

WIESŁAW GLIŃSKI

Próba ujęcia mikrobiologicznych kryteriów oceny masła w aspekcie sanitarnym

Z Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej i Miejskiego Zakładu Weterynarii w Łodzi

Wymienione w tytule zagadnienie nie jest dotychczas opracowane i brak jest państwowej lub nawet resortowej mikrobiologicznej normy dla masła, co stwarza służbie sanitarnej trudności w ocenie tego produktu.

Cel badania mikrobiologicznego

Laboratoria mleczarskie przeprowadzają badania mikrobiologiczne dla oceny jakości i ustalenia powiązania przyczynowego między wadami masła, a występującą w nich mikroflorą oraz przydatnością masła do przechowywania.

Służbie sanitarnej natomiast zależy przede wszystkim na uzyskaniu wyników badań będących podstawą dla wydania oceny: czy produkt nadaje się do spożycia, czy wyprodukowany został przy zachowaniu należytej czystości. Wynika to z charakteru pracy placówek sanitarnych, które swą działalność opierają na obowiązujących przepisach prawa żywnościowego; na tym też polega zasadnicza różnica w badaniach laboratoriów resortowych przemysłu mleczarskiego i laboratoriów Inspekcji Sanitarnej.

Aby jednak wyniki mogły być właściwie interpretowane i wykorzystane, muszą być ustalone pewne zasadnicze kryteria oceny masła, które następnie muszą przyjąć formę aktu prawnego w postaci normy, ewentualnie uzupełnienia obowiązującego rozporządzenia o dozorze nad mlekiem i jego przetworami.

Specyfika mikroflory i procesy mikrobiologiczne w maśle

Drobnoustroje występujące w maśle są dość różnorodne. I tak spotykamy: typowe bakterie kwasu mlekowego, pałeczki okrężnicy, drożdże, pleśnie, drobnoustroje kazeolityczne, drobnoustroje lipolityczne, drobnoustroje gnilne, wytwarzające siarkowódor, gronkowce.

Badanie mikrobiologiczne masła ze względu na różnorodną mikroflorę nie jest łatwe. Stosowane podłoże musi cechować dużą wybiórczość. Niekiedy bywa jednak tak, że drobnoustroje powodujące pewne zmiany czy wady w maśle giną przedwcześnie i badanie mikrobiologiczne nie wykazuje ich obecności; trudno jest więc wskazać w takim przypadku istotną przyczynę zmian. Obecność kwasu masłowego i kapronowego działa na bakterie toksyczne, a przewaga kultur kwasu mlekowego przez nie wytwarzane wywierają wpływ zdecydowanie hamujący wzrost. Trudno też uzależnić jakość masła od ilości występujących w nim drobnoustrojów, nie mówiąc już o tym, że cały szereg wad ma podłoże chemiczne.

Z chwilą, gdy masło znajdzie się w korzystnej dla mikroflory temperaturze, wówczas bakterie, drożdże i pleśnie rozwijają swą działalność, która objawia się rozkładem i hydrolizą tłuszczu, rozkładem białka i w efekcie zmianą cech organoleptycznych produktu. W rozkładzie masła biorą udział następujące drobnoustroje: *Micrococcus*, *Sarcina*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacterium fluorescens*, *Bacterium prodigiosum*, pleśnie: *Oidium lactis*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Monilia* i *Torula*.

Pleśń należy do jednej z głównych wad dyskwalifikujących masło. Może ona przerastać bryłę albo też dawać plamy powierzchniowe barwy zielonej, czarnej, czerwonej, białej lub podobnych. Przyczyną zakażeń pleśnią jest brudne mleko i nie stosowanie pasteryzacji śmietanki, jak również zły stan sanitarny zakładu. Drożdże również nastroją wiele kłopotu, jeśli chodzi o jakość masła, gdyż wywołują fermentację alkoholową i nadają masłu zapach sfermentowany, drożdżowy i gorzki smak. Wprowadzane

są do masła głównie przez mleko, do którego dostają się z takich pasz, jak wywar gorzelniany, stęchłe liście buraczane, zle kiszonki itp.

Zmiany masła spowodowane działalnością drobnoustrojów

Zapach sfermentowany — jest dowodem działalności i rozwoju drożdży, szczególnie *Torula cremoris* i *Torula sphaerica*. Smak zjełczały — powodują bakterie lipolityczne; w wyniku hydrolizy tłuszczu powstaje kwas masłowy i kapronowy. Powodują to głównie: *Oospora lactis*, *Cladosporium butyricum*, *Pseudomonas fluorescens* i *Serratia marcescens*.

Jeżeli masło pochodzi ze śmietanki niepasteryzowanej, albo wykazuje ujemną próbę na skuteczność pasteryzacji wówczas pewne jest, że hydroliza tłuszczu przebiega pod wpływem enzymów.

Plamy barwne w maśle powodują pleśnie z rodzaju: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* i *Oospora*. I tak *Alternaria* posiadająca czarne strzępki daje czarne pola, *Cladosporium butyricum* — zielonobrazowe, *Penicillium* najczęściej glaucum powierzchniowe i głębsze zielonkawe plamy. Z bakterii czarne zabarwienie masła powoduje *Pseudomonas nigrificans*.

Zapach gnilny, na skutek rozkładu białek, powoduje *Pseudomonas putrefaciens*; na tę wadę masła należy szczególnie zwracać uwagę w przypadku używania masielnic drewnianych.

Bakterie chorobotwórcze w maśle

Chociaż masło rzadko jest przyczyną zachorowań, to jednak są doniesienia o występowaniu w maśle prątków gruźliczych, pałeczek duru brzuszego, jak również gronkowców chorobotwórczych.

Obecność żywych prątków gruźlicy stwierdzono w maśle jeszcze po 160 dniach przechowywania w temperaturze 15°C (*Shrooder i Cotton*). Pałeczki duru brzuszego w maśle przy temperaturze 10,5°C zachowują swą żywotność około kilku miesięcy.

Badania własne

Ogółem przebadano w 2 seriach 278 prób masła, pochodzących z 33 zakładów mleczarskich woj. łódzkiego.

W pierwszej serii przebadano 167 prób masła:
84 próby masła paczkowanego
55 prób pobranych bezpośrednio z masielnic
25 prób masła rynkowego z różnych targowisk
2 próby z beczek
1 próba ze ślimaka

W serii tej przebadano:
92 próby masła wyborowego
50 prób masła extra wyborowego
25 prób masła z wyrobu domowego.

Oznaczono: miano pałeczki okrężnicy, ogólną liczbę bakterii tlenowych w 1 ml plazmy i ilość drożdży i pleśni łącznie w 1 ml plazmy.

W drugiej serii obejmującej 111 prób poddano badaniu masło średnio w tydzień po produkcji pochodzące wyłącznie z zakładów mleczarskich (gatunki extra wyborowe i wyborowe). Mikrobiologicznie oznaczono: miano pałeczki okrężnicy, ilość pleśni w 1 ml plazmy masła, ilość drożdży w 1 ml plazmy masła i stosunek bakterii zakwaszających do pozostałych.

Ponieważ uzyskiwane wyniki badania nie dawały podstawy do rozgraniczeń gatunkowych, w tabelach ujęto je łącznie, z tym że miano coli zestawiono w odniesieniu do całości badań, a pozostałe oznaczenia ujęto oddzielnie.

Miano pałeczki okrężnicy

Miano coli	Ilość prób	%
> 1	89	32,01
1	46	16,5
0,1	49	17,6
0,01	34	12,2
0,001	26	9,3
0,0001	25	8,9
0,00001	7	2,5
0,000001	2	0,7

Bakterii tlenowych w 1 ml plazmy masła

Ilość od — do	Ilość prób	%
do 10 tysięcy	64	74,2
10 — 50 „	26	
50 — 100 „	11	
100 — 200 „	11	
200 — 300 „	6	
300 — 400 „	6	
400 — 500 „	3	
500 — 1 miliona	12	
1 — 5 „	13	
5 — 10 „	14	
17 „	1	76

Drożdży i pleśni łącznie w 1 ml plazmy masła

Ilość od — do	Ilość prób	%
do 100	39	80,8
100 — 500	23	
500 — 1000	16	
1 — 2 tysięcy	14	
2 — 3 „	13	
3 — 5 „	11	
5 — 10 „	9	
10 — 15 „	9	
15 — 20 „	5	
20 — 30 „	4	
30 — 50 „	8	
50 — 100 „	5	
100 — 200 „	6	
200 — 300 „	2	
300 — 800 „	3	masło rynkowe

Stosunek bakterii kwaszących do pozostałych tylko w 10 przypadkach odbiegał od stanu równowagi (od 50%), co stanowi 9% ogólnej ilości poddanych temu badaniu prób.

W 9 przypadkach prób pochodzących z zakładów mleczarskich stwierdzono nieskuteczność pasteryzacji, co potwierdzono badaniami mikrobiologicznymi.

Brano również pod uwagę cechy organoleptyczne, a mianowicie smak i zapach, barwę, strukturę i konsystencję. Stwierdzano według smaku i zapachu (metaliczny, olejowy, mlekowy, przypalony, kwaśny, drażący, popasteryzacyjny, popaszowy, sfermentowany, drożdżowy itd.).

W przeciwieństwie do smaku i zapachu barwa masła prawie zawsze była w normie, również struktura

Pleśni w 1 ml plazmy masła

Ilość od — do	Ilość prób	%
Nie wychodowano	36	90,9
kilka do 100	12	
100 — 200	7	
200 — 300	5	
300 — 400	9	
400 — 500	4	
500 — 1000	9	
1 — 2 tysięcy	7	
2 — 3 „	5	
3 — 5 „	7	
5 — 10 „	4	
10 — 20 „	3	
20 — 56 „	3	

Drożdży w 1 ml plazmy masła

Ilość od — do	Ilość prób	%
Kilka — 500	8	81,9
500 — 1000	15	
1 — 2 tysięcy	12	
2 — 3 „	7	
3 — 5 „	17	
5 — 10 „	21	
10 — 20 „	11	
20 — 30 „	14	
30 — 50 „	3	
50 — 60 „	1	
60 — 70 „	1	94
120 „	1	

i konsystencja okazała się prawidłowa w 76,5% przypadków, w pozostałych próbach — 23,5% stwierdzono wolną wodę.

W uzupełnieniu wyników mikrobiologicznych okazało się, że % wody wahał się we wszystkich próbach od 14,6—16,5%, kwasowość plazmy we wszystkich próbach od 1,5—7,5° S. H., liczba jodowa we wszystkich próbach od 27—31.

Omówienie

Kalinowski i Hattowska uważają, że w masle wyprodukowanym ze śmietanki pasteryzowanej nie powinny występować pałeczki okrężnicy, a drożdże i pleśnie nie powinny być obecne w masle pasteryzowanym dobrej jakości.

Obecność tych ostatnich z reguły świadczy o wtórnym zakażeniu, albo niedostatecznej pasteryzacji.

Burbianka i Pliszkowa podają, że ilość pleśni i drożdży w masle nie powinna przekraczać 20 kolonii w przeliczeniu na 1 ml masła. Macy dzieli masło pod tym względem na 4 klasy:

- A — poniżej 10 kolonii (bardzo dobry wyrób)
- B — 11—50 kolonii
- C — 51—100 kolonii
- D — powyżej 101 kolonii (poważne zastrzeżenia).

Jest to jednak raczej wskaźnikiem stanu higienicznego zakładu, a nie jakości i trwałości masła.

Opinie o roli drożdży w masle, są podzielone. Weyssyer jest zdania, że nie powodują one zbyt wielkich zmian smakowych i są dowodem zakażeń wtórnych.

Wg Orla-Jensena niektóre gatunki drożdży w obecności kwasu mlekowego mogą powodować hydrolizę tłuszczu. Proces może również przebiegać, przy udziale samych tylko drożdży. Specyficzny smak i zapach

masła przypisuje się drożdżom fermentującym laktozę.

W badaniach radzieckich wykazano dodatni wpływ pewnych ras drożdży (z rodzaju *Torula*) na jakość i trwałość masła powodujących obniżenie potencjału ocydoredukcyjnego w masle oraz zapobieganie procesom ocydacyjnym tłuszczu. Ponadto obecność tych gatunków drożdży wpływa prawdopodobnie hamująco na rozwój pleśni i bakterii proteolitycznych i lipolitycznych.

Ostatnie prace *Hattowskiej* i *Kalinowskiego* w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Mleczarskiego wyrażają jednak twierdzenie, że wpływ zakażeń masła drożdżami i pleśniami jest zdecydowanie ujemny i widoczny.

Ilość, jakość i rozwój drobnoustrojów w masle uzależnione są od stanu higienicznego mleka, sposobu pasteryzacji i zakażeń wtórnych.

Wielu autorów nie stwierdza korelacji pomiędzy jakością masła a ilością drobnoustrojów, niemniej jednak trwałe masło może być tylko takie, które nie zawiera dużej ilości drobnoustrojów z wyjątkiem bakterii czystej fermentacji mlekowej. Aktywność mikroflory ulega zmianom nie tylko pod wpływem działania innych bakterii, ale także pod wpływem czynników fizykochemicznych jak temperatura, powietrze, kwasowość środowiska, stężenie soli itp. Rolę dominującą odgrywają: kwasowość plazmy, zawartość soli żelaza, miedzi i manganu. Istniejące oceny trwałości masła można podzielić na trzy grupy:

I. Przyjmujące za zasadnicze i ostateczne kryterium jedno oznaczenie, np. mikroskopowe określenie stopnia rozproszenia kropeł wody (*Mohr*), określenie stopnia utleniania i rozkładu tłuszczu po określonym czasie ogrzewania (*Zajkowski*, *Korskowa*, *Rjabuszkowa*) i cały szereg innych propozycji fizykochemicznych traktowanych pojedynczo.

II. Oznaczenia fizykochemiczne i mikrobiologiczne (*Ichow*, *Brio*). Wachlarz oznaczeń jest nieco szerszy. I tak przeprowadza się badania w kierunku określenia:

1. ogólnej ilości drobnoustrojów
2. obecności drobnoustrojów rozpuszczających żelatynę
3. skłonności do pleśnienia
4. próby reduktazowej
5. próby na katalazę
6. próby fermentacyjnej
7. liczby tlenków
8. ketonów
9. kwasowości (pH)
10. rozmieszczenia wody itd.

III. Próby specjalne zmierzające do ustalenia prędkości zmian zachodzących w próbce masła przechowywanej w określonej temperaturze przez określony czas (termostatowanie) — przyspieszenie zmian biochemicznych i mikrobiologicznych.

Cały szereg autorów stosował termostatowanie i badanie po nim, żaden jednak nie stwierdza konkretnie, jaki moment, jakie kryterium przyjąć za pewnik do oceny trwałości masła.

Podjęte w tym kierunku prace w Instytucie Przemysłu Mleczarskiego wykazały, że największe znaczenie przy określaniu trwałości masła ma liczba nadtlenkowa, jak również, że masło zakażone w poważniejszym stopniu mikroflorą nietypową jest nie-trwałe, chociaż nie jest to warunek jedyny gwarantujący trwałość tego produktu.

Co do wskaźników mikrobiologicznych ustalanych pod kątem oceny trwałości masła, to są proponowane:

1. drobnoustroje niekwaszące — 5 mil./1 g masła
2. drobnoustroje kazeolityczne — 50 tys./1 g masła
3. ilość pleśni i drożdży — 2 tys./1 g masła
4. drobnoustroje wytwarzające siarkowodor — niedopuszczalne
5. miano coli > 0,1
6. bakterie kwaszące — tolerancyjnie.

Centralny Zarząd Związku Spółdzielni Mleczarskich wymaga od poszczególnych okręgowych zarządów Z.S.M. sprawozdań z kwartalnych okręgowych ocen produktów mleczarskich. W oparciu o uzyskane w ten sposób materiały ustala pewne ramowe wytyczne oceny jakości wszystkich produktów mleczarskich.

W latach 1960/61 w pionie mleczarskim przyjęto następujące mikrobiologiczne kryteria klasyfikacji masła:

Gatunek masła	Miano coli	Ilość pleśni w 1 ml	Ilość drożdży w 1 ml	Bakterie kwaszące
1. Masło exportowe	> 0,1	300	5.000	tolerancyjnie
2. Masło extra wyborowe	> 0,1	1.000	10.000	„
3. Masło wyborowe	> 0,1	2.000	20.000	„

Wnioski

Biorąc pod uwagę aktualne przeciętne warunki wyrobu masła w zakładach mleczarskich, jak i wyniki badań własnych należy stwierdzić, że kryteria te są dosyć ostre; świadczy też o tym fakt dyskwalifikacji kwartalnych ponad 50% prób masła. Niemniej jednak mając na uwadze podniesienie jakości produktu i stanu sanitarnego zakładów mleczarskich proponując przyjąć następujące kryteria oceny sanitarnej masła:

Miano coli powyżej > 0,1.

Ilość pleśni, do 1 000 w 1 ml plazmy masła

Ilość drożdży do 10 000 w 1 ml plazmy masła

drobnoustroje niekwaszące: do 5 000 000 w 1 ml

plazmy masła

drobnoustroje kazeolityczne do 50 000 w 1 ml

plazmy masła

bakterie kwaszące — tolerancyjnie

drobnoustroje wytwarzające siarkowodor — nie-

puszczalne

bakterie chorobotwórcze — niedopuszczalne

Piśmiennictwo

1. *Pijanowski*: Dział w zeszytach problemowych PAN, PWN Warszawa — 1955.
2. *Pijanowski*: Przegląd Mleczarski — 1955 tom 3 m-c 2—3 s. 4.
3. *J. Cesul*: Technologia Mleczarstwa, PWR i LL, Warszawa — 1955.
4. *Kalinowski*, *Hattowska*: Badania mikrobiologiczne w przemyśle mleczarskim, WFL i S Warszawa — 1956.
5. Norma IPM: Masło, metody badań mikrobiologicznych — projekt 1957.
6. Prace Instytutu Przemysłu Mleczarskiego Nr 2/1956, 3/1959, 2/1960.
7. *Burbińska*, *Pliszkowa*: Mikrobiologiczne badania produktów żywnościowych PZWL Warszawa — 1957.

Adres autora: Wiesław Gliński, Łódź, ul. Piotrkowska 36/39.

POPA AL.: Badania nad wrażliwością 27 szczepów *Bacillus larvae* z różnych okolic kraju na działanie sulfatiazolu. (Cercetari asupra sensibilitatii fata de sulfatiazol a 27 tulpini de *Bacillus larvae*, din diferite regiuni ale tarii). Lucr. Stiintifice Stat. Centr. de Cercetari pentru Sericicultura si Apicultura, t. II, 1960, Bukareszt.

Zasadniczo spośród 27 badanych szczepów tylko jeden wykazał różnicę we wrażliwości na działanie sulfatiazolu. Sulfatiazol hamuje rozwój *B. larvae* w rozcieńczeniach do 10^{-3} (1%). Ogrzanie zawiesiny uzyskanej z materiału patologicznego do temperatury 80° pozwala na uzyskanie *B. larvae* w stanie czystym. Lecznico i zapobiegawczo zaleca się stosowanie sulfatiazolu w rozcieńczeniu 1‰ z równoczesnym zastosowaniem środków higienicznych.

M. Bohosiewicz