

Ocjena higijenske kakvoće mlijeka* (Evaluation of Hygienic Quality of Milk)

Irena ROGELJ, dipl. inž., Karmen GODIČ, dipl. biol., Biotehniška fakulteta,
VTOZD za živinorejo, Institut za mlekarstvo, Ljubljana

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper

UDK: 637.055

Prispjelo: 10. 9. 1986.

Sažetak

Članak obrađuje mikrobiološku kontaminaciju sirovog mlijeka kod nas i probleme sa kojima smo se suočili uvođenjem higijenske kakvoće mlijeka za određivanje njegove vrijednosti. Istraživanje obuhvaća primjenu reduktazne probe kao testa za ocjenu higijenske kakvoće sirovog mlijeka u našim uvjetima.

Summary

The paper deals with the microbiological quality of raw milk in Slovenia. The problems associated with system of payment based on the hygienic quality of milk are discussed. The methylene blue reduction test as indicator of hygienic quality of milk under the system of milk collection in our country was evaluated.

Uvod

Poznato je pravilo u prehrambenoj industriji da iz slabe sirovine ne možemo napraviti kvalitetan proizvod. Kakvoću mlijeka kod nas zanemarujemo više godina, a posljedice su poznate. Skromnom sastavu mlijeka pridružuje se i slaba higijenska kakvoća, koja mlijeku dodatno smanjuje tehnološku vrijednost.

Rezultati istraživanja posljednjih godina pokazali su da je higijenska kakvoća sirovog mlijeka zabrinjavajuća (Arsov, 1985; Majić, et al., 1984; Miljković, et al., 1984; Rogelj, 1983). Mlijeko već u sabirnim stanicama (pojedini proizvođači) sadrži često iznad 3×10^6 mikroorganizama u 1 ml i zato nije čudno da u mlijeku sakupljenom u mljekari utvrdimo i nekoliko desetina milijuna mikroorganizama u 1 ml.

Poznato je da je visoki ukupni broj mikroorganizama posljedica jake kontaminacije za vrijeme mužnje i slabog čišćenja mljekarske opreme. Granica između higijenski zadovoljive kakvoće u većini mljekarski razvijenih zemalja je 200.000 mikroorganizama u 1 ml.

U tablici 1 prikazani su standardi za ukupan broj mikroorganizama u nekim evropskim zemljama.

* Referat održan na XXIV Seminaru za mljekarsku industriju, Opatija, 1986.

Tablica 1. Standardi za ukupan broj mikroorganizama (U.B.m.o.) u ml mlijeka (1983) (u 1000/ml)

Table 1. Total Bacterial Count (TBC) Standard in Europe (1983) (TBC in thousands per ml)

Cijena mlijeka Payment of milk	Velika Britanija UK	Danska Denmark	Švedska Sweden	Nizozemska Netherlands	Zapadna Njemačka West Germany
Nagrađivanje Bonus	< 20	30	100	—	—
Normalna Normal	21—100	30—100	100— 500	100	300
Kažnjavanje 1 Penalty 1	101—250	100—300	500—1000	100—250	300—1000
Kažnjavanje 2 Penalty 2	250	300—800	1000	250	1000—3000
Kažnjavanje 3 Penalty 3	—	800	—	—	> 3000

(Izvor: LONGSTAFF, 1985)

Ocjenjivali smo mlijeko samo po količini mlječne masti što je jedan od uzroka vrlo slabe higijenske kakvoće mlijeka. Mljekarska industrije se zbog toga iz dana u dan susreće sa velikim problemima i nije čudno da je bila jedna od inicijatora za plaćanje mlijeka i po higijenskoj kakvoći. Pri tom smo se suočili sa novim problemima: uzimanje uzoraka, izbor metode, vršenje analiza itd.

Zbog usitnjenosti terena, velikog broja proizvođača, slabe opremljenosti laboratorija (bez aparata) i nedostatka financijskih sredstava, u sadašnjoj situaciji praktički je nemoguće prijeći na utvrđivanje broja mikroorganizama. Zbog toga je prijelazno razdoblje za ocjenu higijenske kakvoće mlijeka izabrana reduktazna proba koja je bila prethodnica brojanja mikroorganizama u mnogim zemljama. Varijabilnost odnosa između ukupnog broja mikroorganizama (U.B.) u mlijeku, utjecajem različitih faktora i trajanja redukcije metilenskog plavila istraživali su brojni autori (Beyer, 1968; Foster, et al., 1957; Pedraza, 1978; Robinson, 1981). Očito je da rezultati jako ovise o specifičnim uvjetima u proizvodnji mlijeka. Stoga je cilj naših istraživanja bio utvrditi da li je u našim uvjetima proizvodnje mlijeka reduktazna proba pogodna metoda koja bi u vremenu pripreme za metodu brojanja mikroorganizama dala pozitivne rezultate u podizanju higijenske kakvoće mlijeka.

Materijal i metodika rada

U ljetnom periodu (srpanj) uzeli smo 100 uzoraka hlađenog i 100 uzoraka nehlađenog mlijeka, a u zimskom periodu (studenj) 72 uzorka hlađenog i 108 nehlađenog mlijeka, znači ukupno 380 uzoraka. Uzorci nehlađenog mlijeka bili su uzorci jutarnje mužnje, uzeti od privatnih proizvođača kod jutarnjeg prikupljanja mlijeka u sabirnim stanicama. Uzorci hlađenog mlijeka bili su uzorci

večernje mužnje uzeti od privatnih proizvođača kod jutarnjeg prikupljanja mlijeka. Ovim načinom uzimanja uzoraka najviše smo se približili stvarnom stanju sabiranja uzoraka na terenu.

Uzorcima smo po standardnim metodama (Marth, 1978) odredili:

- ukupan broj mikroorganizama (U.B.m.o.): TGYMA-tryptone glucose yeast agar + 1% obranog mlijeka u prahu, inkubacija 48 ± 3 sata kod $32 \pm 1^\circ\text{C}$,
- vrijeme redukcije metilenskog plavila (tRMP) sa reduktaznom probom.

Kod statističke analize broj mikroorganizama u uzorcima mlijeka pretvoren je u \log_{10} vrijednosti, izračunate su srednje vrijednosti i korelacijski koeficijenti.

Rezultati i diskusija

U tablici 2 prikazane su prosječne (\bar{x}) i granične (X_{\min} , X_{\max}) vrijednosti za U.B.m.o. i tRMP za svih 380 uzoraka i posebno za uzorke hladnog (172) i nehlađenog mlijeka (208).

Tablica 2. Prosječne (\bar{x}) i granične (x_{\min} , x_{\max}) vrijednosti za U.B.m.o./ml i tRMP
Table 2. Mean (\bar{x}) and Extremes Values (x_{\min} , x_{\max}) for TBC/ml and tMBR

Uzorak Sample	n	U.B.m.o./ml TBC/ml			tRMP (h) tMBR (h)		
		\bar{x}	x_{\min}	x_{\max}	\bar{x}	x_{\min}	x_{\max}
A	380	6,0952	4,0000	8,3500	4,1053	1	> 5
B	172	6,1634	4,3010	7,6800	3,8953	1	> 5
C	208	6,0388	4,0000	8,3500	4,2788	1	> 5

A = uzorci hladnog i nehlađenog mlijeka

B = uzorci hladnog mlijeka

C = uzorci nehlađenog mlijeka

A = samples of refrigerated raw milk and fresh raw milk

B = samples of refrigerated raw milk

C = samples of fresh raw milk

TBC = total bacterial count

tMBR = time of methylene blue reduction

Prosječne i granične vrijednosti za U.B.m.o. u uzorcima potvrđuju nam u uvodu postavljenu tvrdnju da je higijenska kakvoća mlijeka slaba. U prosjeku uzorci sirovog mlijeka sadrže $1,2 \times 10^6$ m.o./ml. Među njima je i uzorak koji je imao $2,2 \times 10^8$ m.o./ml. Higijenska kakvoća hladnog mlijeka ($\bar{x} = 1,5 \times 10^6$ m.o./ml) bila je slabija od nehlađenog ($\bar{x} = 1,1 \times 10^6$ m.o./ml), što je s jedne strane logična posljedica vremenske razlike od mužnje do uzimanja uzorka (nehlađeno mlijeko oko 3 sata, hladeno mlijeko oko 12 sati), a s druge strane pokazuje visoku primarnu kontaminaciju kod proizvodnje mlijeka. Uz to možemo zaključiti da je vrijeme hlađenja mlijeka prekratko da bi bitno utjecalo na rezultat reduktazne probe. U prosjeku je vrijeme redukcije metilenskog plavila kod hladnog mlijeka (3,89 h) kraće nego kod nehlađenog (4,28 m), što govori, u odnosu na mikrobiološku kontaminaciju, na pravilne rezultate.

Za bolji prikaz rezultata istraživanja uvrstili smo u razrede po obadva korelirana znaka istovremeno. Položaj frekvencije u korelacijskim tablicama između U.B.m.o. i tRMP pokazuje nam negativnu korelaciju (tablice 3, 4 i 5).

Tablica 3. Korelacijska tablica između U.B. i tRMP za 380 uzoraka sirovog mlijeka (hlađeno i nehlađeno)

Table 3. Correlation Table for TBC and tMBR for 380 Samples of Raw Milk (Refrigerated and Fresh)

U.B. (10^6 m.o./ml) TBC (10^6 /ml)	Broj uzoraka sa tRMP (h) Number of samples with tMBR (h)						Σ
	1	2	3	4	5	> 5	
	< 0,99	—	1	6	20	36	
1,00—1,99	—	—	14	17	14	10	55 (14,5%)
2,00—2,99	—	4	5	7	5	4	25 (6,6%)
3,00—4,99	2	6	8	7	3	—	26 (6,8%)
5,00—9,99	6	26	14	2	1	—	49 (12,9%)
> 10,00	32	15	2	1	—	—	50 (13,2%)
Σ	40 10,5%	52 13,7%	49 12,9%	54 14,2%	59 15,5%	126 33,2%	380

Tablica 4. Korelacijska tablica između U.B. i tRMP za 208 uzoraka nehlađenog mlijeka

Table 4. Correlation Table for TBC and tMBR for 208 Samples of Fresh Raw Milk

U.B. (10^6 m.o./ml) TBC (10^6 /ml)	Broj uzoraka sa tRMP (h) Number of samples with tMBR (h)						Σ
	1	2	3	4	5	> 5	
	< 0,99	—	—	2	12	21	
1,00—1,99	—	—	7	10	9	6	32 (15,4%)
2,00—2,99	—	4	4	6	4	3	21 (10,1%)
3,00—4,99	—	2	4	2	2	—	10 (4,8%)
5,00—9,99	2	10	5	—	—	—	17 (8,2%)
> 10,00	22	3	—	—	—	—	25 (12,0%)
Σ	24 11,5%	19 9,1%	22 10,6%	30 14,4%	36 17,3%	77 37,0%	208

Iz tablica se vide slijedeći zaključci:

1. Higijenska kakvoća sirovog mlijeka pojedinih proizvođača je vrlo različita, što se vidi iz tablice 3: 46,1% uzoraka imalo je $< 10^6$ m.o./ml, 67,2% uzoraka imalo je $< 3 \times 10^6$ m.o./ml i 32,8% uzoraka imalo je $> 3 \times 10^6$ m.o./ml. 13,2% uzoraka (svih) imalo je $> 10^7$ m.o./ml.
2. Kod nehlađenog mlijeka (tablica 4) u jednom satu izbojilo se 11,5% uzoraka, svi su bili slabe higijenske kakvoće ($> 5 \times 10^6$ m.o./ml). Poslije 4 sata izbojilo se 45,6% uzoraka i među njima ne nalazimo takvih koji bi imali više od 5×10^6 m.o./ml. Više od 4 sata izdržalo je 24,3% uzoraka, svi osim 2 imali su $< 3 \times 10^6$ m.o./ml mlijeka.

Tablica 5. Korelacijska tablica između U.B. i tRMP (h) za 172 uzorka hladnog mlijeka
Table 5. Correlation Table for TBC and tMBR for 172 Samples of Refrigerated Raw Milk

U.B. (10^6 m.o./ml) TBC (10^6 /ml)	Broj uzoraka sa tRMP (h) Number of samples with tMBR (h)						Σ
	1	2	3	4	5	> 5	
< 0,99	—	1	4	8	15	44	72 (41,9%)
1,00—1,99	—	—	7	7	4	4	23 (13,4%)
2,00—2,99	—	—	1	1	1	1	4 (2,3%)
3,00—4,99	2	4	4	5	1	—	16 (9,3%)
5,00—9,99	4	16	9	2	1	—	32 (18,6%)
> 10,00	10	12	2	1	—	—	25 (14,5%)
Σ	16 9,3%	33 19,2%	27 15,7%	24 14,0%	23 13,4%	49 28,5%	172

3. Kod hladnog mlijeka (tablica 5) razlika rezultata je veća. Poslije 1 sata izbojilo se 9,3% uzoraka, poslije 2 sata već 28,5% uzoraka i svi su bili slabe higijenske kakvoće ($>3 \times 10^6$ m.g./ml). Kod 3 i 4 sata razlika je najveća. Te dvije grupe sadržavale su uzorke i dobre i slabe higijenske kakvoće. Tek poslije 4 sata dobiva se bolji odabir, jer higijensko kvalitetniji uzorci izdrže inkubacijsko vrijeme od 4 sata.

Korelacijske tablice pokazuju da je 4 sata minimalno vrijeme redukcije koje izlučuje većinu (97%) po našem Pravilniku ($<3 \times 10^6$ m.g./ml) higijensko nezadovoljavajućih uzoraka. Poslije 4 sata inkubacije opada i 29% uzoraka imaju 3×10^6 m.o./ml. Međutim, ako želimo poboljšati higijensku kakvoću sirovog mlijeka potrebno je podignuti inkubacijsko vrijeme od sadašnja 2 sata na 4 sata.

Za ocjenu veze između U.B.m.o. i tRMP izračunali smo koeficijente korelacije (tablica 6).

Tablica 6. Koeficijenti korelacije (r) za sve uzorke mlijeka (A), uzorke nehladenog (B) i uzorke hladnog (C) mlijeka

Table 6. Correlation Coefficients for All Samples of Raw Milk (A), Samples of Fresh Raw Milk (B) and Samples of Refrigerated Milk (C)

Uzorci Samples	n	r
A	380	-0,8129***
B	208	-0,8267***
C	172	-0,7928***

*** $p \geq 99,999$

Vrijednosti koeficijenata korelacije pokazuju da je za sve uzorke mlijeka (za uzorke nehladenog i uzorke hladnog mlijeka) povezanost između \log_{10} U.B.m.o. i tRMP statistički značajna i usporediva sa rezultatima navedenim u literaturi (Pedraza, et al., 1978; Teixeira, et al., 1981).

Istraživanje je pokazalo da kod hlađenog mlijeka nema slabije korelacije između U.B. i tRMP kao kod nehlađenog mlijeka, što je u suprotnosti sa nekim literaturnim podacima (Beyer, 1968; Robinson, 1981; Teixeira, et al., 1981).

Kako smo naglasili, takvi su rezultati vjerojatno posljedica kratkog vremena hlađenja mlijeka (najviše 12 sati), zbog načina sabiranja mlijeka kod nas (svakodnevno). Uz to je mlijeko manjih proizvođača u većini slučajeva hlađeno tekućom vodom na razmjerno višim temperaturama nego što ih preporučuje literatura (4—6 °C).

Zaključci

Izjednačene visoke vrijednosti korelacijskog koeficijenta za sve grupe mlijeka ukazuju na širu upotrebljivost reduktaznog testa kod nas. Primjerno vrijeme inkubacije mlijeka u reduktaznom testu, kod kojeg se utvrđuje većina higijensko neprimjernih uzoraka sa $> 3 \times 10^6$ m.o./ml mlijeka, je 4 sata.

Hlađenje mlijeka u našim uvjetima nema bitnog utjecaja na reduktazni test, jer je vrijeme hlađenja kratko, a temperature hlađenja relativno su visoke.

Smatramo da je u trenutnoj situaciji mjesečni reduktazni test individualnih uzoraka pogodan test koji će pridonijeti boljoj higijenskoj kakvoći sirovog mlijeka kod nas. U prijelaznom periodu moramo pripremiti sve potrebno (oprema laboratorija, organizacija sabiranja uzoraka itd.) za prelazak na brojenje mikroorganizama. Ta je metoda točnija za ocjenu higijenske kakvoće sirovog mlijeka.

Literatura

- ARSOV, A.: Znanost in praksa v govedoreji, 9. zvezek, Ljubljana, Živinorejska poslovna skupnost, 293—303, 1985.
- BEYER, F. (1968): *Deutsche Molkerei Zeitung*, 104—109.
- FOSTER, NELSON, SPECK, DOETSCH, OLSON: *Dairy Microbiology*, Prentice-Hall, New Jersey, 69—70, 128—133, 1957.
- GOLUBEVA, E. D.: *Sbornik nauchnykh trudov*, 75, 26—30, 1981.
- LONGSTAFF, G. W. (1985): *Journal of the Society of Dairy Technology*, 38, 1, 10—13.
- MAJIĆ, B., POMPER, V., KOLUMBIĆ, T., LESKOVEC, D., MAŠEK, Z. (1984): *Mljekarstvo*, 34, 6, 177—181.
- MARTH, E. M.: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. New York, American Public Health Association, 77—96, 197—191, 1978.
- MILJKOVIĆ, V., MOSKOVLJEVIĆ, M., PETROVIĆ, M., (1984): *Mljekarstvo*, 34, 1, 3—7.
- PEDRAZA, G. C., ROMERO, T. J. J., HARGREAVES, B. A., (1978): *Agricultura Tecnica*, 38, 4, 156—160.
- ROBINSON, R. K., (1981): *Dairy Microbiology*, Applied Science Publishers, London and New Jersey, (Volume 1.) 81—82, 235.
- ROGELJ, I.: 7. jugoslovanski mednarodni simpozij sodobna proizvodnja in predelava mleka. Zbornik Biotehniške fakultete, Univerza Edvarda Kardelja v Ljubljani, Kmetijstvo, Supl. 8, 121—134, 1983.
- TEIXEIRA, E. N., RUBINICH, J., OLIVEIRA, S. A. B., (1981): *Escola de Medicina Veterinaria*, 6, 1, 31—34.