

**U Osijeku, 16. travnja 2013.**

**Znanstveno izvješće Hrvatske agencije za hranu  
vezano uz nalaz aerobnih mezofilnih bakterija  
u uvoznim pakovinama UHT mlijeka**

**Sterilizacija ultravisokom temperaturom (Ultrahigh temperature sterilization)**

Sterilizacija ultravisokom temperaturom (UHT) je postupak koji kombinira kratko izlaganje mlijeka vrlo visokim temperaturama nakon čega slijedi aseptično rukovanje i pakiranje, kako bi nastao komercijalno sterilan proizvod sa stabilnim rokom upotrebe (Robinson, 2005). Cilj UHT sterilizacije je postići smanjenje 9 log termofilnih endospora koje se prirodno javljanju u mlijeku (Burton, 1988; HinrichsandKessler, 1995). Ovakav postupak smatra se adekvatnim za 12 log smanjenje spora *Clostridium botulinum* što je potrebno za konzerviranje slabo kisele hrane (Burton, 1988; Jay, 1996).

Iako postupak za dobivanje UHT mlijeka varira od zemlje do zemlje, preporuča se temperatura od 130 do 150° C i vrijeme zadržavanja 1 sekunda ili dulje, a uobičajeno je da se primjenjuje vrijeme zadržavanja 2-8 sekundi. Temperature ispod 135°C smatraju se nedovoljnim za sterilizaciju (Mehta, 1980). Burton (1988) je definirao UHT postupak kao onaj u kojemu se proizvod zagrijava u kontinuiranom tijeku na temperaturu 135 – 150° C te se na toj temperaturi zadržava određeno vrijeme koje je dovoljno da se osigura komercijalna sterilnost, s prihvatljivim promjenama u proizvodu (kao što su okus, boja i sadržaj nutrijenata). Nakon sterilizacije proizvod se aseptički pakira u prikladne sterilne pakovine i namijenjen je prodaji i distribuciji izvan hladnjaka.

## Utjecaj kvalitete sirovog mlijeka na UHT mlijeko

UHT mlijeko je mlijeko u kojem su uništeni organizmi koji mogu dovesti do njegovog kvarenja. Burton (1988) daje primjer izračuna teoretske mogućnosti kvarenja UHT proizvoda. Ukoliko svježe sirovo mlijeko sadrži 100 spora/ml i procesirano je na određenoj temperaturi u vremenu koje rezultira uspješnošću sterilizacije od 8 za taj organizam ( $10^8$  reducira na 1) i procesirano je 10000 l, broj spora koje preživljavaju bit će  $10000 \times 1000 \times 100 / 10^8 = 10$ . Ukoliko je to mlijeko upakirano u pakovine od 1 l tada će 1/1000 moći sadržavati spore koje su preživjele i zbog toga imati povećanu mogućnost bakterijskog kvarenja.

Neke Gram –negativne bakterije koje su uobičajeno prisutne u sirovom mlijeku, kao što su *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* i *Serratia*, proizvode enzime stabilne na temperaturu koji mogu preživjeti UHT proces i negativno utjecati na kvalitetu procesiranja (Mottar, 1989). Enzimi koji utječu na kvalitetu UHT mlijeka uključuju izvanstanične proteinaze i lipaze. Kako bi se smanjio rizik od štetnog djelovanja procesa, Burton (1988) predlaže da broj bakterija u sirovom mlijeku bude ispod  $5 \times 10^5$  cfu/ml prije procesiranja.

## Organizmi indikatori

Kako bi se procijenila mikrobiološka sigurnost hrane u odnosu na patogene mikroorganizme, koriste se pretrage na grupe mikroorganizama koji se jednostavnije uzgoje i prebroje, a čija prisutnost može ukazivati na prisustvo patogenih ili štetnih mikroorganizama, tj. ukazivati na postojanje uvjeta koji podržavaju njihov rast. Te pretrage obično se nazivaju pretrage indikator organizama.

Osim toga, indikator organizmi se koriste za procjenu higijene hrane. **Njihovo prisustvo u hranu upućuje na mogućnost prisustva patogena porijeklom iz crijeva, tj. to znači da su rezultat direktne ili indirektno fekalne kontaminacije.**

Glavni razlog korištenja indikator organizama je otkriti uvjete prerade proizvoda koji mogu ukazivati na potencijalne opasnosti koja nije nužno prisutna u uzorku koji se pretražuje, ali bi mogla biti prisutna u paralelnom uzorku od tog proizvoda i na taj se način procjenjuju uvjeti procesa kojima je hrana izložena tijekom proizvodnje.

**Većina procesirane hrane može se smatrati štetnom za zdravlje ukoliko ima veliki broj mikroorganizama iako se oni i ne ubrajaju u patogene.** Razlog tome je što je prisutnost velikog broja mikroorganizama u hrani s dugim rokom trajanja pokazatelj jako kontaminirane ulazne sirovine čime se taj proizvod čini lakše kvarljivim, ali može biti i pokazatelj neadekvatnih uvjeta pohrane u odnosu na temperaturu i duljinu roka trajnosti. Nadalje, zabilježeni su slučajevi da su neke mezofilne bakterije, koje se inače ne dovode u vezu s bolestima koje se prenose hranom, izazivale bolest u ljudi jer su bile prisutne u velikom broju. Osim toga, svi poznati patogeni koji se prenose hranom i koji su mezofili činit će ukupni broj aerobnih mezofilnih bakterija.

U proizvodima kao što su mlijeko i neki drugi fermentirani proizvodi, broj aerobnih mezofilnih bakterija mora se oprezno procjenjivati jer oni imaju prirodno povećanu mikrofloru.

Prilikom procjene sigurnosti proizvoda broj aerobnih mezofilnih bakterija može se koristiti kao kriterij za donošenje zaključka o kvaliteti proizvodnog procesa. Ukoliko je broj aerobnih mezofilnih bakterija visok ili jako varira među uzorcima istog lota, može se zaključiti da je tijekom proizvodnog procesa ili transporta mikrobiološka kontrola bila neprimjerena.

Razlozi koji mogu dovesti do povećanog broja aerobnih mezofilnih bakterija mogu biti sljedeći:

- Nedovoljno čišćenje i sanitacija opreme za preradu mlijeka prije i nakon proizvodnog procesa
- Neprimjeren tehnološki postupak (preniska temperatura ili prekratko vrijeme izloženosti)
- Neprimjerena temperatura hlađenja mlijeka i/ili održavanje hladnog lanca nakon proizvodnje
- Sekundarna kontaminacija mlijeka preko ruku/vode za vrijeme proizvodnog procesa, pakovina i kontaminacija iz okoliša (npr. prašina).
- Jako kontaminirana ulazna sirovina – mlijeko s velikim brojem mikroorganizama (mastitis) ili staro mlijeko

**Radovi o kontaminaciji UHT mlijeka govore i o mogućnosti višestrukog povećavanja broja aerobnih mezofilnih bakterija tijekom roka trajanja proizvoda.** Tako su Hassan i sur. (2009) u UHT mlijeku u kojem je prvog dana utvrđeno 1,06 cfu/ml, nakon 30 dana utvrdili 2,9 cfu/ml.

**Prema dostupnim podacima u literaturi potvrđuje se činjenica kako postupak UHT termičke obrade mlijeka kao cilj podrazumijeva uništenje sve patogenih i sporogenih mikroorganizama, kao i mikroorganizama koji se svrstavaju u grupu indikatora odnosno uništavanje aerobnih mezofilnih bakterija.** To je bilo regulirano u propisima EU, u Direktivi 92/46/EEC, prema kojoj je UHT i sterilizirano mlijeko moralo zadovoljiti mikrobiološki kriterij za ukupan broj 10 cfu/0,1 ml nakon inkubacije na 30°C kroz 15 dana, a koji je djelomično obuhvaćen i trenutno važećom legislativom, EC Regulation 853/2004, koja sadrži zahtjeve za termički obrađeno UHT mlijeko, ali ne u uobičajenom obliku mikrobioloških kriterija, **već u smislu da se termička obrada treba provesti na način da se osigura uništenje mikroorganizama ili spora koji mogu rasti u proizvodu ukoliko je on upakiran u aseptičkim uvjetima i pohranjen na sobnoj temperaturi.** Mikrobiološka stabilnost se provjerava inkubacijom na 30°C kroz 15 dana ili 7 dana na 55° C.

**U prilog mikrobiološkoj stabilnosti UHT mlijeka govore i radovi o UHT mlijeku iz različitih dijelova svijeta, prema kojima UHT mlijeko ne sadrži aerobne mezofilne bakterije.** Tako u istraživanju Abiba i sur. (2009) od 40 uzoraka UHT mlijeka od 4 različita proizvođača niti jedan uzorak nije sadržavao bakterije (Total plate count/cfu/ml < 1). Iste rezultate za UHT mlijeko dobili su i Hossain i sur. (2011). Rezultati koji su dobiveni u Nacionalnoj studiji o mikrobiološkoj kvaliteti i termičkom procesiranju kravljeg mlijeka provedenom u Velikoj Britaniji, niti u jednom uzorku u UHT mlijeku nije utvrđeno > 1 cfu/ml aerobnih mezofilnih bakterija (ACM/499, 2000). Prema istraživanja Neuman i sur. (2010) niti jedan uzorak UHT mlijeka nije prelazio 10<sup>2</sup> cfu/ml koliko je dozvoljeno u skladu s propisima u Brazilu. Tekinsen i sur. (2007) u uzorku od 75 uzoraka UHT mlijeka od 5 različitih proizvođača u 2 uzorka od istog proizvođača pronađena je kontaminacija s aerobnim mezofilnima te je u većem uzorku iznosila 2x10<sup>2</sup> cfu/ml. U Mađarskoj postoje mikrobiološki referentni kriteriji koji za UHT mlijeko iznose: ukupni broj (total plate count) 10 cfu/0,1 g. U skladu s tim u istraživanje čije je rezultate iznio Varga (2007), niti u jednom uzorku UHT mlijeka nije pronađena nedozvoljena kontaminacija >10/0,1 g CFU u trenutku kupovine, ali je u 10 % uzoraka na kraju roka trajanja cfu/ g prešao dozvoljeni prag od 10 cfu/0,1 g.

Osim mogućeg štetnog utjecaja na zdravlje, Perko (2011) navodi **utjecaj na promjenu kvalitete UHT mlijeka** ukoliko je prije tehnološkog postupka termičke obrade broj aerobnih mezofilnih bakterija bio 5,9 cfu/ml, te bi u tom slučaju **geliranje** mlijeka nastupilo nakon 20 tjedana pohrane, a kod inicijalne kontaminacije od 6,9 do 7,2 cfu/ml, **geliranje** nastupa nakon

2-10 tjedana, uz **stupnjevan razvoj gubitka svježine, lagane ustajalosti, nečistoća i gorkog okusa.**

## **Zaključak**

Postupak za dobivanje UHT mlijeka varira od zemlje do zemlje, ali se preporuča temperatura od 130 do 150° C i vrijeme zadržavanja 1 sekunda ili dulje. Uobičajeno se primjenjuje vrijeme zadržavanja 2-8 sekundi.

**Prema dostupnim podacima u literaturi postupak UHT termičke obrade mlijeka kao cilj podrazumijeva uništenje patogenih i spороgenih mikroorganizama, kao i mikroorganizama koji se svrstavaju u grupu indikatora, odnosno uništavanje i aerobnih mezofilnih bakterija.**

Prisutnost velikog broja mikroorganizama u hrani s dugim rokom trajanja pokazatelj jako kontaminirane ulazne sirovine čime se taj proizvod čini lakše kvarljivim, ali može biti i pokazatelj neadekvatnih uvjeta pohrane u odnosu na temperaturu i duljinu roka trajnosti, kao i neadekvatnog procesa toplinskog tretmana hrane u svrhu produljenja roka trajnosti hrane.

Zabilježeni su slučajevi da su neke mezofilne bakterije, koje se inače ne dovode u vezu s bolestima koje se prenose hranom, izazivale bolest u ljudi jer su bile prisutne u velikom broju te se stoga može smatrati da ovakvi proizvodi imaju rizik za zdravlje potrošača.

Prema EU Direktivi 92/46/EEC UHT i sterilizirano mlijeko mora zadovoljiti mikrobiološki kriterij za ukupan broj 10 cfu/0,1 ml nakon inkubacije na 30 °C kroz 15 dana. Ovaj kriterij je djelomično obuhvaćen i trenutno važećom legislativom Europske komisije, Regulation 853/2004, koja sadrži zahtjeve za termički obrađeno UHT mlijeko, ali ne obliku mikrobioloških kriterija, **već u smislu da se termička obrada treba provesti na način da se osigura uništenje mikroorganizama ili spora koji mogu rasti u proizvodu ukoliko je on upakiran u aseptičkim uvjetima i pohranjen na sobnoj temperaturi.** Mikrobiološka stabilnost se provjerava inkubacijom na 30 °C kroz 15 dana ili 7 dana na 55 °C.

## Literatura

Abid, H., Ali, J., Waqas, M., Anwar, Y., Ullah, J. (2009) Microbial Quality Assessment Study of Branded and Unbranded Milk Sold in Peshawar City, Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition*. (5): 704-709.

ACM/499 (2000) Advisory committee on the microbiological safety of food: summary of microbiological results from the national study of the microbiological quality and heat processing of cows' milk. Velika Britanija. December 2000. Microbiological Safety Division.

Burton, H. 1988. Properties of UHT-processed milk. Page 268 in *Ultra-high-temperature processing of milk and milk products*. Elsevier Applied Science, London.

EC Regulation 853/2004. Zadnji posjet stranici 11.04.2013.

<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0853:20120701:EN:PDF>

Hassan, N. B. A., Abdalla, M. O. M., Nour, A. A. A. M. (2009) Microbiological Quality of Heat-Treated Milk During Storage. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8(12): 1845-1848.

Hinrichs, J. i Kessler, A. G. (1995) Thermal processing of milk – processes and equipment. In *Heat-Included Changes in Milk*, 2nd edn. Ed. Fox, P. F. pp. 9-21. Brussels: International Dairy Federation.

Hossain, T. J., Alam, M. K., Sikdar, D. (2011) Chemical and Microbiological Quality Assessment of Raw and Processed Liquid Market Milks of Bangladesh. *Continental J. Food Science and Technology* 5 (2): 6 – 17.

Jay, J. M. (1996) *Modern food microbiology*.

Mehta, R. S. 1980. Milk processed at ultra-high-temperature: A review. *J. Food Prot.* 43:212–810.

Mottar, J., Bassier, A., Joniau, M. & Baert, J. 1989 Effect of heat induced association of whey proteins and caseins micelles on yogurt texture. *Journal of Dairy Science* 72 2247±2256

Neumann, F. D., Salvatori, R. U. Majolo, C., Fröder, H. (2010) Occurrence of *Bacillus sporothermodurans* in UHT Milk Commercialized in the State of Rio Grande Do Sul, Brasil. *Global Vererinaria*. 4(2): 156-159.

Perko, B. (2011) Microbiological quality of raw milk. *Mljekarstvo*. 61 (2): 114-124.

Robinson, Richard K. (2005) *Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products*. John Wiley & Sons.

Tekinsen, K. K., Elmali, M., Ulukanli, Z. (2007) Microbiological Quality of UHT Milk Consumed in Turkey. *Internet Journal of Food Safety*.7: 45-48.

Varga, L. (2007) Microbiological quality of commercial dairy products. Stranice: 487-494.  
©FORMATEX 2007.