

Оригинални научни рада

МИКРОБИОЛОШКИ КРИТЕРИЈУМИ У ПРОИЗВОДЊИ ПАСТЕРИЗОВАНОГ МЛИЈЕКА**

Бојан ГОЛИЋ¹, Милијана ГОЛИЋ¹, Тања ИЛИЋ¹

¹ Др Бојан Голић спец. др вет., ма Милијана Голић дипл. инж. технологије, Тања Илић спец. др вет., Јавна установа Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука, Бранка Радичевића 18

* Коресподентни аутор: Др Бојан Голић спец. др вет., bojan.golic@virs-vb.com

Кратак садржај: Критеријум хигијене процеса је микробиолошки критеријум који се примјењује на процес производње и прераде хране и указује на правилно функционисање производног процеса тако што представља вриједност контаминације изнад које се предузимају корективне мјере како би се одржала хигијена процеса. Пастеризовано млијеко је производ добијен термичком обрадом сировог млијека на температури 63°C у трајању од 30 минута или 72°C у трајању од 15 секунди. Пастеризација има два циља, први је уништавање свих патогених микроорганизама, други да се смањи број сапрофитских микроорганизама, чиме се продужава рок трајања, а да при томе не дође до промјене нутритивно биолошке вриједности млијека.

Циљ рада је да се на основу резултата испитивања пастеризованог млијека на критеријуме хигијене у процесу производње, сагледа безбједност пастеризованог млијека и услови хигијене у процесу производње, као и да се изради предлог препоручених микроорганизама на које треба вршити испитивање у процесу производње пастеризованог млијека.

Узорци пастеризованог млијека су поријеклом из мљекаре која врши откуп млијека са територије Републике Српске, а узорковани су у шестомјесечном периоду (јануар-јун), у оквиру самоконтроле и службене контроле. За микробиолошко испитивање сировог млијека, кориштене су стандардне BAS ISO методе.

Резултати испитивања пастеризованог млијека у односу на критеријум хигијене у процесу производње задовољавајући су у односу на Правилник о микробиолошким критеријумима за храну. Резултати самоконтроле на препоручене микробиолошке критеријуме у процесу добијања пастеризованог млијека, који су дати у Водичу за примјену микробиолошких критеријума за храну, задовољавајући су у односу на налаз *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. и коагулаза позитивних стафилокока, а незадовољавајући за број микроорганизама. Резултати службене контроле у процесу производње пастеризованог млијека незадовољавајући су због повећаног броја микроорганизама у 12,50% узорака. Број микроорганизама већи од 10⁵CFU/ml имало је 22,20% узорака пастеризованог млијека у оквиру властите и службене контроле. Испитивање пастеризованог млијека у самоконтроли процеса производње треба вршити на ентеробактерије и број микроорганизама, а при интерпретацији резултата користити препоручене граничне вриједности из Водича за примјену микробиолошких критеријума за храну.

Кључне ријечи: пастеризовано млијеко, микробиолошки критеријуми, хигијена процеса

** Рад је презентован на 23. Годишњем савјетовању доктора ветеринарске медицине Републике Српске (БиХ) са међународним учешћем, Теслић 2018.

УВОД

Правилником о микробиолошким критеријумима за храну (2012; 2013) прописују се општи и посебни услови хигијене хране у било којој фази производње, прераде и промета (микробиолошки критеријуми за храну) као и правила која субјекти у пословању храном морају поштовати приликом примјене општих и посебних хигијенских мјера заснованих на анализи ризика критичних контролних тачака. Критеријум безбједности хране је критеријум којим се дефинише прихватљивост неког производа или производне партије производа и који се примјењује на производе у промету. Критеријуми безбједности хране и њихове граничне вриједности примјењују се на храну од фазе отпремања из објекта све до истека рока трајања. У случају када је храна у фази отпремања, када су већ састављени документи за транспорт, сматра се да се примјењују критеријуми безбједности хране (Водич, 2013). Критеријум хигијене процеса је критеријум који се примјењује на процес производње и прераде хране и указује на правилно функционисање производног процеса тако што представља вриједност контаминације изнад које се предузимају корективне мјере како би се одржала хигијена процеса (Правилник, 2012; Правилник, 2013).

Водич о микробиолошким критеријумима за храну (2013) првенствено је намијењен субјектима у пословању храном, а с циљем појашњења примјене Правилника о микробиолошким критеријумима за храну и њиме обухваћених обавезних критеријума, као и давања прегледа осталих обавезних микробиолошких захтјева. Препоручени микроорганизми, уз категорију хране на коју се односе, примјењују се првенствено на крају производног процеса, али њихове

граничне вриједности препоручене су и током цијелог рока трајања производа, те се могу користити при дефинисању микробиолошких критеријума при изради произвођачких спецификација за сировине.

Субјекти у пословању храном одлучују о учесталости узорковања осим у случајевима за које су Правилником о микробиолошким критеријумима за храну (2012; 2013) наведене специфичне учесталости узорковања и у тим случајевима учесталост узорковања треба да буде најмање једнака учесталости узорковања наведеној у правилнику. Учесталост узорковања може се прилагодити природи и обиму пословања храном, под условом да неће бити угрожена безбједност хране.

У случају добијања и само једног незадовољавајућег резултата, субјект у пословању храном мора предузети одговарајуће корективне мјере (Водич, 2013). Мјере које субјект предузима за утврђивање узрока незадовољавајућих резултата, како би се спријечила поновна појава неприхватљиве микробиолошке контаминације, могу укључивати измјене поступака заснованих на НАССР принципима или других постојећих мјера за контролу хигијене хране (Правилник, 2012; Правилник, 2013). Критеријум безбједности хране за термички обрађено млијеко примјењује се на производе стављене у промет током рока трајања производа и на фазу прије него што субјект у пословању храном, који је храну произвео, престане да буде директно одговоран за исту. Термички обрађено млијеко испитује се на присуство бактерије *Listeria monocytogenes* прије него што оно престане да буде под непосредном контролом субјекта који га је произвео, када субјект у пословању храном не може на

задовољавајући начин да докаже надлежном органу да производ неће прећи границу од 100CFU/ml током рока употребе. Метода испитивања је BAS EN/ISO 11290-1/A1 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2005.б), а гранична вриједност је одсуство у 25ml ($M=m$, $n=5$, $c=0$). Уколико субјект у пословању храном може да докаже надлежном органу да производ не прелази границу од 100CFU/ml током рока употребе, термички обрађено млијеко испитује се методом испитивања BAS EN/ISO 11290-2/A1 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2005.в), а гранична вриједност је 100CFU/ml ($n=5$, $c=0$). Критеријум хигијене у процесу производње за пастеризовано млијеко примјењује се на крају производног процеса. Испитује се методом BAS ISO 21528-2 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2013), којом се утврђује број ентеробактерија, а гранична вриједност је $M=10CFU/ml$ ($n=5$, $c=0$).

Препоручени микробиолошки критеријуми за пастеризовано млијеко (Водич, 2013):

- одсуство *Salmonella* spp. у 25ml ($M=m$, $n=5$, $c=0$),
- одсуство *Listeria monocytogenes* у 25ml ($M=m$, $n=5$, $c=0$),
- број коагулаза позитивних стафилокока $M=10CFU/ml$ ($n=5$, $c=0$),
- број *Enterobacteriaceae* $m<1CFU/ml$, $M=10CFU/ml$ ($n=5$, $c=2$),
- број микроорганизама $m=10^3CFU/ml$, $M=10^4CFU/ml$ ($n=5$, $c=1$).

Пастеризовано млијеко је производ добијен термичком обрадом сировог млијека током поступка пастеризације. Пастеризација је термички процес који се примјењује приликом обраде хране, а користи се у две сврхе: први је уништавање свих патогених микроорганизама, други да се смањи број сапрофитских микроорганизама, чиме се продужава рок трајања, а да при томе не дође до промјене нутритивно биолошке вриједности млијека. Постоје два поступка пастеризације, LTH (Low Temperature Holding) на 62,8°C у трајању од 30 минута и HTST (High Temperature Short Time) на 71,7°C у трајању од 15 секунди (Adams и Moss, 2008). Минималне комбинације времена и температуре за пастеризовано млијеко су 63°C у трајању од 30 минута или 72°C у трајању од 15 секунди (Burton, 1986; Правилник, 2011.а). Дефиниција Међународне федерације за млијеко (IDF) такође укључује захтјеве да се производ хлади без одлагања након термичке обраде, да је пакован с минималним одлагањем како би се смањила контаминација и да даје негативан резултат на фосфатаза тест одмах након поступка термичке обраде (Cerf, 1986).

Циљ рада је да се на основу резултата испитивања пастеризованог млијека на критеријуме хигијене у процесу производње, сагледа безбједност пастеризованог млијека и услови хигијене у процесу производње, као и да се изради предлог препоручених микроорганизама на које треба вршити испитивање у процесу производње пастеризованог млијека.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Материјал

Узорци пастеризованог млијека потичу из мљекаре која врши откуп млијека са територије Републике Српске, а узорковани су у шестомјесечном периоду (јануар-јун), у

оквиру самоконтроле и службене контроле. Узорци пастеризованог млијека узорковани су у оквиру службене контроле минимално једном мјесечно, а у фебруару три пута. Укупно је узорковано 8 узорака са по 5

Голић и сар:**Микробиолошки критеријуми у производњи пастеризованог млијека**

јединица. У оквиру самоконтроле узоркован је у јуну један узорак (пет јединица) пастеризованог млијека. Узорци су узорковани из сабирног танка, непосредно по завршетку поступка пастеризације.

Методe

За микробиолошко испитивање пастеризованог млијека, кориштене су следеће стандардне методе испитивања:

- за одређивање броја микроорганизама BAS EN ISO 4833:2006 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2006)
- за одређивање броја ентеробактерија BAS ISO 21528-2:2008 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2013)
- за одређивање броја коагулаза позитивних стафилокока и *Staphylococcus aureus* BAS EN ISO 6888-1/Amd1:2005 (Микробиоло-гија хране и хране за животиње, 2005.а)

Лабораторијско испитивање узорака рађено је у ЈУ Ветеринарски институт Републике Српске „Др Васо Бутозан“ Бања Лука.

- за детекцију *Listeria monocytogenes* BAS EN ISO 11290-1/A1:2005 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2005.б)
- за детекцију *Salmonella* spp. BAS EN ISO 6579/Cor2:2010 (Микробиологија хране и хране за животиње, 2010).

У нашем истраживању и у статистичкој анализи добијених резултата користили смо, као основне статистичке методе, дескриптивне статистичке параметре. Резултати истраживања приказани су табеларно.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Сирово млијеко је погодна средина за раст микроорганизама због високе a_w вриједности, умјерене вриједности рН (6,4-6,6) и довољне количине храњивих материја. Ово захтијева високе стандарде хигијене у производњи млијека и производа од млијека. Млијеко добијено од здравих животиња, асептично узето, углавном је стерилно или садржи веома мали број микроорганизама, обично мање од 10^2 - 10^3 CFU/ml. Микроорганизми доспијевају у млијеко у случају маститиса, када њихов број може да буде око 10^5 CFU/ml или накнадном контаминацијом из спољашње средине. У свјежем млијеку могу бити присутни микроорганизми отпорни на топлоту, који преживљавају поступак пастеризације (Adams и Moss, 2008). То су углавном Грам позитивне бактерије које формирају споре, као и чланови родова *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Enterococcus* и *Lactobacillus*.

Већина Грам негативних психротрофних бактерија не преживљава температуру пастеризације, али постоје неки микроорганизми отпорни на ове температуре, који доводе до квара пастеризованог млијека. У питању су психротрофне Грам негативне бактерије *Pseudomonas*, *Alcaligenes* и *Acinetobacter*, али квар може настати и због раста *Bacillus* spp. отпорног на температуру пастеризације, који су означени и као постпастеризацијски контаминенти.

У оквиру микробиолошких критеријума за пастеризовано млијеко, Правилником о микробиолошким критеријумима за храну (2012; 2013), предвиђена је обавезна контрола хигијене у процесу производње. Овим критеријумом предвиђено је да се у пастеризованом млијеку у процесу

производње одређује број *Enterobacteriaceae*.

Самоконтрола коју је спроводио субјект у пословању храном у процесу производње пастеризованог млијека рађена је према препорукама наведеним у Водичу о микробиолошким критеријумима за храну (2013), као и на основу сопственог плана самоконтроле. У оквиру контроле на критеријум хигијене у процесу производње, препоручено је испитивање на *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, коагулаза позитивне стафилококе, *Enterobacteriaceae* и број аеробних мезофилних микроорганизама. Субјект је у плану

самоконтроле за микробиолошки критеријум број микроорганизама код пастеризованог млијека одредио граничну вриједност од $M=10^5$ CFU/ml.

На основу препоручених микробиолошких критеријума у Водичу (2013), у периоду од шест мјесеци, субјект у пословању храном једном је радио самоконтролу (јун) на критеријум хигијене у процесу производње пастеризованог млијека.

Резултати испитивања пастеризованог млијека према критеријумима који су предложени у Водичу (2013), дати су у Табели 1.

Табела 1. Резултати испитивања пастеризованог млијека према препорученим критеријумима

Микроорганизам	План узорковања		Интерпретација резултата
	п	с	
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	задовољава
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	задовољава
Коагулаза позитивне стафилококе	5	0	задовољава
<i>Enterobacteriaceae</i>	5	2	задовољава
Аеробни мезофилни микроорганизми	5	1	не задовољава

Резултати самоконтроле за један узорак, у процесу производње пастеризованог млијека, према препорученим критеријумима задовољавајући су за *Salmonella* spp. и *Listeria monocytogenes* због одсуства у 25ml, коагулаза позитивне стафилококе због утврђеног броја мање од 10CFU/ml, *Enterobacteriaceae* због утврђеног броја мање од 1CFU/ml, а незадовољавајући због повећаног броја микроорганизама, који је у три јединице већи од 10^5 CFU/ml, а у две јединице између 10^3 CFU/ml и 10^4 CFU/ml.

Службена контрола процеса производње је у шестомјесечном периоду, према плану који је дао субјект, осам пута узорковала по пет јединица узорака пастеризованог млијека у процесу производње. У службеној контроли, према плану самоконтроле субјекта, одређиван је број микроорганизама у узорцима пастеризованог млијека.

Резултати службене контроле пастеризованог млијека у процесу производње приказани су у Табели 2.

Табела 2. Резултати службене контроле у процесу производње пастеризованог млијека

Период узорковања/ Број узорка	Параметар	План узорковања		Гранична вриједност $m=M$	Резултати
		n	c		
Јануар / 1	Број микроорганизама	5	0	10^5 CFU/ml	не задовољава
Фебруар / 3					задовољава
Март / 1					задовољава
Април / 1					задовољава
Мај / 1					задовољава
Јун / 1					задовољава

Резултати службене контроле у процесу производње пастеризованог млијека за осам узорка, задовољавајући су за седам узорка (87,50%) због утврђеног броја микроорганизама, гдје је у свих пет јединица број микроорганизама био мањи од 10^5 CFU/ml, а за један узорак (12,50%) незадовољавајући су због повећаног броја микроорганизама који је у свих пет јединица био већи од 10^5 CFU/ml. Из резултата који су приказани у Табели 1. и 2. запажа се неусаглашеност у односу на препоручене критеријуме. Наиме, Водич (2013) је поставио строжије захтјеве за контролу процеса производње ($m=10^3$ CFU/ml, $M=10^4$ CFU/ml), док је субјект у плану самоконтроле за број микроорганизама навео граничну вриједност која је превисока ($M=10^5$ CFU/ml). Ово је гранична вриједност која је постављена за сирово млијеко (Правилник, 2011.б; Правилник, 2015), док би за пастеризовано млијеко морала бити знатно нижа. Одрживост пастеризованог млијека у промету директно зависи од броја преживјелих микроорганизама после термичке обраде. Примјена термичке обраде на којој се изводи пастеризација, довољна је да редукује 99,99% микроорганизама из сировог млијека. D вриједност тј. вријеме децималне редуције за *Listeria monocytogenes* при $71,1^\circ\text{C}$ износи 0,17 минута (Јунеја, 2003). D вриједност за *Salmonella* spp. при 65°C износи 0,02-0,25

минута, за *Staphylococcus aureus* при 65°C износи 0,02-2 минута, а за *Escherichia coli* при 65°C износи 0,1 минут (Adams и Moss, 2008). Реално је очекивати да после термичке обраде број микроорганизама у пастеризованом млијеку не прелази вриједност од 10^3 CFU/ml, а у неким случајевима када је контаминација сировог млијека микроорганизама била виша, вриједност од 10^4 CFU/ml. Микроорганизи који су преживјели термичку обраду током чувања пастеризованог млијека могу се размножавати и увећати број, што доводи до квара пастеризованог млијека (Adams и Moss, 2008).

Субјект се у процесу контроле пастеризованог млијека одлучио за број микроорганизама који је 10^5 CFU/ml, што представља показатељ лоше сировине тј. сировине са знатно вишим бројем микроорганизама од броја дозвољеног Правилником (2011.б; 2015), или лоше хигијене у самом процесу производње пастеризованог млијека. Ово потврђују и резултати властите и службене контроле пастеризованог млијека, гдје су 2 узорка (22,20%), од укупно 9, имала број микроорганизама већи од 10^5 CFU/ml.

Анализирањем препоручених микробиолошких критеријума (Водич, 2013), нема објашњења зашто контролисати салмонеле и листерије у термички обрађеном млијеку. Ова два микроорганизама

не могу да преживе режим термичке обраде који се примјењује код пастеризације (Adams и Moss, 2008; Juneја, 2003) и њихов налаз у пастеризованом млијеку значио би да пастеризација није изведена.

Европска комисија (European Commission, 2003) је предложила да производи који се производе од сировог млијека не треба да садрже *Staphylococcus aureus* изнад одређеног броја (10^5), јер ако сирово млијеко садржи *Staphylococcus aureus* у већем броју од наведене вриједности, ентеротоксин може бити синтетисан у току процеса производње. Ако је омогућен интензиван раст ентеротоксогених стафилокока, током првих 48 часова производње настаће довољна количина ентеротоксина да изазове алиментарна обољења. Обично се сматра да ентеротоксогене стафилококе морају достићи ниво од најмање 10^5 - 10^6 CFU/g или

ml за производњу детектабилне количине ентеротоксина. Препоручени критеријум који је дат за коагулаза позитивне стафилококе (Водич, 2013) не одражава право стање процјене ризика када су коагулаза позитивне стафилококе у питању, јер гранична вриједност, која је дата, није значајна за налаз ентеротоксина (European Commission, 2003), а стафилококе у пастеризованом млијеку су такође показатељ накнадне контаминације (Adams и Moss, 2008).

Препоручена контрола ентеробактерија је добро формулисана (Водич, 2013) и ако се утврди да две јединице узорка имају ентеробактерије, могу се на вријеме спровести корективне мјере да коначан производ буде у границама које захтјева Правилник о микробиолошким критеријумима за храну (2012; 2013).

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата, изводе се следећи закључци:

1. Резултати испитивања пастеризованог млијека у односу на критеријум хигијене у процесу производње задовољавајући су у односу на Правилник о микробиолошким критеријумима за храну.
2. Резултати самоконтроле на препоручене микробиолошке критеријуме у процесу добијања пастеризованог млијека, који су дати у Водичу за примјену микробиолошких критеријума за храну, задовољавајући су у односу на налаз *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. и коагулаза позитивних стафилокока, а незадовољавајући за број микроорганизама.
3. Резултати службене контроле у процесу производње пастеризованог млијека незадовољавајући су због повећаног броја микроорганизама у 12,50% узорака.
4. Број микроорганизама већи од 10^5 CFU/ml имало је 22,20% узорака пастеризованог млијека у оквиру властите и службене контроле.
5. Предлаже се да се испитивање пастеризованог млијека, у самоконтроли процеса производње, врши на ентеробактерије и број микроорганизама, а да се при интерпретацији резултата користе препоручене граничне вриједности из Водича за примјену микробиолошких критеријума за храну.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adams M. R., Moss M. O. (2008): Food Microbiology. Third Edition. RSC Publishing, Cambridge, UK.

2. Burton H. (1986): Microbiological aspects. In International Dairy Federation Bulletin No. 200/1986, Monograph on Pasteurized Milk. International Dairy Federation, Brussels. pp 9-14.
3. Водич за примјену микробиолошких критеријума за храну (2013). Агенција за безбједност хране БиХ.
4. European Commission. (2003): Health&Consumer Protection Directorate-General. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on staphylococcal enterotoxins in milk products, particularly cheeses. 26-27. March 2003.
5. Juneja V. K. (2003): Predictive model of combined effect of temperature, sodium lactate and sodium diacetate on the heat resistance of *L. monocytogenes* in beef. J. Food Prot. 66:804-11.
6. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонтална метода за бројање коагулаза позитивних стафилокока *Staphylococcus aureus* и друге врсте) – Дио 1: Техника коришћења Baird-Parker агар-медија – Амандман 1: Укључивање прецизности података (2005.а). BAS EN ISO 6888-1/A1, 1. издање.
7. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонтални метод за бројање микроорганизама – Техника бројања колонија на 30°C (2006). BAS EN ISO 4833, 1. издање.
8. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонтална метода за детекцију и бројање *Listeria monocytogenes* – Дио 1: Метода детекције – Амандман 1: Модификација изолације медија и тест хемоллизе и укључење прецизности података (2005.б). BAS EN ISO 11290-1/A1, 1. издање.
9. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонталне методе за детекцију и бројање *Enterobacteriaceae* – Дио 2: Метод бројања колонија (2013). BAS ISO 21528-2, 2. издање.
10. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонтална метода за детекцију и бројање *Listeria monocytogenes* – Дио 2: Метода нумерације – Амандман 1: Модификација нумерације медија (2005.в). BAS EN ISO 11290-2/A1, 1. издање.
11. Микробиологија хране и хране за животиње – Хоризонтална метода за детекцију *Salmonella* spp. (2010). BAS EN ISO 6579/Cor2, 1. издање.
12. Правилник о квалитету свјежег сировог млијека (2015). Службени гласник Републике Српске број. Број 81.
13. Правилник о микробиолошким критеријумима за храну (2012). Службени гласник Републике Српске. Број 109.
14. Правилник о микробиолошким критеријумима за храну (2013). Службени гласник БиХ. Број 11.
15. Правилник о производима од млијека и стартер културама (2011.а). Службени гласник БиХ. Број 21.
16. Правилник о сировом млијеку (2011.б). Службени гласник БиХ. Број 21.
17. Cerf O. (1986): Introduction. In International Dairy Federation Bulletin No. 200/1986, Monograph on Pasteurized Milk. International Dairy Federation, Brussels. pp 2-3.

Рад примљен: 07.10.2018.

Рад прихваћен: 17.01.2019.