

Da bi se problem zaostataka antibiotika u mlijeku s obzirom na zaštitu zdravlja potrošača i očuvanja mljekara od daljnjih šteta stavio pod odgovarajući nadzor — potrebno je poduzeti ove mjere:

1. osigurati uspješan nadzor provođenja postojećeg zakonskog propisa o zabrani stavljanja mlijeka u promet prije isteka roka od 5 dana po davanju posljednje doze antibiotika liječenoj životinji;

2. razmotriti prihvata zakonske obveze označavanja antibiotika za i/mm primjenu dopuštenim bojilima za namirnice;

3. zakonskim propisima o prometu lijekova onemogućiti kupnju antibiotika mimo veterinarskog recepta i izravno u ruke proizvođača mlijeka. Liječenje upala vimena antibioticima smije poduzeti samo veterinar i ono se može provoditi samo pod njegovim nadzorom;

4. uvesti jednu od najprikladnijih mikrobioloških metoda za otkrivanje zaostataka antibiotika kao preporučenu metodu za rutinska ispitivanja u većim mljekarama;

5. proizvođače mlijeka koji stavljaju u promet mlijeko kontaminirano antibioticima onemogućiti ekonomskim mjerama od strane mljekare.

Zajedničkim naporima veterinarske i zdravstvene službe uz aktivno sudjelovanje predstavnika naših mljekara moći ćemo i mi, poput ostalih zemalja u svijetu, barem smanjiti, ako ne potpuno isključiti količinu mlijeka kontaminiranog antibioticima u prometu sustavnom primjenom i provođenjem predloženih mjera.

#### Literatura

- Bach, I. (1970): Pojavljivanje i otkrivanje inhibitornih tvari u mlijeku. *Mljekarstvo* 20 (5) 106—115.
- Chambers, G. & Murray, J. G. (1967): Schemes for the control of antibiotics in milk — Northern Ireland. *J. Soc. Dairy Technol.* 20 (3) 138—141.
- Feagan, I. T. (1966): The detection of antibiotic residues in milk. *Dairy Sci. Abstr.* 28 (2) 53—60.
- Pacifici, L., Amato, F. & Dracos, A. (1970): Melodi di ricerca degli antibiotici nel latte. *Nuovi annali d'igiene e microbiologia* 21 (4) 362—380.

## PRILOG POZNAVANJU STANJA MIKROBIOLOŠKOG KVALITETA TOPLJENIH SIREVA\*

Stojanka MITIĆ, Ivanka OTENHAJMER i Milka BOROTA  
Institut za mlekarstvo Jugoslavije, Beograd

Poslednjih godina došlo je do naglog uspona proizvodnje i prometa topljenih sireva dejstvom tehnološko-tehničkih, ekonomskih i komercijalnih faktora.

Primenom tehničkih dostignuća i savremene tehnologije proizvode se kvalitetni topljeni sirevi u bakteriološkom pogledu, koji su po svojoj hranljivosti, sastavu, ukusu i mirisu bliski originalnim sirevima od kojih su dobijeni.

\* Referat sa XIII Naučnog sastanka mikrobiologa, Pula, 1971.

Primenjuju se razni termički tretmani pasterizacije sira koji, nažalost, ne uništavaju sve mikroorganizme, naročito izvesne forme termorezistentnih bakterija rodu *Bacillus* i *Clostridium*. Ova rezistencija može biti vezana za jednu vrstu ili jedan soj, ili za neke ćelije jednoga soja.

Sposobnost preživljavanja bakterija zavisi od temperature tretmana, vrste bakterija i faze u kojoj se nalaze, pH sredine, sadržaja masti i belančevina itd.

Bakterije, izložene dejstvu temperatura znatno viših od njihove optimalne, gube naglo životne aktivnosti. Spore su mnogo manje osetljive na dejstvo visokih temperatura, a mnogobrojna ispitivanja pokazuju da se među sporama često nalaze pojedine ultrarezistentne prema zagrevanju.

Preživele spore bakterija mogu vrlo brzo da kliju i da se zbog toga lako otkrivaju u zavisnosti od temperature skladištenja. Međutim, mnogo su opasnije tzv. »uspavane spore« (*Bacillus coagulans*), koje posle nekoliko nedelja ili meseci mogu da izazovu kvarenje sireva.

Predstavnici rodu *Bacillus*, mada ih nalazimo češće nego *Clostridium*, po pravilu ne izazivaju kvarenje, ukoliko su u malom broju prisutni, i ako se proizvodnja i skladištenje obavlja na zadovoljavajući način. Međutim, izvesni predstavnici iz grupe *Bacillus subtilis* — *Bacillus mycoides*, mogu da izazovu nadimanje sira kao i vrste *Bacillus polymyxa* i *Bacillus macerans*.

Utvrđeno je da se anaerobni sporogeni mikroorganizmi razmnožavaju samo onda, ako aerobni završe prvi stadijum razlaganja belančevina uz minimalne količine vazduha u limenki. Stepem destrukcije zavisi od supstrata, sadržaja vode, pH sredine, konzervansa itd. **Kürsteiner** (1958.) navodi da 3—4 spore klostridija u 1 g svežeg sira mogu da izazovu kasno nadimanje kod ementalca.

U mnogim vrstama topljenog sira, naročito onim, koje su termički obrađene pri nižim temperaturama, mogu se naći termorezistentni nesporogeni mikroorganizmi, naročito mikrokoke.

Prisustvo termofila nema većeg značaja, jer posle dejstva viših temperatura, preživeli gube delom ili sasvim svoja biološka svojstva: sposobnost proteolize i stvaranja toksina. **Oluški** (1963.) je dokazala da postoji saprofitna vrsta *Micrococcus candidus* i *Micrococcus aurantiacus* s izuzetnom otpornošću, tako da ih temperatura od 100°C ne uništava.

U nekim prehrambenim proizvodima postoje elementi koji štite vegetativne oblike i spore bakterija od dejstva toplote. U savremenoj literaturi se naročito ističe dejstvo masnih materija.

Preživeli proteolitični mikroorganizmi (aerobni i anaerobni) počinju da deluju na povoljnoj temperaturi, izazivajući kvarenje produktima metabolizma uz povoljno stvaranje gasa.

Mikroflora topljenih sireva u limenkama zavisi od temperaturnog režima sterilizacije (od 115—120°C), jer je mogućnost preživljavanja bakterija različita. Prema **Buttiauxu** i **Mosselu** (1957.) može se tolerisati preživljavanje najviše do 10 nepatogenih i netoksinogenih spora vrsta *Bacillus* i *Clostridium* u 1 g sira.

U novije vreme postoje postupci nazvani »šok-sterilizacija«, kojima se unište sve forme mikroorganizama (vegetativne i sporogene), bez vidljivih fizičko-hemijskih i organoleptičkih promena. Pri ovoj sterilizaciji sir se topi na 140—150°C u trajanju od 5—10 sekundi, a zatim se naglo hladi do 80°C, konfekcionira i pakuje.

S obzirom na sve napred izneto ipak treba imati na umu da na kvalitet toplotom tretiranog proizvoda veliki uticaj ima stepen infekcije (broj mikroorganizama) sirovine. Samo od dobre sirovine, pravilno odabrane, mogu se dobiti kvalitetni sirevi. Otuda proizlazi, da proces toplotnog tretmana (pasterizacije i sterilizacije) ne treba posmatrati odvojeno od sirovine i higijenskog režima proizvodnje.

Ako se konfekcioniranje topljenih sireva vrši pod nepovoljnim higijenskim uslovima može doći do rekontaminacije koliformnih bakterija, kvasnicama i plesnima (**Buttiaux**).

Ovaj kratki pregled ukazuje na mogućnosti ispitivanja razne problematike s pomoću bakterioloških parametara u otkrivanju i otklanjanju tehnoloških grešaka u toku proizvodnje topljenih sireva.

U cilju procenjivanja bakteriološkog kvaliteta topljenih sireva, kako sa teorijskog, tako i sa praktičnog aspekta, preduzeta su sledeća ispitivanja:

1. procena sterilnosti topljenih sireva u limenkama proizvedenih za potrebe Armije i prodajne mreže;
2. procena trajnosti segmenata topljenih sireva u alu-folijama u zavisnosti od procenta vlage i temperature čuvanja.

## MATERIJAL I METODIKA RADA

1. Materijal za ispitivanje sterilnosti topljenih sireva u limenkama činilo je 1500 uzoraka, koji su poticali iz raznih proizvodnih pogona mlekarar, a obrađeni su na njihov zahtev.

Topljeni sirevi u limenoj ambalaži bili su podvrgnuti režimu sterilizacije na temperaturi od 117°—119°C.

Sve limenke topljenog sira su ispitane pre bakteriološke obrade na hermetičnost metodom potapanja u toplu vodu oko 90°C (vakuumskim sistemom u eksikatoru).

U cilju kvantitativnog dokazivanja preživelih aerobnih i anaerobnih bakterija zasejavanje uzoraka je vršeno pre termostatiranja, a paralelno su vršena zasejavanja uzoraka limenki istih proizvodnih partija posle termostatiranja na 37°C za 10 dana.

Da bi se izbegla kontaminacija, otvaranje limenki je vršeno u sterilnoj komori primenjujući aseptične uslove.

Kultivisanje je izvođeno na raznim selektivnim podlogama u cilju otkrivanja vrsta bakterija sledećih rodova:

- *Staphylococcus*
- *Streptococcus*
- *Escherichia coli*
- *Proteus*
- *Clostridium*
- *Bacillus*
- *Micrococcus*
- *Saccharomyces* i
- plesni.

Procena sterilnosti je vršena prema **Buttiauxu** i **Mosselu** (1957.).

2. Materijal koji je obrađivan u drugom delu ispitivanja činilo je 90 uzoraka topljenog sira u segmentima. Topljenje sireva je izvođeno na 93°C u trajanju od 12 minuta. Uzorkovanje je izvršeno 12. X, 29. X i 11. XI 1970. Uzorci su grupisani u 3 ogleđa prema procentu vlage (54, 59 i 64) koji je varirao u toku ogleđa. Za svaki ogled je uzeto po 30 uzoraka topljenog sira, od kojih su 6 odmah analizirani. U cilju dokazivanja trajnosti sireva u zavisnosti od procenta vlage sirevi su inkubirani na određenim temperaturama za različite vremenske intervale i posle inkubacije analizirani. Vreme inkubacije je iznosilo:

- za temperaturu 20°C 2,5 meseca radi razvića psihofilnih i mezofilnih bakterija;
- za temperaturu 30°C 1,5 meseca radi razvića aerobnih mezofilnih bakterija;
- za temperaturu 37°C 21 dan radi razvića mezofilnih i termorezistentnih bakterija i
- za temperaturu 55°C 7 dana radi razvića termofilnih bakterija.

Prosečan uzorak za analiziranje je formiran od segmenata iz 2 kutije. Zasejavanje je vršeno prema metodama koje propisuje Pravilnik o bakteriološkim uslovima kojima moraju odgovarati životne namirnice u prometu. (1966).

U cilju otkrivanja bakterija čije dokazivanje nije predviđeno Pravilnikom, a koje mogu da izazovu tehnološke greške u pogledu nadimanja sireva vršene su i sledeće dopunske analize za dokazivanje:

- termorezistentnih bakterija
- butiričnih bakterija
- kvasnica i
- plesni

prema metodama koje propisuje Pasterov Institut u Lilu (1969.).

Identifikacija izolovanih mikroorganizama vršena je prema **Bergeyu** (1957.).

## REZULTATI I DISKUSIJA

### 1. Rezultati ispitivanja topljenih sireva u limenkama

Broj pregledanih (od 1964—1971. godine) uzoraka topljenih sireva u limenkama izražen u procentima, u zavisnosti od broja živih bakterija, prikazan je u sledećoj tabeli:

Ukupno pregledanih uzoraka	Broj bakterija u 1 g						
	∅	10	10—30	30—100	100—300	300—1000	preko 1000
	83,93%	1,46%	1,66%	5,4%	3,46%	1,86%	2,19

Kao što se iz tabele vidi 83,93% topljenog sira u limenki bilo je potpuno sterilno i posle inkubacionog perioda na 37°C za 10 dana.

Rukovodeći se kriterijumima **Buttiauxa** i **Mossela** i uzorci sireva (1,46%) u kojima se broj spora bacilusa ili klostridija kretao oko 10 u 1 g proglašeni su komercijalno sterilnim i pogodnim za duže čuvanje.

Pošto kod uzoraka topljenih sireva u limenkama kod kojih se broj bakterija kretao od 10—30 u 1 g nije konstatovano prisustvo patogenih, uslovno

patogenih bakterija i toksikogenih vrsta, proglašeni su pogodnim za duže čuvanje. Izolovane bakterije pripadale su vrstama roda *Bacillus*. Zapaža se tolerancija delimičnog preživljavanja sporogenih bakterija. Ona se s naše strane motiviše postojanošću jedne zaostale flore posle sterilizacije, ali nesposobne za aktivno razmnožavanje u proizvodima tokom inkubacionog perioda.

Ostali uzorci, gde su se brojevi bakterija kretali od 30—300 u 1 g proglašeni su pogodnim za ljudsku ishranu, ali ne i za duže rokove čuvanja.

Kod 1,86% topljenog sira konstatovan je broj bakterija preko 1000 u 1 g. Najveći broj identifikovanih bakterija pripadao je vrstama: *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus polymyxa*. Takođe su izolovani sojevi koji su pripadali vrstama roda *Micrococcus*. Saprofitne plesni su retko izolovane. Kod jednog uzorka je izolovana *Escherichia coli*, a kod 9 uzoraka izolovan je *Staphylococcus pyogenes* var. *aureus*.

Veliki broj bakterija dovodi se u vezu sa slabom hermetičnošću limenki nastalom usled kvara na mašini — zatvaračici u jednom od pogona mlekare.

Ovde je važno istaknuti apsolutno odsustvo anaerobnih sporogenih bakterija, saharolitičkih i proteolitičkih vrsta roda *Clostridium*.

## 2. Rezultati ispitivanja topljenih sireva u segmentima

Svi sirevi, odmah analizirani posle proizvodnje, bili su u bakteriološkom pogledu ispravni, jer ni u jednom uzorku nije konstatovano prisustvo:

- *Staphylococcus pyogenes* var. *aureus*
- sulfitoredujućih klostridija
- *Proteus* vrste
- *Streptococcus faecalis*
- *Escherichia coli*.

Ukupan broj bakterija se kretao od 20—900, a broj termorezistentnih od 20—300 u 1 g sira. Kontaminacije ovih sireva mikroorganizmima iz roda *Saccharomyces* su bile minimalne. Prisustvo butiričnih bakterija nije bilo dokazano.

Pošto kod svih inkubiranih uzoraka topljenih sireva nije konstatovano prisustvo patogenih i uslovno patogenih bakterija, to iznosimo samo tabelarne prikaze prosečnih vrednosti ukupnog broja aerobnih bakterija. Da bi se ispitala mogućnost umnožavanja početnog broja bakterija, sirevi su inkubirani na različitim temperaturama.

### I uzorkovanje

Tabela 1

Vlaga u %	bez	I n k u b i r a n j e			
		20°C	30°C	37°C	55°C
57,10	50	14.000	14.800	16.000	64.000
60,66	50	5.000	22.000	320.000	64.000
63,73	20	92.000	294.000	810.000	70.000

### II uzorkovanje

Tabela 2

Vlaga u %	bez	I n k u b i r a n j e			
		20°C	30°C	37°C	55°C
55,74	50	2.400	720	315.000	30
60,45	90	1.500	20.600	460.000	30
61,78	100	2.500	350.000	4.300.000	2.200

### III uzorkovanje

Tabela 3

Vlaga u %	bez	I n k u b i r a n j e			
		20°C	30°C	37°C	55°C
54,50	400	5.000	1.600	5.000	400
59,55	900	3.000	7.000	170.000	20.000
62,88	400	3.000	396.000	214.000	17.000

Inkubacija na 30°C je pokazala vrlo intenzivno razmnožavanje bakterija samo kod uzoraka topljenih sireva s najvećim procentom vlage. Međutim, ni kod uzoraka termostatiranih na 30 i 37°C nisu konstatovane pojave nadimanja, i pored prisutnosti velikog broja bakterija saprofita iz rodova *M i c r o c o c c u s* i *B a c i l l u s*.

S obzirom da se u topljenim sirevima, koji se podvrgavaju termičkoj obradi, može očekivati i nalaz mikroorganizama s nižom optimalnom temperaturom razmnožavanja, poželjno je vršiti inkubaciju ovih proizvoda pri 20°C. Ova temperatura nije isprovocirala veći porast bakterija ni kod sireva s većim sadržajem vlage.

Mikrobiološko kvarenje u pogledu nadimanja sireva konstatovali smo samo kod uzoraka inkubiranih na 55°C, kao rezultat biohemijskog delovanja termofilnih gazogenih bakterija iz roda *B a c i l l u s* (*Bacillus polymyxa*).

### ZAKLJUČAK

Ispitivanja procene sterilnosti topljenih sireva u limenkama pokazala su da je primenom temperaturnog režima sterilizacije dobijeno 83,93% sterilnih uzoraka, a 3,1% komercijalno sterilnih.

Samo 2,19% odnosi se na topljene sireve u limenkama, koji su usled slabe hermetičnosti ili drugih tehnoloških propusta, sadržavali preko 1000 bakterija u 1 gramu.

Na osnovu sprovedenih ispitivanja topljenih sireva u segmentima, možemo da zaključimo:

— da su svi uzorci sireva, koji su odmah analizirani bez inkubacije, pokazali vanrednu bakteriološku sliku u pogledu ukupnog broja bakterija;

— da je održivost ovih sireva u bakteriološkom pogledu dokazana posle inkubacije na 20°C za 2,5 meseca kod svih oglada s različitim procentom vlage;

— da je održivost sireva, inkubiranih na 30°C za 1,5 meseca, dokazana i kod uzoraka koji su sadržavali od 54,50 do 60,66% vlage. Međutim, kod sireva sa sadržajem vlage od 61,79 do 63,73% dokazana je bakteriološka neispravnost zbog nalaza velikog broja bakterija.

Odsustvo klostridija u svim topljenim sirevima dobijenim jednim ili drugim postupkom govori da su naše mlekare bile oprezne pri izboru sirovine za proizvodnju topljenih sireva.

### Literatura

1. Bergey D. H. (1957): Manual of Determinative bacteriology The Williams — Wilkins Company, Baltimore.
2. Buttiaux, R. (1969): Curs CERBA — Lille
3. Buttiaux, R. (1957): Annales de L'institut Pasteur de Lille IX 176.
4. Buttiaux, R. et Mossel D. A. A. (1957): — Annales de L'institut Pasteur de Lille IX 138.
5. Kürsteiner J. (1958): — Advances in cheese technology, FAO Agr. Studies 38
6. Oluški A. (1963): Tehnologija mesa 1:135
7. Pravilnik o bakteriološkim uslovima kojima moraju odgovarati životne namirnice u prometu (»Službeni list« br. 4 od 26. I 1966.)