

Njega sira u Olibu je bolja nego u Silbi. U solionici stoji sir 15 do 20 dana, gdje se dva puta na dan okreće i za to se vrijeme dva puta pere u moru. Sir se osuši i odnese u podrum na najviše police, odakle se postepeno premješta na niže. U podrumu sir se svaki dan okreće i briše suhom krpom, da se ne uhvati pljesan. Ako se pojavi jača pljesan, sir se pere četkama u morskoj vodi.

Ostane li sir u podrumu više od 4 mjeseca, mažu ga mješavinom octa i ulja. Ipak, to se rijetko događa, jer se dotad već sva količina sira redovno rasprodra.

Opisanim tehnološkim procesom dobije se u zadugama u Silbi i Olibu kvalitetan sir. Zato kod unapređenja ovčjeg sirarstva u području našeg primorja treba se okoristiti iskustvom ovih zadruga.

U jednom od navedenih članaka dat će i prijedlog kako da se poboljša tehnološki proces ovčjeg dalmatinskog sira. Tom prilikom istaknut će i neke nedostatke u tehnologiji silbanskog i olipskog sira, a naročito u njihovoj njezi.

#### L iteratura:

1. Baković D.: Prinos poznavanju osobina i proizvodnje ovčjih sireva Dalmacije (dissertacija, Zagreb 1957)
2. Tejkal Lj.: Sirarstvo u Dalmaciji, Zadar 1912.
3. Zdanovski N.: Ovče mljekarstvo, Zagreb, 1947.

**Dr Ivan Bach, Zagreb**  
Tehnološki fakultet\*

### **OSNOVNA BAKTERIOLOŠKA ANALITIKA U KONTROLI HIGIJENSKE KVALITETE MLIJEKA I MLJEČNIH PROIZVODA**

#### **I Određivanje broja bakterija**

##### **Uvod**

Odavno je već prihvaćeno stanovište, da je broj bakterija u mlijeku i nekim mlječnim proizvodima pokazatelj njegove higijenske kvalitete. Faktori o kojima zavisi onečišćenje mlijeka bakterijama (kao i drugim vrstama mikroorganizama) su brojni i raznovrsni. No, oni se ipak mogu svesti na nekoliko osnovnih, ako gledamo na **izvore i umnažanje** bakterija u mlijeku.

Primarni izvor jest unutrašnjost vimena muzare, a sekundarni vanjska površina vimena i koža krave, mljekarski pribor, rukovanje mlijekom (ruke i odjeća osobe koja muze te njene higijenske navike), okolina (stajski zrak i prašina, muhe i drugi insekti) i dr. Vrijeme i temperatura, kod koje mlijeko stoji nakon mužnje, utječe na povećanje broja bakterija u mlijeku.

Ispitivanja su pokazala, da se sterilno mlijeko ne može dobiti čak niti pod najpovoljnijim higijenskim uvjetima mužnje, jer se ono već u vimenu krave onečisti bakterijama. To je i razumljivo, ako se sjetimo, da je unutrašnjost vimena izvrgnuta izravnom prodiranju bakterija iz vanjske okoline preko sisnih otvora. Iznenađuje samo činjenica, da se svega nekoliko tipova

\*) prije Centralni higijenski zavod u Zagrebu

bakterija (mikrokoki, streptokoki i nesporogeni štapići) nalazi u aseptički pomuzenom mlijeku, i to u vrlo malom broju — približno 100 do 10.000 bakterija u 1 ml mlijeka iz zdravog vimena. Stoga je opravdano posebno izmesti i odbaciti prve mlazove mlijeka. Time se naime mehanički ispiru uvijek prisutne bakterije u izvodnom sisnom kanalu, pa se broj bakterija u preostaloj količini mlijeka smanjuje za neko 5%.

O ostalim, već spomenutim faktorima, zavisi do koje će se mijere ta, prvo bitna sadržina bakterija u mlijeku povećati, kada se ono izmuze. Veliki broj bakterija najčešće pokazuje, da je mlijeko dobiveno iz zaraženog vimena (iako to nije uvijek pravilo), ili se **muzlo odnosno rukovalo mlijekom pod nepovoljnim uvjetima**, ili je **mlijeko ostavljeno na dovoljno visokoj temperaturi**, koja je bakterijama omogućila naglo umnažanje. U prva dva slučaja postoje veliki izgledi za jako onečišćenje mlijeka bakterijama (saprofitnim, ali i — patogenim!), dok je u posljednjem pružena prilika, da se broj bakterija, dospjelih u mlijeko iz bilo kojih izvora, poveća do nepoželjnih i opasnih razmjera. Ukratko rečeno: **veliki broj bakterija predstavlja veću mogućnost za prijenos zaraznih bolesti putem mlijeka.**

Prema tome, prisutnost bakterija u mlijeku smatramo neizbjegnjom i redovnom pojavom pa možemo reći, da bakterije čine sastavni dio mlijeka. Naravno, pritom mislimo samo na one saprofitne, po zdravlje neškodljive bakterije, koje čine normalnu mikrofloru mlijeka. No, i **njihov broj ne smije biti pretjerano velik, jer tada takvo mlijeko postaje škodljivo i opasno po zdravlje**. Često se, naime, zaboravlja, da otpadni i otrovni produkti mijene tvari bakterijskih stanica, koje one izlučuju u mlijeko, ostaju u njemu gotovo nerazoren i poslije pasterizacije, pa čak i poslije kuhanja. Naročito se to nepovoljno očituje kod one najmlađe i najosjetljivije skupine potrošača — dojenčadi i male djece. Uživanje takvog mlijeka (pasteuriziranog ili kuhanog) uzrokuje kod njih teške probavne smetnje i proljeve, od kojih mnoga dojenčad nerijetko i umre!

Osim toga, **mlijeko s mnogo bakterija nepoželjno je i u tehnološkom smislu**, jer se kvalitetne mlijecne prerađevine ne mogu iz njega proizvesti niti u najsvremenije opremljenim mlijekarama.

Zato su sve ove, brojnim ispitivanjima provjerene činjenice već zarana izazvale potrebu za stalnim i sistematskim bakteriološkim pretragama mlijeka. Jedino na temelju ovako dobivenih rezultata mogu mlijekare odbiti preuzimanje nekvalitetnog mlijeka i očuvati se od nepotrebnih ekonomskih gubitaka, a inspekcijske službe (sanitarna, veterinarska ili tržna) spriječiti promet neispravnim mlijekom i time osigurati uspješnu zaštitu zdravlja potrošača.

Prije no što predemo na prikaz samog načina utvrđivanja broja bakterija u mlijeku, potreban nam je odgovor na pitanje: koje mlijeko smatramo kvalitetnim u higijenskom smislu? Svakako, mlijeko koje, uz ostalo, ne sadržava patogene mikroorganizme, a saprofitne sadržava u umjerenoj količini. Upravo prema broju bakterija mlijeko se u većini ekonomski razvijenih zemalja u svijetu razvrstava u kvalitetne razrede. U našoj zemlji nemamo još, nažalost, takvih propisa pa ćemo, primjera radi, navesti bakteriološke propise za sirovo i pasterizirano mlijeko, te sirovo i pasterizirano slatko vrhnje, koji su na snazi u SAD:

*Bakteriološki standardni propisi za mlijeko i vrhnje\**

Kvaliteta	Sirovo mlijeko i vrhnje		Pasterizirano mlijeko i vrhnje	
	Broj bakterija u 1 ml najviše do		Broj bakterija u 1 ml najviše do	
	Mlijeko	Vrhnje	Mlijeko	Vrhnje
A	200.000	400.000	30.000	60.000
B	1.000.000	2.000.000	50.000	100.000
C	bez ograničenja		bez ograničenja	

(\* Prema »Milk Ordinance and Code«, 1953)

Osim toga, potrebno je istaknuti, da još više možemo osuditi činjenicu, što kod nas ne postoje ni službeni propisi za bakteriološke metode određivanja broja bakterija u mlijeku, kao ni u ostalim namirnicama, iako je u »Pravilniku o kvaliteti živ. namirnica i o uvjetima za njihovu proizvodnju i promet« propisan maksimalno dozvoljeni broj bakterija u nekim namirnicama (kondenzirano i kondenzirano obrano mlijeko, mlijeko i obrano mlijeko u prahu, sladoled i dr.).

Kakve sve poteškoće stvara u praksi ovo nepostojanje jednoobraznih bakterioloških analitičkih metoda najbolje osjećaju laboratoriji, koji vrše takve pretrage. I, ne samo to. Posljedice koje proizlaze iz ovakvog stanja, a naročito u vezi s interpretiranjem rezultata, dobivenih različitim analitičkim metodama, dovode u pitanje i samu vrijednost i pouzdanost bakterioloških pretraga. Zato je i shvatljiv poziv inž. V. Bajeca iz poduzeća »Ljubljanske mljekarne« (vidi »Mljekarstvo«, X, 2, 1960) za uvođenjem identičnih analitičkih metoda u laboratorijima mljekara i kontrolnih organa.

Stoga ćemo u ovom članku prikazati bakteriološke analitičke metode, kojima se služi CHZ u Zagrebu (sada Republički zavod za zaštitu zdravila NRH), da bi s njima upoznali sve zainteresirane stručnjake u laboratorijima, i ovakvom izmjenom podataka pokušali doći do zajedničkog prijedloga za izradu standardnih ili službenih bakterioloških metoda za ispitivanje mlijeka i mlječnih proizvoda.

#### **Određivanje broja bakterija u mlijeku**

Određivanje broja bakterija u mlijeku kao i pasteriziranom mlijeku obavljamo indirektnom metodom agar ploča, tj. brojenjem bakterijskih kolonija na hranjivom agaru, prethodno nacijepljenom određenim količinama mlijeka i inkubiranom u termostatu 48 sati na 35°C.

Potreban pribor i reagencije za izvođenje ove metode je ovaj:

#### **Pribor:**

- pipete od 1 i 10 ml
- bakteriološke epruvete 200x20 mm
- Petrijeve zdjelice 100x15 mm
- medicinske boce od 150 i 250 ccm
- stalak za epruvete (dvoredni)
- olovka za staklo

termometar 0—100°C

Bunsenov plamenik, tronožac i limenka.

Otopina za pripremu decimalnih razrijedjenja mlijeka:

fiziološka otopina (0,85%-tina otopina NaCl)

Hranjiva podloga:

laktoza agar.

Laktoza agar pripremamo na dva načina zavisno o tome, da li raspolazemo s mesnim ekstraktom ili ne. Sastav i način pripreme laktoza agara je ovaj:

#### Laktoza agar

Pepton proteose (Difco) . . . . .	5 g
Mesni ekstrakt (Lab-lemco ili dr.) . . . . .	3 g
NaCl (pro analysi) . . . . .	5 g
Laktoza . . . . .	10 g
Bacto-agar (Difco) . . . . .	15 g
Destilirana voda . . . . .	1000 ml

U 1000 ml vode otopi 15 g Bacto-agara umjerenim zagrijavanjem u duplikatoru ili vodenoj kupelji, a zatim redom dodaj ostale ingredijencije. Kada se sve otopilo naručuj pH na 7,0—7,1, rastoti u boce i steriliziraj u autoclavu 15 minuta na 112°C.

**Napomena:** U slučaju da umjesto Bacto-agara moramo upotrijebiti agar u nitima ili bilo koji drugi agar slabije kvalitete potrebno je, da ga najprije otopimo i samog steriliziramo, zatim ostavimo preko noći u termostatu na 52°C radi taloženja i sutradan ga odlijemo (dekantiramo). Kod slabije kvalitetnih agarova treba uzeti količinu nešto veću od one navedene, tj. 20—25 g agarova. Sve ingredijencije dodaju se sada u 1000 ml dekantiranog agarova.

Ukoliko nema na raspoloženju mesnog ekstrakta pripremamo laktoza agar na isti način s mesnom vodom, samo s tom razlikom, da sada sve ostale ingredijencije stavimo u 1000 ml mesne vode umjesto destilirane vode. Mesnu vodu pripremamo na ovaj način:

**Mesna voda:** Sirovo goveđe meso očisti od masnog tkiva, kožica, tetiva i krvnih žila, samelji u stroju za mlijevenje mesa, prelij destiliranom vodom (u omjeru 500 g očišćenog mesa i 1000 ml destilirane vode) i ostavi da stoji 24 sata u hladioniku na 4°C. Nakon toga kuhaj 30 minuta (računajući ovo vrijeme od početka ključanja tekućine), filtriraj još vruće preko platnenog filtra i steriliziraj u autoclavu 30 minuta na 120°C.

Čitav posao oko određivanja broja bakterija možemo podijeliti u više faza, i to: priprema materijala, priprema razrijedjenja i nacepljivanje mlijeka, inkubiranje nacepljenih podloga, čitanje rezultata i davanje izvještaja.

**Priprema materijala.** — Pipete (začepljene na vrhu vatom) i Petrijeve zdjelice, složene u odgovarajuće metalne tuljee, kao i vatovi začepljene epruvete u žičanim košaricama ili kartonskim kutijama, sterilizaramo u autoclavu, rjeđe u suhom sterilizatoru. Fiziološku otopinu i laktoza agar u medicinskim bocama od 150 odnosno 250 ml, napunjenoj do tri četvrtine zapremine, steriliziramo također u autoclavu i čuvamo do upotrebe u hladioniku.

U prvi red otvora dvorednog stalka postavimo prazne sterilne epruvete, najbolje 200 x 20 mm veličine, dok ćemo u drugi red staviti epruvete s tekućom hranjivom podlogom za ispitivanje koliformnih bakterija, o čemu će biti kasnije govora.

Na stol pred stalkom poredamo prazne sterilne Petrijeve zdjelice, najbolje 100 x 15 mm veličine, s poklopцима okrenutim prema gore. Olovkom za staklo napišemo na poklopциma zdjelica ove oznake: uzorak mlijeka kojeg ispitujemo (obično redni broj pod kojim je uveden u dnevnik laboratorijskih pretraga), decimalno razrijedenje mlijeka (služimo se skraćenim označama X, C, M, ... itd. umjesto 1:10, 1:100... ili 0,1, 0,01... itd.) i datum ispitivanja, tj. nacijepljivanja uzorka mlijeka. Na epruvete je dovoljno da napišemo samo oznaku decimalnog razrij. mlijeka.

Istovremeno postavimo na tronožac iznad Bunsenovog plamenika limenku s vodom, u koju stavimo bocu s laktosa agarom da se agar rastali (otopi). Tako će nam agar biti pravodobno rastaljen i ohlađen na 45°C. Ova jednostavna i jeftina vodena kupelj potpuno odgovara ovoj svrsi.

**Priprema razrijedenja mlijeka i nacijepljivanje.** — Sterilnom pipetom od 10 ml prenesemo na sterilan način po 9 ml fiziološke otopine iz boce u epruvete na stalku. Koliko ćemo epruveta upotrijebiti zavisi o našoj procjeni bakteriološke (higijenske) kvalitete mlijeka. Kod sirovog mlijeka u kojem očekujemo veći broj bakterija uzet ćemo veća razrijedenja, nego kod pasteuriziranog mlijeka. Za rutinska ispitivanja nacijepljujemo najmanje dva uzaštopna decimalna razrijedenja, koja smo odabrali tako, da nam broj poraslih kolonija u barem jednom nacijepljenom razrijedenju bude između 30 i 300. Pobježe rečeno, ako npr. očekujemo broj kolonija između 10.000 i 300.000 pripremit ćemo i nacijepiti razrijedenja 1:100 i 1:1.000.

(nastavit će se)

#### **UPOTREBA SIRILA I ODREĐIVANJE NJEGOVE JAKOSTI I KOLIČINE**

Najviše vrsti sireva proizvodi se podsirivanjem s pomoću sirila. Prije se upotrebljavalo domaće sirilo, dok je danas uglavnom u upotrebi tvorničko, i to u tekućem stanju, prahu ili u tabletama.

Tekuće sirilo dolazi u promet u tamno obojenim bocama. Ono je slabo žutosmeđe boje i specifičnog mirisa sirišta. Obično nakon godine dana smanjuje mu se jakost za 25%.

Sirilo u prahu je slabo žute boje, gotovo bez mirisa, a prodaje ga se u limenci u kojih je žličica za odmjero potrebne količine sirila.

Sirilo u prahu i tabletama može se dulje čuvati.

Na ambalaži sirila naznačena je jakost, datum proizvodnje i rok upotrebljivosti.

Nakon upotrebe sirilo treba zatvoriti i čuvati na tamnom, suhom i hladnom mjestu.

Tekuće sirilo ima jakost 1:10.000 ili 1:20.000, u prahu 1:100.000 ili 1 : 150.000, tj. jedan dio sirila podsiruje 10 ili 20, 100 ili 150 l mlijeka. (1 ccm tekućeg sirila podsiruje 10, odnosno 20 l, a 1 g sirila u prahu 100, odnosno 150 l mlijeka.) Jedna tableta sirila podsiruje 10, 50 ili 100 l mlijeka.