakvoću sirovog mlijeka glavni su uzroci kratke trajnosti i slabe kakvoće pasteriziranog mlijeka kod nas. Cilj ovih istraživanja bio je da se utvrdi kako se ti štetni uvjeti odražavaju na dinamički razvoj mikroflore pasteriziranog mlijeka.

Materijal i metode rada

Uzorci pasteriziranog mlijeka uzimani su s proizvodne linije u mljekari odmah poslije punjenja u polilitarsku ambalažu i skladišteni su na tri različite temperature: 4 °C, 12 °C i 18—20 °C. Analize su obavljene odmah nakon punjenja, a zatim u dvodnevrim intervalima. Pokus je ponovljen 15 puta.

Mikrobiološke analize su slijedeće:

ukupan broj (UB) mikroorganizama (m.o.), broj kiselinotvornih (KT) i nekiselinotvornih (NKT) mikroorganizama utvrđivan je na CLA — china-blue-agar (Demeter, 1967), broj koliformnih bakterija (K) na VRB — violet red bile agar (Marth, 1978), a broj psihrotrofa (P) na TBC — total bacterial count agar (Marth, 1978), inkubacija 10 dana na 7 °C.

Računanje populacijsko-kinetičkih parametara rasta mikroorganizama (Porkorn, 1986):

$$N = \frac{\log N_t - \log N_0}{\log 2 \cdot t}$$

- N: prosječan broj generacija na dan
 N: the mean number of generations per day
 N₀: početni broj mikroorganizama
 N₀: number of microorganisms at initial time
 N_t: broj mikroorganizama poslije određenog vremena
 N_t: number of microorganisms at a later time
 t: vrijeme od N₀ do N_t, u danima
 t: length of time from N₀ to N_t, expressed in days

$$G = \frac{1}{N}$$

- G: generacijsko vrijeme u danima
 G: generation time in days

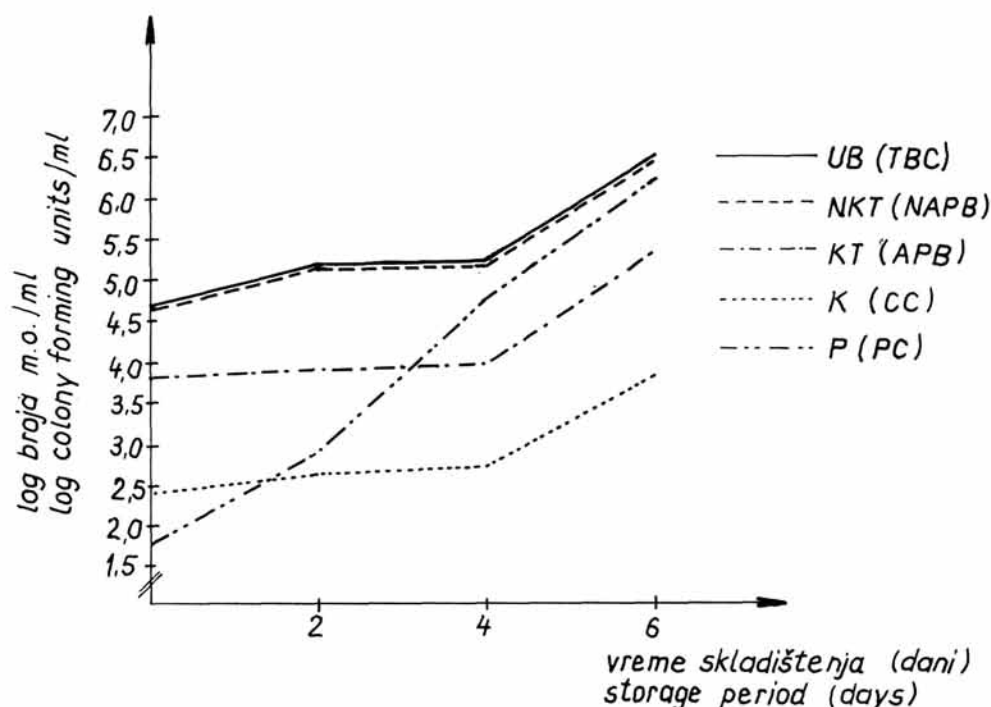
Rezultati istraživanja

Uzorci pasteriziranog mlijeka uzeti u mljekari odmah poslije punjenja u ambalažu imali su u prosjeku 55.000 mikroorganizama/ml, što je više nego što dozvoljava pravilnik (Službeni list SFRJ, 5/1980). Uzroke za to treba tražiti u prvom redu u slaboj mikrobiološkoj kakvoći sirovog mlijeka koje dolazi u mljekaru (Rogelj, 1985, 1986, 1987), jer i uz 99% redukcije mikroorganizama za vrijeme pasterizacije, mljekare ne udovoljavaju tim zakonskim propisima.

Rast mikrobnih populacija prilikom skladištenja na različitim temperaturama pokazuje da se na 4 °C UB m.o. polako povećava. U prosjeku prevladavaju NKT nad KT mikroorganizmima. Mikrobnе populacije dolaze u eksponencijalnu fazu rasta tek poslije četvrtog dana skladištenja. Iznimka je populacija psihrotrofa koja na 4 °C brzo raste tijekom cijelog vremena skladištenja, što je za tu grupu karakteristično, jer niske temperature favoriziraju njen rast (tab. 1, sl. 1).

Na 12 °C UB m.o. raste brže i dostiže prosječno vrijednost od $1,1 \times 10^6$ /ml već poslije 2 dana. U prosjeku još uvijek prevladavaju NKT nad KT m.o., ali razlike su manje jer se broj KT m.o. povećava brže nego broj NKT m.o. Brz razvoj vidi se i u populaciji koliformnih m.o. i psihrotrofa (tab. 1, sl. 2).

Prilikom skladištenja mlijeka na sobnoj temperaturi (18—20 °C) već poslije 2 dana pokazalo se povećanje broja mikroorganizama; KT m.o. razmno-



Slika 1: Dinamika rasta mikrobnih populacija u pasteriziranom mlijeku skladištenom na 4 °C

Figure 1: Growth Rates of Different Bacterial Populations in Pasteurized Milk at 4 °C

žavali su se brže nego NKT m.o. Vidi se izrazit porast K m.o., a porast psihrotrofa nije bitno veći od porasta u uzorcima skladištenim na 12 °C (tab 1, sl. 3).

U tablici 2 i 3 sabrani su populacijsko-kinetički parametri rasta za različite mikrobnje populacije. Kako se vidi, porast mikrobnje asocijacije najveći je na sobnoj temperaturi, i to 3,4 generacija na dan, što se i očekivalo. Najbrži je rast populacije psihrotrofa (5,4 generacija na dan), zatim grupe koliformnih (4,7 generacija na dan) i grupe kiselintvornih mikroorganizama (4,1 generacija na dan). To je u skladu s karakteristikama pojedinih populacija, jer je to temperaturno područje optimalno za psihrotrofe, a za kiselintvorne i koliformne mikroorganizme je ispod minimuma. Mikrobnja asocijacija na 12 °C pokazuje razmjerno visok prirast generacija (2,6 na dan) i malo se razlikuje od režima sobnih temperatura. To je posljedica brzog rasta broja psihrotrofa kojima ta temperatura daje dobre uvjete prema ostaloj mikroflori, što potvrđuje i isto generacijsko vrijeme na 12 °C i sobnoj temperaturi. Mala je razlika i u generacijskom vremenu na 12 °C i sobnoj temperaturi za populaciju koliformnih m.o.

Najveću biološku stabilnost postiže pasterizirano mlijeko na 4 °C, jer tek poslije 4 dana skladištenja na toj temperaturi mikrobnja asocijacija dolazi u eksponencijalnu fazu rasta. Jedina populacija koju hlađenje na 4 °C neznatno

Tablica 1: Prosječne log vrijednosti za UB m.o., broj KT i NKT m.o., broj K i P m.o. u uzorcima pasteuriziranog mlijeka, skladištenih na različitim temperaturama ovisno o vremenu

Table 1: The Mean Log Values for TBC, Count of APB, NAPB, CC and PC in Pasteurized Milk at Different Storage Temperatures and Time

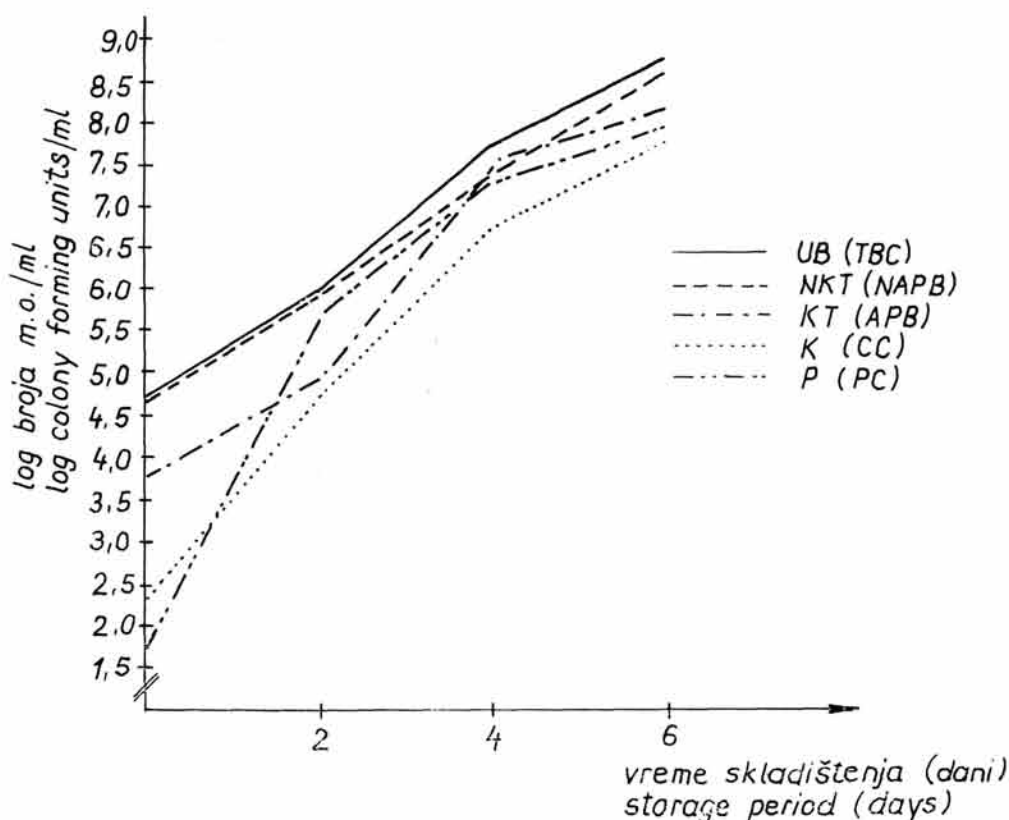
m.o.	Dani/Days			
	0	2	4	6
4 °C				
UB/TBC	4,7404	5,2201	5,1875	6,6123
NKT/NAPB	4,6902	5,1987	5,1553	6,5809
KT/APB	3,7781	3,9031	4,0414	5,4624
K/CC	2,3979	2,6532	2,7324	3,8513
P/PC	1,7781	2,8865	4,8420	6,2725
12 °C				
UB/TBC	4,7404	6,0584	7,8768	8,8387
NKT/NAPB	4,6902	6,0183	7,4983	8,7085
KT/APB	3,7781	5,0043	7,6415	8,2521
K/CC	2,3979	4,8096	6,9171	7,8756
P/PC	1,7781	5,8482	7,4035	8,0453
18—20 °C				
UB/TBC	4,7404	8,3010	8,8050	
NKT/NAPB	4,6902	8,0009	8,0667	
KT/APB	3,7781	7,9991	8,7174	
K/CC	2,3979	7,1447	8,0423	
P/PC	1,7781	7,0282	8,3274	
UB m.o.	= ukupan broj mikroorganizama			
TBC	= Total Bacterial Count			
NKT m.o.	= nekiselinotvorni mikroorganizmi			
NAPB	= Count of Non-Acid Producing Bacteria			
KT m.o.	= kiselinotvorni mikroorganizmi			
APB	= Count of Acid Producing Bacteria			
K m.o.	= koliformni mikroorganizmi			
CC	= Coliform Count			
P m.o.	= psihrotrofni mikroorganizmi			
PC	= psychrotrophic Count			

Tablica 2: Parametri rasta mikrobnih populacija u uzorcima pasteuriziranog mlijeka skladištenih 4 dana na različitim temperaturama

Table 2: Growth Parameters of Different Bacterial Populations in Pasteurized Milk Stored for 4 Days at Different Temperatures

T (°C)	UB/TBC		KT/APB		NKT/NAPB		K/CC		P/PC	
	N	G	N	G	N	G	N	G	N	G
4	0,4	2,5	0,2	5,0	0,4	2,5	0,3	3,3	2,5	0,4
12	2,6	0,4	3,2	0,3	2,3	0,4	3,8	0,3	4,7	0,2
18—20	3,4	0,3	4,1	0,2	2,8	0,4	4,7	0,2	5,4	0,2

sprječava su psihrotrofi koji, bez obzira na nisku temperaturu, prirastaju za 2,5 generacija dnevno, i to praktički od 1. do 6. dana skladištenja. Brzom povećanju broja psihrotrofa pomaže i nekonkurentnost drugih mikrobnih populacija, i to u prvom redu kiselinotvornih mikroorganizama koji na toj temperaturi prirastaju samo za 0,2 generacije dnevno do 4. dana skladištenja, a od



Slika 2: Dinamika rasta mikrobnih populacija u pasteuriziranom mlijeku skladištenom na 12 °C

Figure 2: Growth Rates of Different Bacterial Populations in Pasteurized Milk at 12 °C

Tablica 3: Parametri rasta mikrobnih populacija od 4. do 6. dana skladištenja pasteuriziranog mlijeka na različitim temperaturama

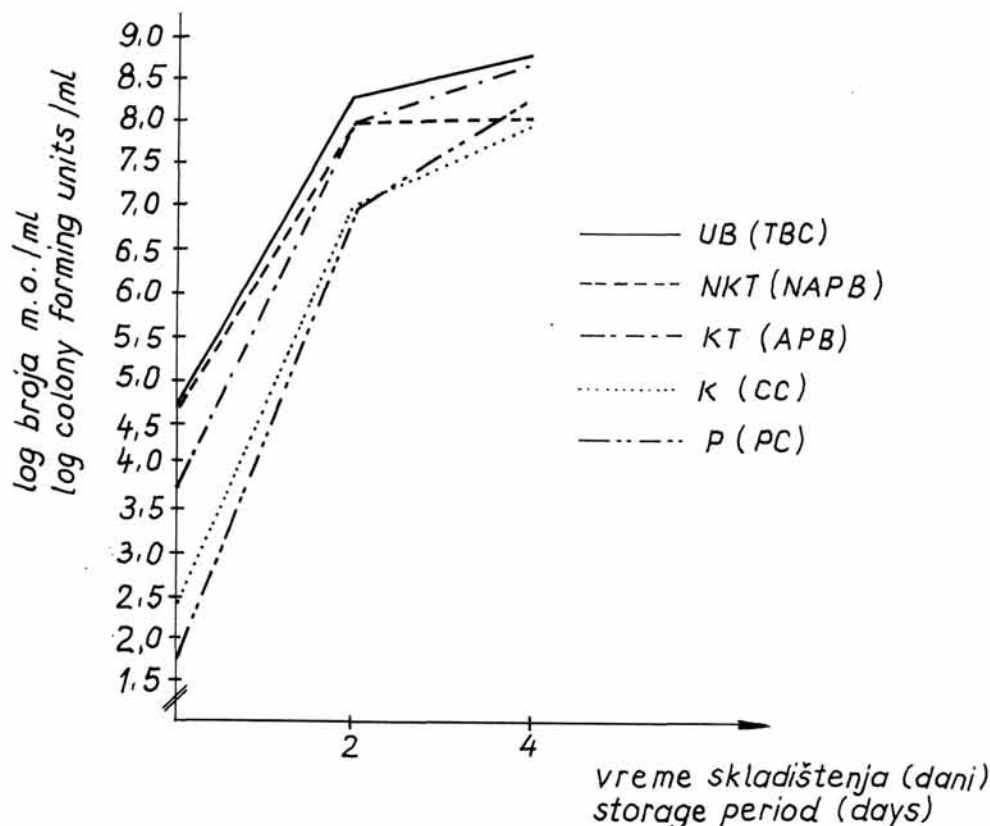
Table 2: Growth Parameters of Different Bacterial Populations in Pasteurized Milk Stored From the Day 4th to the Day 6th at Different Temperatures

T (°C)	UB/TBC		KT/APB		NKT/NAPB		K/CC		P/PC	
	N	G	N	G	N	G	N	G	N	G
4	2,4	0,4	2,4	0,4	2,4	0,4	1,8	0,5	2,4	0,4
12	1,6	0,6	1,0	1,0	2,0	0,5	1,6	0,6	1,1	0,9

4. do 6. dana za 2,4 generacije dnevno kao i sve ostale populacije osim koli-formnih mikroorganizama.

Zaključak

Populacijsko-kinetički parametri rasta mikroflora pasteuriziranog mlijeka pokazali su da samo skladištenje na 4 °C usporava rast broja mikroorganizama s izuzetkom psihrotrofa. Prilikom kontrole sirovine potrebno je toj populaciji



Slika 3: Dinamika rasta mikrobnih populacija u pasteuriziranom mlijeku skladištenom na 18–20 °C

Figure 3: Growth Rates of Different Bacterial Populations in Pasteurized Milk at 18–20 °C

posvetiti posebnu pažnju. Hlađenje mlijeka na 12 °C, što je često u prodavaonicama, potpuno je neefikasno, jer se parametri rasta mikroflora na toj temperaturi ne razlikuju umnogome od skladištenja na sobnim temperaturama od 18 do 20 °C.

Literatura

- DEMETER, K.: Bakteriologische Untersuchungsmethoden der Milchwirtschaft, Stuttgart, Eugen Ulmer, 1967.
- MARTH, E. H.: Standard Methods for the Examination of Dairy Products, New York, American Public Health Association, 1978.
- POKORN, J.: Populacijska kinetika mikroorganizmov kot parameter načrtovanja tehnoloških procesov v živilski industriji RSS, 1986.
- ROGELJ, I.: Mikrobiološka kakovost surovega mleka v Sloveniji živinorejska poslovna skupnost, Ljubljana, Znanost in praksa v govedoreji, 9. zvezek, 1985, s. 281–291, 10. zvezek, 1986, s. 195–209, 11. zvezek, 1987, s. 121–129.
- TOLLE, A., G. SUHREN: Pasteurisierte Konsummilch — Keimvermehrung und Grenzwerte fuer die Haltbarkeit. Institut fuer Hygiene der Bundesanstalt fuer Milchforschung, Kiel, DMZ 22 (1982) 103, s. 728–734.