

Inž. Budimil Majhofer, Zagreb

Laboratorij za kemijsko-biološka ispitivanja
živežnih namirnica Zavoda za zaštitu zdravlja
grada Zagreba

Kontrola pasterizacije mlijeka i mlječnih proizvoda u mljekarama

U laboratorijskoj kontroli mlječnih proizvoda koji podliježu obaveznoj pasterizaciji, odnosno koji se dobivaju prenadobom pasteriziranog mlijeka i vrhnja, često se nalaze takvi koji ne zadovoljavaju. Stoga se može zaključiti da se kontrola pasterizacije ovih proizvoda u mljekarama ne vrši kako treba.

U razgovoru s nekim drugovima koji bi trebali biti odgovorni za takvu kontrolu često se čuju prigovori zbog kompliciranosti metoda i postavljia pitanja, ne može li se kontrola pasterizacije vršiti na jednostavniji način?

Jedan od prigovora odnosi se na pojavu tzv. regenerativne fosfataze, koja bi trebala biti uzrok što neki prije ispravno pasterizirani proizvodi nakon izvjesnog vremena, tj. u vrijeme kada se vrši ispitivanje, daju pozitivnu reakciju, a time i netačnu predodžbu neispravne pasterizacije.

Nastojat ću da u ovom članku odgovorim na prigovore i postavljeno pitanje pa ću stoga ukratko iznijeti naša laboratorijska iskustva u kontroli pasterizacije mlijeka i mlječnih proizvoda. Na početku ovog prikaza želio bih naglasiti da se zadovoljavajuća kontrola pasterizacije može provesti na jednostavan način i bez upotrebe posebnih aparata.

Godine 1953. na čuvenoj mljekarskoj izložbi u Londonu objavljena je prva reklama nove jednostavne metode za kontrolu pasterizacije mlijeka. Od tvrtke koja je objavila tu reklamu, a koja proizvodi kemikalije i laboratorijski pribor za mljekarstvo, dobili smo iste godine uzorke kemikalija i upute za rad.

Radilo se o metodi Aschaffenburg-a i Mullen-a, a uputa za rad bila je iznesena prema posljednjim poboljšanjima metode koju su autori objavili iste godine. Bila je to ista metoda koja je već 1960. godine prikazana u 9 broju ovog časopisa.

Nažalost ova metoda nije nas u to vrijeme mogla zadovoljiti, iz razloga koje ću kasnije navesti, pa smo stoga morali potražiti drugu sigurniju metodu. Odlučili smo se za metodu po Sanders-u i Sager-u koja je zapravo treća modifikacija originalne metode Kay-a i Graham-a. U to vrijeme ova metoda je u SAD bila već prihvaćena kao druga službena metoda za kontrolu pasterizacije.

Zbog boljeg ocjenjivanja prednosti koje pruža metoda po Aschaffenburg-u i Mullen-u praktičnom mljekaru (nakon što je uklonjen glavni nedostatak) iznijet ću ukratko razlike između spomenutih metoda.

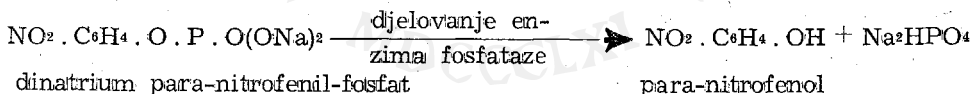
Princip metode po Kay-u i Graham-u i modificiranih metoda je isti. Djelovanjem enzima fosfataze kod pogodne temperature i povoljne pH-koncentracije nastupa cijepanje estera fosforne kiseline, pa tako iz spoja dinatrijum fenilfosfat nastaje fosforna kiselina i fenol. Količina oslobođenog fenola služi kao mjerilo za aktivnost fosfataze i ocjenjivanje ispravnosti pasterizacije.

U modificiranim metodama upotrebljene su nove pufer-otopine za održavanje povoljne pH-koncentracije i novi reagensi za dokazivanje oslobođenog fenola. Na taj način uspjelo je osjetljivost metoda povisiti i skratiti vrijeme inkubacije, a time i trajanje proba.

Metoda po Sanders-u i Sager-u omogućuje tačan rad i treba je još uvijek upotrebljavati kada je potrebno izražavanje aktivnosti fosfataze u mjerimim jedinicama. Osjetljivost joj je takva da u 1000 litara pasteriziranog mlijeka otkriva 1 litru nepasteriziranog. Metoda je međutim dosta komplicirana pa ju mogu izvoditi samo dobro opremljeni laboratoriji. Osim toga metoda ima taj nedostatak da postaje nesigurna u prisutnosti fenola i fenolnih spojeva tj. u prisutnosti tvari koje se mogu pojaviti kao slučajna onečišćenja ili dodaci — npr. antioksidansi u mljekarskim proizvodima.

U svima do sada spomenutim metodama nastaje djelovanjem enzima bezbojni kemijski spoj fenol. Pomoću posebnih reakcija trebalo je ove neznatne količine fenola učiniti vidljivima, pa je stoga nakon procesa inkubacije trebalo primijeniti posebni kemijski postupak u kojem iz fenola nastaje drugi kemijski spoj plave boje.

Nastojanja istraživača Aschaffenburg-a i Mullen-a bila su zato usmjerena na pronalaženje takvog spoja fosforne kiseline koji je bezbojan, a iz kojeg bi se nakon djelovanja enzima fosfataze oslobađali obojeni raspadni produkti. Oni su kao glavni reagens u svojoj metodi uzeli natrijsku sol para-nitrofenil-fosforne kiseline, koja se pod utjecajem enzima fosfataze cijepa na para-nitro-fenol i natrijsku sol fosforne kiseline:



Prednost metode je očita jer kao produkt enzimske razgradnje nastaje para-nitrofenol koji je u lužnatoj otopini (u kakvoj se vrši inkubacija) intenzivno žute boje, pa tako za dokazivanje produkata cijepanja fosfornog spoja više nisu potrebni posebni reagensi i naknadni kemijski postupci.

Kao što sam već spomenuo prvi pokušaji primjene ove metode, koje smo obavili u našem laboratoriju odmah nakon njenog objavljivanja nisu zadovoljili. Glavna kemikalija tj. dinatrium para-nitrofenil-fosfat se je brzo raspadao i poprimao žutu boju, pa je iz njega priređena otopina imala također žutu boju. Osjetljivost cijele probe bila je stoga toliko smanjena, da njezino izvođenje više nije imalo smisla.

U toku idućih godina pokušali smo izvesti probu sa kemikalijama drugih proizvođača. Nadali smo se da će veća čistoća kemikalije omogućiti normalno izvođenje probe, međutim neuspjeh je bio isti.

Godine 1956. objavio je Siegenthaler iskustva Zadržne mljekare u Bernu i opisao razmjerno jednostavan način čišćenja ove kemikalije. Nakon primjene takvog postupka, kojeg smo u našem laboratoriju donekle modificirali, mogla se je ova metoda primjenjivati za rutinske kontrole ispravnosti pasterizacije mlijeka i mlječnih proizvoda.

Sa ovom metodom omogućeno je mljekarskom stručnjaku da u toku tehnološkog postupka pasterizacije mlijeka i vrhnja obavi nekoliko ispitivanja i da već nakon 1/2 sata sazna da li je pasterizacija ispravno provedena i da eventualne griješke pravovremeno otkloni.

Besprijekorna čistoća reagensa nakon čišćenja je tolika da se proba može upotrebljavati bez aparata. Razlike između bezbojnih odnosno mlječno-bijelih otopina u kojima se pojavila žuta boja su takve da ih normalno oko dobro razaznaje bez upotrebe komparatora.

U želji da se ovaj jednostavan način kontrole pasterizacije uvede i u našim mljekarama opisat ću detaljno izvođenje probe.

Iz prije spomenute publikacije vidljivo je da je metoda zbog svoje jednostavnosti i osjetljivosti našla široku primjenu u mljekarama zemlje koja je na glasu po uzorno vođenom mljekarstvu.

PROBA NA FOSFATAZU PO ASCHAFFENBURG-U I MULLEN-U

Reagensi:

1. *Pomoćna pufer-otopina*, koja služi za postizavanje potrebnog pH za djelovanje enzima fosfataze. Ova otopina priređuje se u nešto većoj količini jer se u njoj otapa glavna kemikalija. Čuva se u hladioniku u boci sa staklenim čepom.

U čašu od oko 100 ml vagne se:

3,50 g bezvodnog natrijskog karbonata (natrium carbonicum anhydr. p. a.)
1,50 g natrijskog bikarbonata (natrium bicarbonicum p. a.)

Odvagnute kemikalije otope se u destiliranoj vodi bez zagrijavanja i prenesu u odmjernu tikvicu od 1000 ml koja se nadopuni do znaka sa destiliranom vodom.

2. Glavna otopina (reagens)

U tikvicu od 100 ml vagne se 0,20 g kemikalije dinatrium para-nitrofenil-fosfat i doda 50 ml pufer-otopine (1). Ako se nakon otapanja kemikalije primjeti da je otopina žute boje (što se gotovo redovito događa), potrebno je provesti čišćenje. U tikvicu se doda približno 0,3 g aktivnog ugljena (carbo animalis p. a.). Sadržina tikvice se promućka i ostavi stajati približno 5 minuta, nakon čega se filtrira kroz gusti filter papir, promjera oko 9 cm, u suhu čašu. Ako filtrat nije posve bistar tj. ako u početku filtracije nešto ugljena prolazi kroz filter papir, treba filtrat vratiti na isti filter papir i postupak ponoviti sve dok filtrat ne bude posve bistar. Filtrat se nakon toga prelije u odmjernu tikvicu od 200 ml i nadopuni do znaka sa pufer-otopinom (1).

Ovako priređena glavna otopina može se čuvati u hladioniku oko 10 dana. Kada otopina požuti treba je baciti i zamijeniti novom.

Opaske uz pripremu reagensa:

1. Kada se vrši čišćenje otopine dinatrium para-nitrofenil-fosfat, ne smije otopina nakon dodavanja aktivnog ugljena stajati dulje od 5 minuta, jer time reagens slabi.

2. Ako otopina ostane žuta i nakon dodavanja ugljena i filtracije, znak je da je aktivnost ugljena smanjena, pa ga je potrebno ponovo aktivirati. U našem laboratoriju radi se to na taj način da se aktivni ugljen stavi u porculanski lončić, dobro pokriven slojem vlaknastog azbesta i kratko vrijeme (oko 1 sat) zagrijava u električnoj peći na oko 350 do 500°C. Nakon ohlađenja spremi se u staklenu bocu.

3. Kemikaliju dinatrium para-nitrofenil-fosfat nabavljali smo od tvrtke Fluka A. G., Buchs SG u Švicarskoj preko naših poduzeća koja se bave prodajom laboratorijskih kemikalija. Ne preporuča se stvaranje zaliha pa stoga nije potrebno nabavljati veću količinu kemikalije od 5 g.

Izvedba probe:

1. U dvije epruvete (1,5 × 16 cm) odmjeri se pipetom po 1 ml mlijeka.

Ako se ispituje vrhnje stavlja se u epruvete po 1 ml vrhnja. Kod ispitivanja maslaca vagne se 1 g maslaca na listić celofana veličine 5×5 cm. Ovakav listić je dovoljan da se maslac vagne i toliko zavije da se može spustiti na dno epruvete.

2. Jedna od epruveta (slijepi pokus) stavi se kroz 1 minutu u kipuću vodenu kupelj i zatim naglo ohladi pod tekućom vodom.

Za vrijeme zagrijavanja treba sadržaj u epruveti izmiješati. Miješanje se vrši laganim pokretanjem epruvete u samoj kupelji tako, da se sav sadržaj epruvete jednolično zagrije. Ovo naročito vrijedi za slijepi pokus kod ispitivanja maslaca.

3. U svaku epruvetu stavi se zatim pipetom po 5 ml glavne otopine (reagensa) i dobro izmiješa.

Reagens mora biti posve bezbojan i bistar.

Miješanje se može provesti laganim kružnim pokretanjem epruveta, pa ih zbog toga nije potrebno zatvarati gumenim čepovima, već samo pokriti vatom.

Kod ispitivanja maslaca miješanje se vrši tek nakon stavljanja u termostatsku kupelj (vidi primjedbu u tač. 4).

4. Epruvete se stave u vodenu kupelj (termostatsku kupelj), ugnijanu na 37 do 38°C i drže u njoj 30 minuta.

Nakon prve 1 do 2 minute epruvete se na kratko vrijeme podignu iz kupelji i lagano izmiješaju. Ovo je naročito važno kod ispitivanja maslaca, koji se ne može izmiješati sa reagensom prije nego što se u vodenoj kupelji zagnije i rastali.

5. Nakon završene inkubacije izvade se epruvete iz vodene kupelji i gledaju u prolaznom (najboljem dlanjem) svjetlu.

Pojavi li se u epruveti žuta boja (slijepi pokus mora ostati nepromijenjen tj. mutna otopina mlječno bijele boje), znači da proizvod nije pasteriziran. Ako je intenzitet žute boje slab, odnosno tako slab da se razabire samo u usporedbi sa slijepim pokusom, znak je da proizvod nije dobro pasteriziran.

Osjetljivost ove probe može se još znatno povećati ako se nakon prvog čitanja rezultata epruvete promućkaju i ponovno stave u vodenu kupelj za daljnjih 90 minuta.

Ovakvo povećanje osjetljivosti probe u toku kontrolnih ispitivanja u mljekarama je praktički nepotrebno, jer već inkubacija od 30 minuta otkriva manje griješke u pasterizaciji, odnosno neznatne primjese sirovog mlijeka ili vrhnja.

Prema iskustvu iz našeg laboratorija može se nakon inkubacije od 30 minuta otkriti prisutnost od 0,4% sirovog mlijeka u pasteriziranom.

Opaske uz izvođenje probe:

a) Kod izvođenja probe mora se upotrebljavati samo posve čisto i suho posuđe i pribor. Uvjeti rada donekle su slični kao kod bakterioloških ispitivanja.

b) Preporučuje se upotreba bakterioloških epruveta sa debljim stijenama, no koje su načinjene iz posve bezbojnog stakla.

c) Izvođenje slijepog pokusa može se kod brzih orijentacionih ispitivanja ispuštiti, no time se donekle smanjuje osjetljivost, jer se teže uspoređuju razvijene boje.

d) Ako se ispitivanje vrši na terenu ili izvan laboratorija, moguće je umjesto vodene kupelji upotrijebiti vlastitu toplinu tijela. U takvom slučaju začepljena epruveta se inkubira u džepu prsluka. Naravno da je tačnost kod takvog ispitivanja manja.

e) Konzerviranje uzoraka mlijeka sa 1,5% kloroforma ne smeta osjetljivosti probe.

f) Kod ispitivanja vrlo kiselih proizvoda (kiselo vrhnje, kiselo mlijeko i slično), potrebno je pH prije inkubacije korigirati. U epruvetu se dodaju 2—3 kapi 0,1 n-lužine.

g) Preporuča se ispravnost reagensa i rada povremeno kontrolirati sa pasteriziranim mlijekom kojemu je dodano oko 1% sirovog mlijeka.

Na kraju ovog izlaganja želio bi se osvrnuti na pojavu regenerativne fosfataze. U okviru ovakvih ispitivanja koja se vrše u mljekarama na proizvodima koji su netom pasterizirani ne može se očekivati pojava regenerativne fosfa-

taze, pa će ispravno pasterizirani proizvodi uvijek davati negativnu reakciju na aktivnost fosfataze.

Pojava reaktiviranja fosfataze nesumnjivo postoji, a njen uzrok treba prvenstveno tražiti u aktivnosti posebnih grupa bakterija. Uvjeti pod kojima može nastupiti reaktivacija ne spadaju u temu ovog članka, no nastup takvih aktivnosti biti će možda mnogo puta bolje razmatrati iz aspekta pokvarenosti umjesto ispravnosti pasterizacije.

Opisivanjem naprijed iznesene jednostavne probe nadam se da sam praktičnom mljekarskom stručnjaku na lak način omogućio kontrolu pasterizacije. Svrha pasterizacije mlijeka nije samo udovoljavanje sanitarnim propisima već postizanje kvalitetnih mlječnih proizvoda, a to je na kraju cilj svake kontrole.

Literatura:

1. Harvey & Hill: Milk (1946)
2. Harvey & Hill: Pasteurisation (1947)
3. Sanders C. P. i Sager O. S.: Journ. Dairy Sci. 31. 845 (1948)
4. Rašić J.: »Mljekarstvo« br. 9 str. 197 (1960)
5. Francetić M. i Jemrić K.: Veter. arh. XXVII/1957, 9—10, 295
6. Ritter W.: Schweiz. Milchzeit. No. 83 Beilage 3 (1953)
7. Siegenthaler E.: Mitt. Lebensmitt. Hyg. 47 1 (1956)

Zavisnost kvalitete maslaca o suhoj tvari bez masti

Samo je malo mljekara koje su dosad pokazale interes da ustanovljavaju suhu tvar bez masti kod vlastite proizvodnje maslaca, iako to svaki proizvođač maslaca ne može podcijeniti.

Na prinos (potrošnju masnih jedinica) i na kvalitetu maslaca utječe i suha tvar bez masti u maslacu. Uistinu nastojalo se da se nepranjem maslaca poveća suha tvar bez masti i time štedi mast, jer po zakonskim propisima maslac treba da ima samo 80% masti (kod nas prema kvaliteti do 82%).

Uglavnom dosad se nije postigao trajan uspjeh, jer je često ovaj način rada negativno utjecao na kvalitet maslaca. Predmjevalo se da je povećana sadržina bjelančevine uzrok da je maslac »sirast, kiseo«. Međutim, onaj koji se s time zanima, ipak zna, da se ova pogreška može pojaviti i onda kada je u maslacu malo bjelančevine.

Zbog toga su se dvije godine po jednostavnoj metodi testirali uzorci maslaca, da se vidi, odnosno ustanovi, da li povišenje suhe tvari bez masti uzrokuje pogrešku »sirast, kiseo«. Kroz godinu dana ispitivala se sadržina suhe tvari bez masti u uzorcima sa spomenutim pogreškama.

Kod 25 uzoraka maslaca s pogreškom »sirast, kiseo« ustanovljeno je da je sadržina suhe tvari bez masti iznosila:

Uzorci	sadržina suhe tvari bez masti u %
5	0,61—0,70
4	0,78—0,80
8	0,81—0,90
3	0,91—1,00
1	1,01—1,10
3	1,11—1,20
1	1,51—1,61