



ПРАКТИКУМ



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Проф. др Марија Пајић



# ХИГИЈЕНА МЛЕКА

ПРАКТИКУМ

ХИГИЈЕНА МЛЕКА





# **ХИГИЈЕНА МЛЕКА - ПРАКТИКУМ**

Проф. др Марија Пајић



ПОЉОПРИВРЕДНИ  
ФАКУЛТЕТ  
УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ  
ДЕПАРТМАН ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ**

---

**Нови Сад 2024.**

## **ЕДИЦИЈА ПОМОЋНИ УЦБЕНИК**

### **Оснивач и издавач едиције**

Универзитет у Новом Саду  
Пољопривредни факултет Нови Сад  
Нови Сад, Трг Доситеја Обрадовића 8

### **Година оснивања**

**1954.**

### **Главни и одговорни уредник едиције**

Др Ненад Магазин, редовни професор  
Декан Пољопривредног факултета Нови Сад

### **Чланови комисије за издавачку делатност**

Др Бранислав Влаховић, редовни професор - председник  
Др Ивана Давидов, редовни професор - члан  
Др Ксенија Мачкић, ванредни професор - члан  
Др Дејан Беуковић, доцент - члан

CIP - Каталогизација у публикацији  
Библиотека Матице српске, Нови Сад

UDK

ISBN 978-86-7520-617-0



**Аутор**

Др Марија Пајић, ванредни професор

**Главни и одговорни уредник**

Др Ненад Магазин, редовни професор  
Декан Пољопривредног факултета Нови Сад

**Уредник**

Др Иван Станчић, редовни професор  
Директор Департмана за ветеринарску медицину  
Пољопривредни факултет Нови Сад

**Дигитална илустрација на корицама**

Анастасија Мајсторовић, дипломирани графички дизајнер

**Рецензенти**

Др Бојан Благојевић, редовни професор  
Универзитет у Новом Саду  
Пољопривредни факултет Нови Сад

Др Љиљана Куруца, ванредни професор  
Универзитет у Новом Саду  
Пољопривредни факултет Нови Сад

Др Радослава Савић Радовановић, ванредни професор  
Универзитет у Београду  
Факултет ветеринарске медицине

**Издавач**

Универзитет у Новом Саду  
Пољопривредни факултет Нови Сад

Забрањено прештампавање и фотокопирање. Сва права задржава издавач.

Штампа:

Штампање одобрила: Комисија за издавачку делатност

Тираж:

Место и година штампања:



## ПРЕДГОВОР

Помоћни уџбеник, Хигијена млека – практикум, пре свега је намењен студентима студијског програма Ветеринарске медицине током похађања практичне наставе у области предмета Хигијена млека, као и за припрему дела испита из наведеног предмета.

Практикум садржи 15 поглавља чији је садржај усклађен са програмом практичне наставе на предмету Хигијена млека.

Осмишљен је као **дневник практичног рада**, обухвата практичан рад у лабораторији, али и на терену, као и теоријски део који је неопходан за разумевање и извођење практичаних вежби. Након сваког поглавља дати су и задаци са потпитањима и остављен је простор да студенти упишу своје одговоре и запажања, што осим за проверу знања студената служи и да студентима омогући да боље разумеју и лакше савладају градиво.

На крају практикума, у оквиру поглавља Прилози, дате су фотографије (прибора, инструмената, уређаја и анализа) како би се студентима олакшало сналажење у лабораторији и на терену.

Овај помоћни уџбеник могу користити и студенти сродних студијских програма као допунску литературу, али и ветеринари и ветеринарски инспектори који раде у млекарима, као и сви стручњаци који су укључени у развој и функционисање система квалитета и безбедности млека и производа од млека, као подсетник у свакодневном раду.

Аутор







**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ  
Департман за ветеринарску медицину**

---

---

## **ХИГИЈЕНА МЛЕКА ПРАКТИКУМ**

---

**Школска година:**

**Име и презиме:**

**Број индекса:**

**Нови Сад**

---



## САДРЖАЈ

Број вежбе	Назив вежбе	Страна	Датум	Овера / Напомена
1.	Увод: Морфологија млечне жлезде и физиологија лактације	1		
2.	Дефиниције млека Органолептички преглед млека	6		
3.	Квалитет и састав млека Правилник Узорци	9		
4.	Одређивање киселости и свежине млека	19		
5.	Сува материја и млечна маст Ензими у млеку	23		
6.	Доказивање фалсификовања млека водом	28		
7.	Утврђивање поремећаја у секрецији млека Соматске ћелије у млеку	31		
8.	Узимање узорака млека за микробиолошки преглед	36		
9.	Методe за одређивање укупног број бактерија у млеку	39		
10.	Патогене бактерије и резидуе ветеринарских лекова у млеку	44		
11.	Производи од млека –преглед Правилници	48		
12.	Стартер културе Јачина сирила Биотест	52		
13.	Посета лабораторији за испитивање квалитета млека	55		
14.	Организација поступка са млеком и применом НАССР система у млекари	57		
15.	Хигијенска контрола млекарске опреме и судова	62		







## 1. Увод

### Морфологија млечне жлезде и физиологија лактације (подсећање)

Млечна жлезда (*glandula lactifera; glandula mammaria*) је кожна жлезда тубуло-алвеоларног типа са апокриним лучењем, орган карактеристичан само за сисаре и представља део репродуктивног апарата. О морфологији млечне жлезде видети више у литератури из анатомије и хистологије.

**Лактација** је процес стварања и излучивања млека и представља последњи чин процеса репродукције. Процес покретања секреције млека назива се **лактогенеза**, а континуирана секреција млека **галактопоеза**. У последњој фази гравидитета жлездане епителне ћелије се диференцирају у функционално активне секреторне ћелије.

Код неких врста животиња лучење млека почиње пред сам крај гравидитета, а код других у време и после порађаја. То прво млеко назива се **колострум** и разликује се по саставу од правог (обичног) млека. **Колострум** у односу на право млеко, садржи већу количину протеина, млечне масти и минералних материја. Поред хранљивих материја, у колостралном млеку налазе се имуноглобулини, антитела неопходна за стварање природног пасивног имунитета младунаца у првим данима живота.

Стварање млека у вимену је континуиран процес. Млеко се ствара у алвеолама вимена, које се пуне и притисак у њима расте. Само правилним поступцима (масажа, прање топлем водом у којој је дезинфицијенс, брисање вимена) постиже се стимулисање вимена и истискивање млека из алвеола. При правилној стимулацији, уз **окситоцин** који омогућава спуштање млека у цистерну вимена, излучује се и хормон **пролактин**, који утиче на трајање лактације, чиме је још већи значај правилног поступања са музним животињама.

**Рефлекс ејекције млека** је неуроендокрини рефлекс који стимулише пражњење млечних жлезда. У кожи вимена и сиса налазе се нервни завршеци сензитивни на додир и аферентна нервна влакна која преносе сигнале у кичмену мождину. Нервни импулси настају када младунци стимулишу рецепторе за додир на кожи вимена или масажом у току прања вимена непосредно пре muže. Нервни сигнали се преносе кроз кичмену мождину до таламуса и хипоталамуса. Неуроендокрине ћелије паравентрикуларних и супраоптичких нуклеуса хипоталамуса синтетишу пептидни хормон окситоцин.

Окситоцин се у виду везикула транспортује дуж аксона до нервних завршетака у неурохипофизи, где се депонује. Стимулусом неуроендокриних ћелија окситоцин се ослобађа у крв у таласима од 2 до 10 минута и доводи до снажне стимулације миоепителних ћелија које својим контракцијама потискују млеко ка млечним цистернама.

Дејство окситоцина на млечне жлезде је комплексно:

- повећава притисак у алвеолама
- смањује отпор у малим екскреторним каналима
- смањује отпор у сисним каналима.

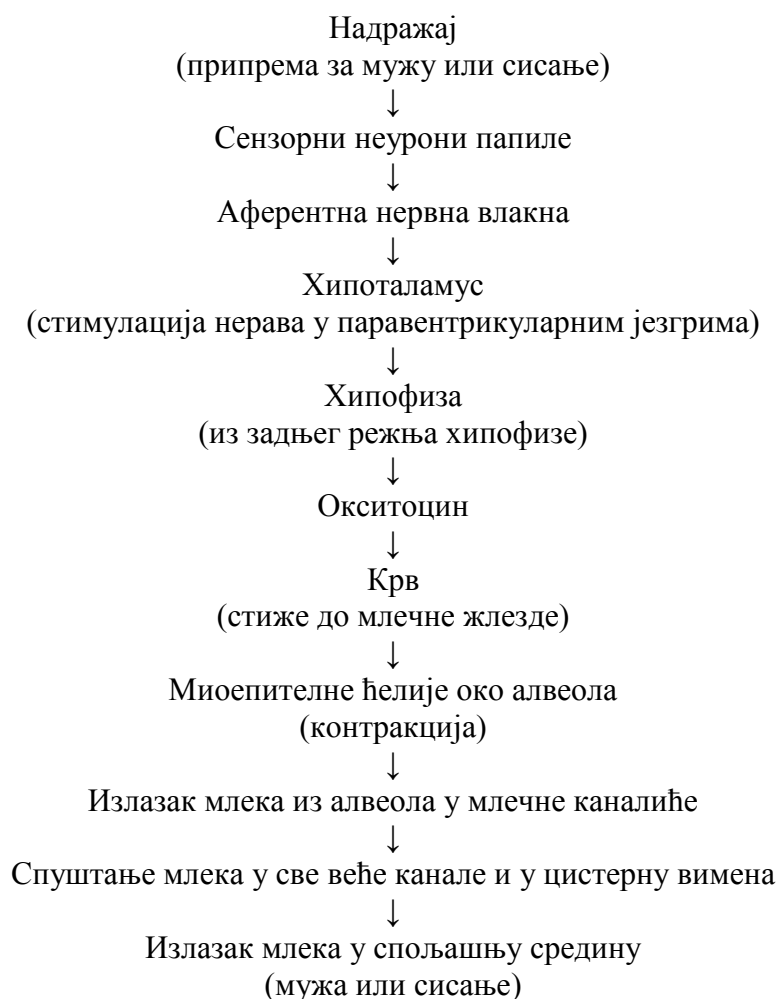
Окситоцин се везује за рецепторе на мембрани миоепителних ћелија које окружују алвеоле и зидове малих екскреторних канала. Ово везивање доводи до контракције миоепителних ћелија и последично до повећања притиска у лумену алвеола. У екскреторним каналима миоепителне ћелије су постављене дужином



осовине канала и контракциони таласи узрокују ширење и скраћивање лумена канала. Тиме се истовремено са порастом притиска у алвеолама смањује отпор у екскреторним каналима. Такође, окситоцин релаксира глатку мускулатуру сфинктера на врху сиса, смањује отпор у сисном каналу и повећава проток млека кроз канал. Од момента стимулације сиса до доласка импулса у хипоталамус, пренос неуроендокриног рефлекса за ејекцију млека траје једну секунду. Још једна секунда је потребна да би се окситоцин ослободио у крв и око 20 секунди да путем крвотока допре до вимена. У наредних неколико секунди миоепителне ћелије постижу максимални степен контракције и истискују млеко из алвеола. Због малог пречника екскреторних канала потребно је 20 – 30 секунди да се млечне цистерне испуне млеком. Хидростатички притисак који делује на млеко износи око 60 mm Hg. Укупно протекне 45 – 60 секунди од момента стимулације до формирања максималног притиска. Пад концентрације окситоцина у крви на ниво пре стимулације доводи до релаксације миоепителних ћелија и смањивања притиска у вимену.

Ефекат окситоцина је краткотрајан, јер релаксација миоепителних ћелија настаје 5 – 8 минута после стимулације. Због тога је веома важно, посебно код крава, почети мужу што пре, у првом минуту после стимулације. Могуће је и формирање условног рефлекса ејекције млека. Код крава у лактацији, визуелни и тактилни стимулуси сисања или муже индукују ослобађање окситоцина у циркулацију.

### Механизам ејекције млека



**Мужа** представља активност којом се из вимена животиње у лактацији истискује млеко. Може бити ручна и машинска. У случају ручне муже за измузање 1 L млека потребно је 120 – 200 стисака шаке.

Мужом се виме испразни, чиме се омогућује поновно стварање млека. Како се повећава притисак у цистерни сисе, *sphincter papillae* се отвара и млеко истиче. Ако је припрема за мужу неадекватна, тј. не постиже се добар стимулус за ејекцију млека, то може да доведе до скраћења периода лактације због ретенције млека у вимену.

До 25% млека обично остане у млечној жлезди и после муже. Сама мужа или само сисање могу да доведу само до пражњења цистерне и највећих млечних канала вимена. Заправо, сваки негативни притисак (вакуум) узрокује колапс канала и спречава пражњење алвеола и мањих канала. Дакле, крава мора активно, мада несвесно, да учествује у мужи да би се млеко из алвеола спустило у цистерне. То се постиже активном контракцијом миоепителних ћелија које окружују алвеоле. Овај поступак се назива ејекција или спуштање млека

Ако је непосредно пре или за време муже поступак груб, ако су изазвани страх и узнемиреност код краве, долази до излучивања **адреналина**, алвеоле се не стискају и млеко из њих не истиче. Мужа је непотпуна, а заостало млеко спречава стварање новог. Такви узастопни поступци доводе до засушивања краве.

Фазе рада при мужи:

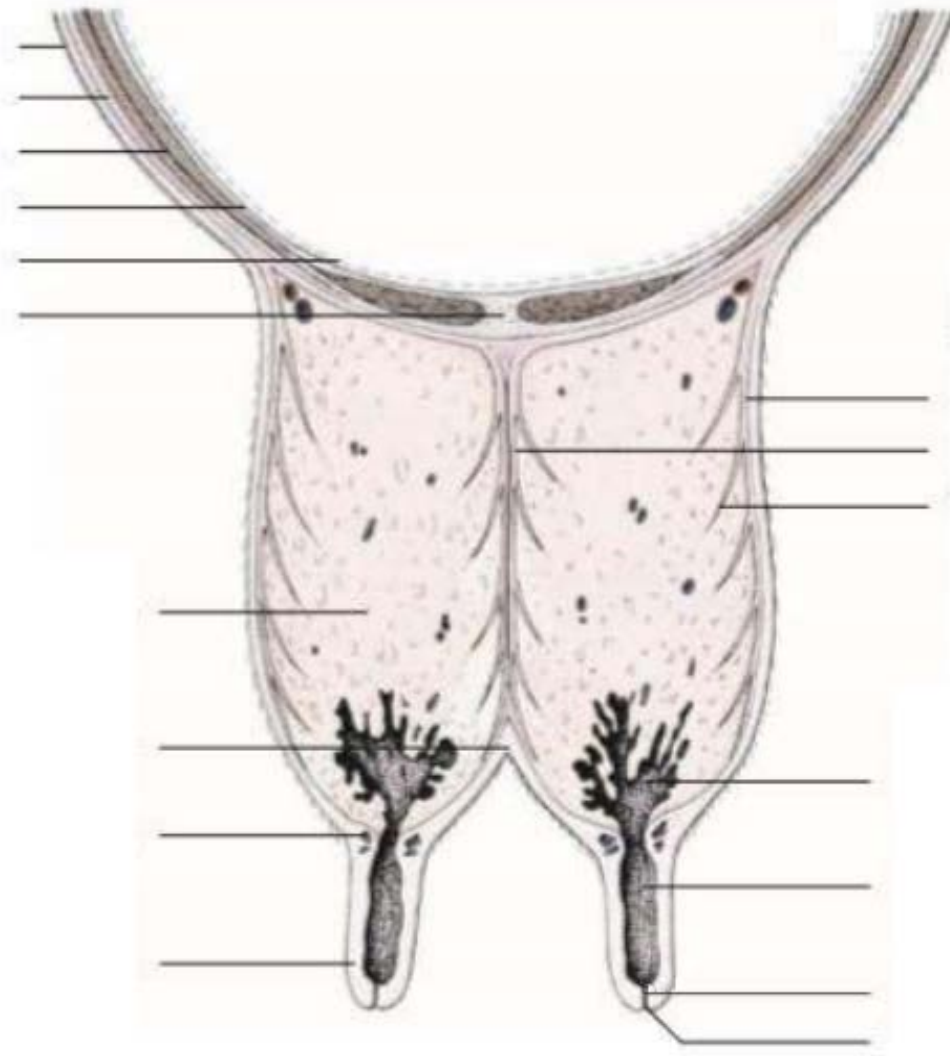
1. Стимулацијом се постиже уједно и припрема вимена у хигијенском погледу
2. После стимулације треба одмах приступити измузању и одбацивању првих млазева – тзв. **предмузна проба**. Музач измуза прве млазеве млека у посебну посуду и тиме врши контролу здравственог стања појединих четврти вимена – примећује промену боје или конзистенције млека. Осим тога, први млазеви млека представљају млеко из сисног канала, тј. на самом улазу у виме, које је зато и најзагађеније.
3. Након тога почиње мужа.
4. Након муже следи **измузавање**, тј. поновна масажа вимена и измузање преосталог млека

Потпуно пражњење вимена није могуће. У алвеолама и у каналићима на крају муже увек остаје одређена количина млека (тзв. **резидуално млеко**), које представља 10 – 30% од укупне количине млека (1 – 2 L, па и више) и до 50% од укупне количине млечне масти. То, резидуално, млеко треба разликовати од оног које се налази на крају муже у цистерни или у папилама и може да се помуже измузавањем / домузањем, а износи око 0,1 – 0,3 L.

Деловање окситоцина престаје након 7 – 8 минута, због чега правилна стимулација и брза мужа имају пресудан утицај на количину млека која ће се добити. Нпр. нестимулисане краве дају за 1/3 мање млека од правилно стимулираних краве.

## ЗАДАЦИ

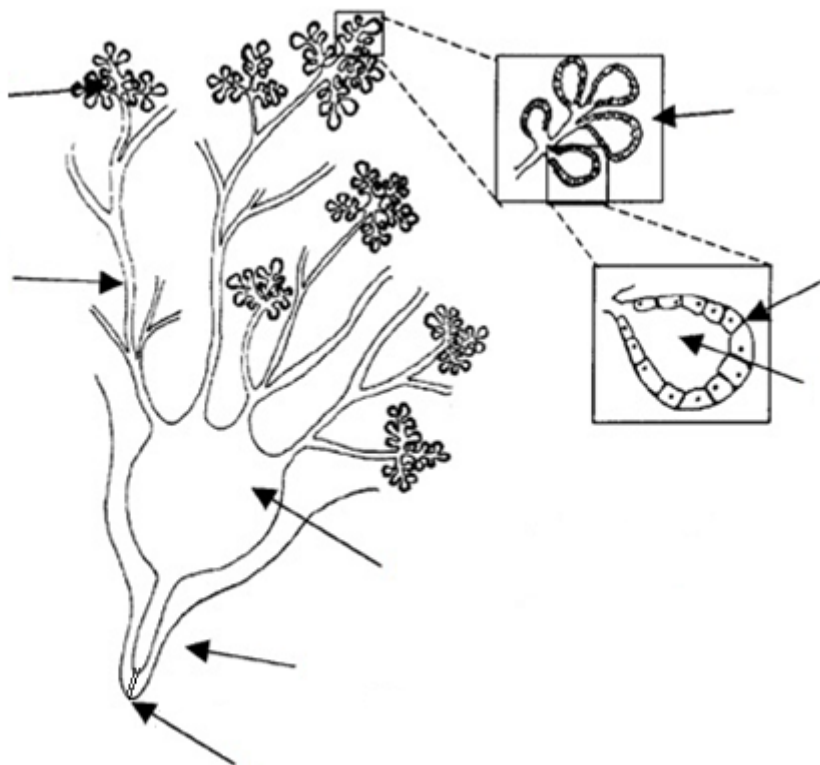
### 1. Попуните шему одговарајућим бројевима.



Грађа вимена

- |                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| 1. <i>Integumentum commune</i>        | 11. <i>Ostium papillare</i>                 |
| 2. <i>Fascia trunci superficialis</i> | 12. <i>Ductus papillaris</i>                |
| 3. <i>Mm. abdominales</i>             | <i>Cisterna mammae:</i>                     |
| 4. <i>Fascia trunci profundus</i>     | 13. <i>Sinus lactiferi pars papillaris</i>  |
| 5. <i>Peritoneum</i>                  | 14. <i>Sinus lactiferi pars glandularis</i> |
| 6. <i>Linea alba</i>                  | 15. <i>Lamelae suspensoriae</i>             |
| 7. <i>Corpus mammae</i>               | 16. <i>Laminae medialis</i>                 |
| 8. <i>Sulcus intermammaricus</i>      | 17. <i>Laminae lateralis</i>                |
| 9. Фирстенбергов венски прстен        |   |
| 10. <i>Papilla mammae</i>             |   |

**2. Попуните следећу шему одговарајућим бројевима.**



**Шематски приказ сабирних каналића млечне жлезде**

- |                            |                            |
|----------------------------|----------------------------|
| 1. <i>Alveolus</i>         | 5. <i>Ductus lactiferi</i> |
| 2. <i>Lumen alveolaris</i> | 6. <i>Cisterna mammae</i>  |
| 3. <i>Lobulus</i>          | 7. <i>Papilla mammae</i>   |
| 4. <i>Lobus</i>            | 8. <i>Ostium papillare</i> |

**3. Због чега је све значајан правилан рад музача, тј. шта све зависи од правилне муже?**

## 2. Дефиниције млека

### Органолептички преглед млека

#### Шта је млеко?

##### Млеко са аспекта биологије

Млеко је производ тј. секрет млечне жлезде женки сисара, намењен за исхрану младунаца.

##### Млеко са аспекта исхране људи

Под млеком се подразумева млеко различитих врста сисара које се користи у исхрани људи, које према пореклу може бити: хумано, кравље, овчије, козије, бивоље, кобиље, магареће, итд.

##### Дефиниција млека према саставу

Млеко је релативно постојана емулзија масти у колоидном раствору беланчевина и правом раствору лактозе и соли, а основни растварач је вода.

##### У различитим правилницима

###### Дефиниција млека у **Правилнику о квалитету сировог млека**

(Сл. гласник РС, бр. 106/2017)

Под сировим млеком, у смислу овог правилника, подразумева се млеко добијено редовном, непрекидном и потпуном мужом здравих, правилно храњених музних животиња, најкасније 30 дана пре партуса и најраније осам дана после партуса, које није загревано на температури вишој од 40°C и без додавања или одвајања било које супстанце која би нарушила основни састав млека.

Сирово млеко према врсти домаћих животиња од којих је добијено може бити:

1. кравље сирово млеко
2. овчије сирово млеко
3. козије сирово млеко
4. сирово млеко осталих домаћих животиња (кобиље, магареће, бивоље).

###### Дефиниција млека у **Правилнику о квалитету производа од млека и стартер култура** (Сл. гласник РС, бр. 33/2010, 69/2010, 43/2013 – др. правилник и 34/2014)

Млеко је природни секрет млечне жлезде животиња из узгоја, добијено једном или више мужа, којем није ништа додато нити одузето.

Даље:

Термички обрађено млеко (кравље, овчије, козје и бивоље) намењено за исхрану људи производи се и ставља у промет као:

1. пастеризовано млеко;
2. стерилизовано млеко – млеко обрађено ултрависоком температуром (УНТ) – стерилизовано млеко.

Када се у свакодневном говору каже само „млеко“, мисли се на кравље млеко, и то најчешће на сирово кравље млеко. Уколико је реч о млеку неке друге врсте животиња то је потребно посебно нагласити.

**Млеко које стигне на анализу** може бити:

- Сирово млеко:
  - Појединачни и збирни\* узорак (од музне животиње):
    - из сисног канала
    - из цистерне вимена (неколико млазева из вимена или целокупна количина млека једне краве измузено у канту)
  - Стадни узорак (из лактофриза)
  - Сирово млеко у току транспорта до млекаре
- У млекари (пре, у току и након прераде)
- У промету
- Код потрошача

Када се говори о млеку, често се срећу термини као што су **млечни серум** и **млечна плазма**. Млечни серум (сурутка) је течност која се издваја из груша после коагулације млека ензимима, киселинама, неким хемикалијама и топлотом. Млечна плазма представља све састојке млека осим масти, што значи да је млечна плазма дисперзна средина за млечну маст.

\*У стручној и научној литератури постоје примери различите употребе појединих термина. За потребе примарне контроле у оквиру рада селекцијске службе, појединачним узорком се често назива узорак млека једне музне животиње, а збирним узорком узорак из сабирног танка / лактофриза. Са аспекта здравствене заштите музних животиња под појединачним узорком подразумева се узорак из једне четврти / половине вимена. У циљу да се избегне могућа забуна, збирним узорком млека у овом практикуму називамо узорак млека једне музне животиње (збир 4 четврти или две половине вимена), а узорак млека из сабирног танка / лактофриза називамо стадним узорком.

### **Органолептички преглед млека**

Млеко има течну конзистенцију, а укус, мирис и боју својствену врсти од које се добија. Свако одступање од уобичајених карактеристика назива се **маном**.

## ЗАДАЦИ

### 1. Данас се користи млеко различитих животиња:

- код нас \_\_\_\_\_
- у свету \_\_\_\_\_

### 2. Извршити органолептички преглед узорка млека и прокоментарисати резултате.

Какав узорак анализирате – шта све треба да знате (да сазнате) о узорку пре анализе? Шта се све узима у обзир – који све параметри? Каква су Ваша запажања по сваком параметру? Какви би требало да буду, тј. да ли сте запазили одступања? На шта се још обраћа пажња? (температура, паковање узорка, издвајање масти, присуство страних материја...) Шта може бити узрок одступања, ако их има? Које бисте даље анализе предложили, тј. сматрате да су потребне? Шта можете рећи о датом узорку млека након извршеног органолептичког прегледа – Ваше стручно мишљење?

### 3. Квалитет и састав млека

#### Правилник

#### Узорци

#### Дефиниција квалитета

Квалитет представља „скуп својстава и карактеристика производа, процеса и услуга, који се односе на могућност да задовоље утврђене или индиректно изражене потребе.“ (ISO:9000:2000)

**Објективан приступ:** Квалитет као мера особине, својстава и карактеристика производа, што подразумева одговарајуће аналитичко посматрање, мерење одабраних особина и обраду података;

**Субјективан приступ:** Квалитет као израз прихватљивости, нивоа доживљеног задовољства, стеченог утиска који се заснива на субјективном мишљењу потрошача о неком производу

#### Фактори квалитета:

- Хигијенски
- Биолошки, хемијски, физички
- Технолошки
- Однос појединих састојака, текстура, рН, aw, итд.
- Нутритивни
- Заступљеност појединих хранљивих и есенцијалних компоненти
- Сензорни
- Изглед, боја, мирис, укус, сочност, мекоћа, текстура
- Тржишни/потрошачки
- Понуда и потражња, квалитет, цена, обичаји, навике

Квалитет намирница у ужем смислу односи се на хемијске, физичке и органолептичке особине.

Квалитет намирница у ширем смислу подразумева хигијенску исправност (микробиолошку и органолептичку исправност).

#### Квалитет млека

Квалитет млека у ужем смислу односи се на хемијски састав млека (количина масти, протеина...).

Квалитет млека у ширем смислу речи представља скуп физичко-хемијских и микробиолошких компоненти (садржај масти и безмасне суве материје, механичка чистоћа млека и његова одрживост, одсуство инхибиторних материја, као и безбедност односно одсуство патогених микроорганизама).

Побољшање квалитета млека захтева додатна улагања која се односе како на материјална средства тако и на рад, око смештаја, неге и чишћења музних животиња, исхране, као и у вези са хигијеном производње која се односи на хигијенску мужу, прање и стерилизацију посуда, хлађење млека и здравствену заштиту стоке.

Исхрана има највећи утицај на хемијски састав млека.



У циљу добијања квалитетног и хигијенски исправног млека неопходно је испоштовати све принципе **добре ветеринарске праксе (GVP), добре произвођачке праксе (GMP) и добре хигијенске праксе (GHP).**

### Састав млека

Млеко је релативно постојана емулзија масти у колоидном раствору беланчевина и правом раствору лактозе и соли, а основни растварач је вода.

Најваријабилнији састојак млека је млечна маст. Први млазеви млека могу да садрже мање од 1% млечне масти, док последњи млазеви млека могу да садрже више од 10% млечне масти.

Најстабилнији састојак млека је лактоза. Кравље млеко садржи 4,7-4,9% лактозе. Нижи садржај лактозе од 4,69% у стадном млеку (из лактофриза) указује на честу појаву субклиничких маститиса на тој фарми.

#### Упоредни приказ садржаја поједних састојака суве материје у млеку жене, краве, овце и козе

Врста млека	Укупна сува материја (%)	Маст (%)	Протеини (%)	Лактоза (%)	Пепео (%)
Женино	12,5	3,70	2,10	6,40	0,30
Кравље	12,75	3,80	3,50	4,80	0,65
Овчије	18,10	7,20	5,70	4,30	0,90
Козије	13,9	4,40	4,10	4,40	0,80

#### Одређивање хемијског састава млека

Одређивање хемијског састава стадног млека (из лактофриза) врши се у млекури приликом сваког откупа млека. Најчешће се врши на Милкоскан (*MilkoScan*) апарату методом спектрофотометрије.

За одређивање хемијског састава млека једне краве неопходно је да се читава количина млека помуже у канту, па да се из канте узме узорак за анализу. Ово је неопходно због варирања количине млечне масти у току muže. Исто се може постићи и уз помоћ откапљивача који се прикључује на систем за мужу и током читаве muže континуирано узима мало, по мало млека, чинећи тако узорак репрезентативним.

#### Извод из Правилника о квалитету сировог млека (Сл. гласник РС, бр. 106/2017)

##### Члан 1.

Овим правилником прописује се квалитет који мора да испуњава сирово млеко при откупу (у даљем тексту: сирово млеко), као и начин испитивања квалитета сировог млека.

...

## II. Услови у погледу квалитета сировог млека при откупу

### Члан 4.

Откуп сировог млека може да се врши само од произвођача сировог млека који врше редовно испитивање квалитета сировог млека у овлашћеној лабораторији.

Испитивање квалитета сировог млека из става 1. овог члана врши се узимањем узорака сировог млека у присуству произвођача сировог млека и представника субјекта у пословању храном у објекту за прераду млека (млекаре), односно откупљивача и анализом прописаног броја узорака у овлашћеној лабораторији, у складу са овим правилником.

### Члан 5.

Сирово млеко има својствен изглед, боју и мирис и најкасније два сата после muže хлади се на температури до  $+6^{\circ}\text{C}$ , ако сакупљање није дневно, односно на температури до  $+8^{\circ}\text{C}$ , ако је сакупљање дневно.

Изузетно од става 1. овог члана не морају да буду испуњени услови у погледу температуре, ако млеко задовољава критеријуме за сирово млеко прописане овим правилником и ако је: млеко обрађено у року од два сата од muže, или из технолошких разлога везаних за израду одређених производа од млека потребна виша температура и ако је то одобрио надлежни ветеринарски инспектор, у складу са законом којим се уређује ветеринарство.

### Члан 6.

За одређене врсте сировог млека, примењују се следећи параметри:

1) Кравље сирово млеко:

- има најмање 3,2% млечне масти,
- има најмање 3,0% протеина,
- има најмање 8,5% суве материје без масти,
- је густине  $1,028-1,034 \text{ g/cm}^3$  при температури од  $20^{\circ}\text{C}$ ,
- је рН 6,5–6,7,
- има киселост  $6,6-6,8^{\circ}\text{SH}$ ,
- има тачку мржњења која није виша од  $-0,515^{\circ}\text{C}$ ,
- је резултат алкохолне пробе са 72% етил алкохолом негативан;

2) Овчије сирово млеко:

- има најмање 4,0% млечне масти,
- има најмање 3,8% протеина,
- има најмање 9,5% суве материје без масти,
- је густине  $1,034-1,042 \text{ g/cm}^3$  при температури од  $20^{\circ}\text{C}$ ,
- је рН 6,5–6,8,
- има киселост  $8,0-12,0^{\circ}\text{SH}$ ,
- има тачку мржњења која није виша од  $-0,560^{\circ}\text{C}$ ;

3) Козије сирово млеко:

- има најмање 2,8% млечне масти,
- има најмање 2,5% протеина,
- има најмање 7,5% суве материје без масти,
- је густине 1,024–1,040 g/cm<sup>3</sup> при температури од 20°C,
- је рН 6,5–6,8,
- има киселост 6,5–8,0°SH,
- има тачку мржњења која није виша од –0,540°C;

4) параметри квалитета сировог млека осталих домаћих животиња одређују се у складу са произвођачком спецификацијом или на основу научних и стручних сазнања.

#### Члан 7.

Сирово млеко не може да садржи резидуе пестицида, метала, металоида и других штетних супстанци, као и резидуе хемиотерапеутика, анаболика и других штетних материја, изнад максимално дозвољених количина, у складу са посебним прописима. Сирово млеко не може да садржи механичке нечистоће, додату воду, као и промене настале као последица обољења вимена – маститиса.

### Класе квалитета сировог млека

#### Члан 19.

На основу резултата испитивања квалитета сировог млека у овлашћеној лабораторији **кравље сирово млеко** се, у зависности од укупног броја микроорганизама и соматских ћелија, разврстава на:

- 1) млеко I класе – садржи до 100.000 cfu/mL укупног броја микроорганизама и укупан број соматских ћелија до 400.000/mL;
- 2) млеко II класе – садржи од 100.001 до 400.000 cfu/mL укупног броја микроорганизама и укупан број соматских ћелија до 400.000/mL;
- 3) млеко III класе – садржи више од 400.000 cfu/mL укупног броја микроорганизама и укупан број соматских ћелија до 400.000/mL.

На основу резултата испитивања квалитета сировог млека у овлашћеној лабораторији **козије, овчије и сирово млеко осталих домаћих животиња**, у зависности од укупног броја микроорганизама, разврстава се на:

- 1) млеко I класе – садржи до 1.500.000 cfu/mL укупног броја микроорганизама;
- 2) млеко II класе – садржи више од 1.500.000 cfu/mL укупног броја микроорганизама.

### Узимање узорка млека

Узорак мора да буде довољан да би био репрезентативан. Узорци млека се узимају за сензорну (органолептичку) физичку, хемијску и микробиолошку анализу. У зависности од врсте анализе постоје и извесне разлике при узимању узорка и њиховом достављању лабораторији. Заједнички принцип код свих узимања узорка

је да узети узорак мора да представља просечни узорак којим се најбоље репрезентује намирница од које потиче.

**Узорак сировог млека** може бити:

- Појединачни узорак (из једне четврти вимена краве)
- Збирни узорак (млеко једне краве = 4 четврти)
- Стадни узорак (млеко свих крава које су на мужи)

Узорци се узимају и у **производњи и промету**. Узорци узети у производњи морају да потичу од млека које представља одговарајућу количину која се може идентификовати тј. утврдити њено порекло, време производње, технолошке операције кроз које је млеко прошло и други релевантни подаци значајни за идентификацију.

Приликом узимања узорака и припреме узорака за испитивање примењују се одговарајући ISO стандарди (Међународна организација за стандардизацију) и смернице из *Codex Alimentarius* као референтне методе.

**Начин узимања узорка** зависи од анализа које желимо да извршимо (врсте анализе и методе која ће бити примењена).

Ако се узима узорак из више посуда са млеком количина узорка из сваке посуде се одређује тако што се прво одреди количина узорка потребног за физичку и хемијску анализу. Затим се одреди збир количина млека у свакој насумце изабраној посуди из које се узима узорак. Количник из количине узорка потребног за анализу и збира укупне количине млека из посуда се множи са сваком појединачном количином млека у посуди из које се узима узорак. Добијене вредности су појединачне запремине млека које се узимају из сваке посуде.

### Пример:

Количина узорка потребна за анализу = 250 mL

Количина млека у посудама одабраним за узорковање:

Посуда 1 = 20 L

Посуда 2 = 30 L

Посуда 3 = 35 L

Посуда 4 = 40 L

Укупна колична млека (у свим посудама за узорковање) = 125 L

Одређивање количине млека које се узоркује из посуда:

$$0,250 \text{ L} / 125 \text{ L} = 0,002$$

$$\text{Посуда 1} = 0,002 \cdot 20 \text{ L} = 0,040 \text{ L} = 40 \text{ mL}$$

$$\text{Посуда 2} = 0,002 \cdot 30 \text{ L} = 0,060 \text{ L} = 60 \text{ mL}$$

$$\text{Посуда 3} = 0,002 \cdot 35 \text{ L} = 0,070 \text{ L} = 70 \text{ mL}$$

$$\text{Посуда 4} = 0,002 \cdot 40 \text{ L} = 0,080 \text{ L} = 80 \text{ mL}$$

Узорци из промета узимају се у амбалажним јединицама чији појединачни број мора да буде сразмеран величини и количини од које потичу појединачна паковања. Амбалажну јединицу представља иста врста млека упакована у

појединачну амбалажу (боца, картонска амбалажа, итд), при чему мора да буде назначена декларација за идентификацију.

Приликом узимања узорка саставља се записник који мора да садржи:

- име власника, односно произвођача намирнице;
- тачно време узимања узорка;
- врсту прегледа који се захтева;
- количину намирнице од које је узет узорак;
- количину узетог узорка и начин узимања узорка од спорне намирнице;
- начин ускладиштења и начин чувања намирнице и друге околности које могу бити од значаја при давању мишљења о намирницама.

До слања узорак млека треба чувати на хладном месту (фрижидер) и што пре га доставити на преглед. Ако за кратко време после узимања узорак не може да се пошаље на преглед или врста анализе то захтева, треба га конзервисати различитим конзервансима.

Узорци за микробиолошки преглед који ће се засејавати на хранљиву подлогу, не смеју да се козервишу већ их треба држати у фрижидеру, преглед започети у што краћем року.

Код анализа млека методом проточне цитометрије (одређивања укупног броја бактерија и броја соматских ћелија) потребно је додати и конзерванс у узорак. Понекад се користе конзерванси са додатком боје да би било очигледно да је конзерванс додат.

### Извод из Правилника о квалитету сировог млека („Сл. гласник РС“, бр. 106/2017)

#### Узимање узорка

##### Члан 9.

Узимање узорка за утврђивање квалитета сировог млека (у даљем тексту: узимање узорка) обавља узоркивач непосредно код произвођача или на сабирном месту, односно сабиралишту.

Пре узимања узорка сировог млека узоркивач, врши визуелни преглед сировог млека (**сензорска контрола**) и утврђује да ли сирово млеко има **својствен изглед, боју, мирис и чистоћу**, односно да ли у сировом млеку постоје визуелно уочљиве промене. Ако су у сировом млеку уочљиве промене које су настале као последица обољења вимена и деловања различитих врста микроорганизама, узорковање и откуп таквог млека се не врши.

**Узимање узорка** сировог млека врши се следећим редоследом:

1. узоркивач отвара сваку посуду у којој се чува сирово млеко, уједначава његов састав тако што прибором за узимање узорка меша сирово млеко од површине према дну посуде (полукружно) и обрнуто;
2. одређену количину сировог млека узоркивач узима из сваке посуде поштујући правило пропорционалности и задржава у прибору за узимање узорка, а произвођач преосталу количину сировог млека сипа из посуде у млекомер за мерење количине сировог млека, а после мерења из млекомера

сирово млеко се сипа у расхладни уређај (лактофриз). Узоркивач враћа узету количину сировог млека из свих посуда једног произвођача у једну заједничку посуду и припрема велики просечан узорак сировог млека за тог произвођача који ће добро промешати и сипати у бочицу. Бочицу са узорком сировог млека појединог произвођача сировог млека потребно је означити шифром.

3. Сирово млеко се у бочицу дозира у количини од 40 mL тог узорка, с тим што та количина заузима најмање 1/2 бочице, а највише 3/4 бочице. Бочица са узорком сировог млека мора бити добро затворена тако да у току транспорта не може да дође до изливања узорка. Ако се то догоди, узорак не може представљати репрезентативни узорак целокупне количине сировог млека из које је узет. При затварању и отварању бочице не сме доћи до контаминације узорка сировог млека микроорганизмима из околине (загађивање узорка).
4. У току узимања узорка сировог млека узоркивач попуњава потребну документацију и одлаже је у гајбу заједно са бочицама са узорком. Бочице са узорцима слажу се у гајбу по редоследу узимања узорака, у коју се одлажу и неискоришћене бочице.

Поступку узимања узорака сировог млека присуствује произвођач који о неправилностима и недостацима поступка обавештава овлашћену лабораторију.

Узимање узорака врши се сваког месеца методом случајног избора, и то:

- 1) два узорка за утврђивање количине млечне масти
- 2) два узорка за утврђивање количине протеина
- 3) два узорка за утврђивање броја микроорганизама
- 4) један узорак за утврђивање броја соматских ћелија
- 5) један узорак за утврђивање тачке мржњења
- 6) један узорак за утврђивање појаве резидуа

**ЗАДАЦИ:**

**1. Објаснити појаву варирања садржаја млечне масти у току muže, тј. зашто први млазеви млека садрже мање од 1% млечне масти, а последњи млазеви млека и више од 10% млечне масти и шта то практично значи.**

**2. Попунити табеле у складу са Правилником о квалитету сировог млека:**

Параметри квалитета	Сирово млеко		
	1) КРАВЕ	2) ОВЦЕ	3) КОЗЕ
млечна маст			
протеини			
сува материја без масти			
тачка мржњења			
алкохолна проба		–	–

4) параметри квалитета сировог млека **ОСТАЛИХ ДОМАЋИХ ЖИВОТИЊА** одређују се у складу са \_\_\_\_\_

**Класирање сировог млека крава**

Класа млека	Укупан број микроорганизама	Број соматских ћелија
I класа		
II класа		
III класа		

**3. Објаснити дефиницију сировог млека за откуп по овом правилнику (значење појединих појмова и њихов практични значај)**

Редовна мужа

Непрекидна мужа

Потпуна мужа

Здраве и правилно храњене музне животиње

Млеко добијено најкасније 30 дана пре партуса и најраније 8 дана после партуса

Млеко које није загревано на температури вишој од 40°C

Без додавања или одвајања било које супстанце која би нарушила основни састав млека.



#### **4. Описати процедуру узимања узорка за анализу хемијског састава млека.**

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Како се узима узорак од једне краве? Какве морају бити епрувете или чаше за узорковање? У циљу добијања валидних резултата како се мора узети узорак? Како се узорак транспортује до лабораторије? Које су најчешће грешке приликом узимања и транспорта узорака и како оне могу да утичу на резултате анализе?

(Видети Прилог 1)

#### **5. Одређивање количине млека која ће се узорковати из посуда.**

Количина узорка потребна за анализу = 250 mL

Количина млека у посудама одабраним за узорковање:

	Посуда 1	Посуда 2	Посуда 3	Посуда 4	Укупно
Количина млека	20L	30L	50L	60L	160L

## 4. Одређивање киселости и свежине млека

### Киселост млека

Киселост млека може бити **природна и стечена**. И природна и стечена киселост може да се изрази као:

1. **Активна киселост** – одређује се уз помоћ рН–метра. После муже кравље млеко је благо кисело (рН 6,6-6,8)
2. **Титрациона киселост** – представља број милилитара стандардног раствора базе употребљеног за неутрализацију киселих група у 100 mL млека уз индикатор фенолфталеин. Изражава се у степенима:
  - °SH – степен Сокслет–Хенкела (Soxhlet–Henkel)
  - °T – степен Тернера (Thörner)
  - °D – степен Дорника (Dornic)

$$8^{\circ}\text{SH} = 20^{\circ}\text{T} = 18^{\circ}\text{D}$$

**Степен киселости по Сокслет–Хенкелу (°SH)** представља број милилитара раствора NaOH концентрације 0,25 mol/L, употребљених за титрацију киселих група у 100 mL млека уз индикатор фенолфталеин.

За кравље млеко убрзо после муже титрациона киселост износи 6,4–7,2°SH. По Правилнику, титрациона киселост треба да буде 6,6-6,8°SH за стадно млеко при откупу.

**За одређивање степена киселости по Тернеру (°T)** користи се раствор NaOH концентрације 0,1 mol/L.

**За одређивање степена киселости по Дорнику (°D)** користи се раствор NaOH концентрације 1/9 mol/L.

### Метода по Сокслет-Хенкелу - модификација по Моресу (Morres)

Модификација по Моресу подразумева употребу децимоларног раствора NaOH (0,1 mol/l) за неутрализацију киселих група у 20 mL млека уз 1 mL индикатора фенолфталеина.

Садржај се титрира уз мешање, до појаве бледоружичасте боје, која се пореди са стандардном бојом. Стандардна боја се припрема тако што се одмери 20 mL истог узорка млека и дода 1 mL 2% воденог раствора кобал-сулфата ( $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ).

Степен киселости се израчунава на основу броја милилитара NaOH утрошених за неутрализацију киселих група у 20 mL млека, по следећој формули:

$$\text{Степен киселости } (^{\circ}\text{SH}) = a \times 2,$$

Где је:

a – број утрошених милилитара 0,1M NaOH

На истом узорку за испитивање морају се извршити најмање два истовремена одређивања.

## Одређивање свежине млека

Повећање киселости млека је обрнуто сразмерно свежини млека и утиче на одрживост млека.

Брзе методе за одређивање киселости, тј. свежине млека су:

- алкохолна проба
- двострука алкохолна проба
- ализарол проба
- црвена проба и
- проба кувањем

**Алкохолна проба** заснива се на смањеној стабилности казеина услед повећане киселости млека, па када се у млеко дода одређена концентрација и количина алкохола етанола долази до дехидратације мицела казеина и њиховог преласка из раствореног стања у гел.

Када се млеко помеша са 68%–им етанолом оно може да коагулише у зависности од киселости млека:

- Ако је алкохолна проба (2 mL млека + 2 mL етанола) позитивна, киселост је  $9^{\circ}\text{SH}$  и више, а ако је негативна, киселост је испод  $9^{\circ}\text{SH}$ .
- У случају да је алкохолна проба негативна, може да се уради и двострука алкохолна проба (2 mL млека + 4 mL етанола). Ако је и двострука алкохолна проба негативна киселост је испод  $8^{\circ}\text{SH}$ , а ако је позитивна сматра се да је киселост између 8 и  $9^{\circ}\text{SH}$ .

Према Правилнику, алкохолна проба за кравље млеко при откупу треба да буде негативна са 72%–им етанолом.

## **ЗАДАЦИ:**

### **1. Одредити активну киселост узорка млека и прокоментарисати резултат.**

Сврха анализе, тј. каква је то анализа? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача) и са којим циљем? Шта је од прибора, материјала и услова потребно обезбедити за извођење ове анализе? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

### **2. Одредити титрациону киселост узорка млека по Сокслет–Хенкелу и прокоментарисати резултат.**

Сврха анализе, тј. каква је то анализа? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача) и са којим циљем? Шта је од прибора, материјала и услова потребно обезбедити за извођење ове анализе? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

(Видети Прилог 2)

Утрошено је \_\_\_\_\_ mL NaOH (\_\_\_\_\_ mol/L) за неутрализацију киселих група у \_\_\_\_\_ mL млека.

Киселост испитиваног узорка млека износи: \_\_\_\_\_ °SH

**3. Урадити алкохолну пробу и прокоментарисати резултат.**

Сврха анализе, тј. каква је то анализа? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача) и са којим циљем? Шта је од прибора, материјала и услова потребно обезбедити за извођење ове анализе? Шта се чему додаје и зашто се то не ради обрнуто? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

(Видети Прилоге 3 и 4)

## 5. Сува материја и млечна маст Ензими у млеку

### Сува материја млека

Сува материја млека представља збир свих састојака млека осим воде (лактоза + протеини + маст + минералне материје) тј. све компоненте млека које НЕ испаре при загревању млека на 102°C.

Одређивање суве материје млека може да се врши:

- методом сушења
- аутоматским и полуаутоматским методама
- рачунским путем

### Одређивање суве материје млека методом сушења

Одређивање суве материје млека методом сушења подразумева сушење млека на 102°C до константне масе.

Најпре се измери маса празне посуде за сушење са поклопцем. Затим се одмери се 2 до 3 g млека у посуду и измери се. Суши се отклопљено у сушници најмање 2 сата на 102±1°C. Поклопи се и пренесе се у ексикатор најмање пола сата да се охлади. Измери се. Враћа се у сушницу и наставља се сушење још 1 сат, понови се хлађење у ексикатору и мерење. Поступак се понавља све док разлика између два последња мерења не буде мања од 1 mg. Садржај суве материје израчунава се по формули:

$$SM(\%) = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \cdot 100\%$$

SM-сува материја  
m<sub>0</sub> - маса празне посуде  
m<sub>1</sub> - маса посуде са узорком пре сушења  
m<sub>2</sub> - маса посуде са узорком после сушења

### Рефрактометријско одређивање суве материје млека

Рефракција је оптичка појава која се заснива на преламању светлости при проласку кроз средине различитих густина. Одређивање суве материје може да се врши и рефрактометром, где преломљени сноп светлости пада на подеоке скале на којој се читава индекс преламања течности која се испитује. На скали већине рефрактометара, поред индекса преламања, налази се и скала за процене суве материје.

Температура испитиваног узорка утиче на рефрактометријско мерење, те је потребно да температура узорка одговара баждареној температури рефрактометра која у већини случајева износи 20°C.

Предност ове методе је у брзини, једноставности и употреби малих количина узорка.

(Видети Прилоге 5 и 6)

### Аутоматске и полуаутоматске методе за одређивање суве материје млека

Сува материја млека може се израчунати уз помоћ апарата за одређивање садржаја (количине) лактозе, протеина и млечне масти. Том збиру се дода константна вредност за садржај соли и тако се добије садржај суве материје млека.

Слично томе, апаратима за директно одређивање садржаја воде у млеку, када се од 100% одузме проценат воде, добије се проценат суве материје.

### Одређивање суве материје млека рачунским путем

Емпиријски је потврђено да постоји корелација између садржаја суве материје, садржаја масти и густине млека.

Садржај суве материје се израчунава по формули:

$$SM(\%) = (1,311 \cdot m) + (2,738 \cdot \frac{100 \cdot d_{20} - 100}{d_{20}})$$

$m$  - % млечне масти  
 $d_{20}$  – густина млека на 20°C

### Садржај масти у млеку

Млечна маст је најваријабилнији састојак млека. Садржај млечне масти може да се одреди на следеће начине:

- Метода по Герберу (Gerber)
- Метода по Резе-Готлибу (Röse – Gottlieb)
- Инструменталне методе - за велики број узорака, мерењем апсорпције инфрацрвеног зрачења средње дужине, при таласној дужини која одговара млечној масти.

**Метода по Герберу** је волуметријска ацидобутирометријска метода за рутинско одређивање садржаја масти у млеку. Ова метода се заснива на принципу растварања протеина млека сумпорном киселином одређене концентрације, при чему капљице млечне масти остају суспендоване у јако киселом раствору и издвајају се дејством центрифугалне силе. Употребом амил-алкохола смањује се површински напон и олакшава издвајање масти. Количина масти читава се директно на скали бутирометра, а изражава као број грама масти у 100 g млека (g/100g).

За извођење ове методе потребни су бутирометар и центрифуга по Герберу, 10 mL сумпорне киселине, 11 mL млека и 1 mL амил алкохола.

## Ензими у млеку

У млеку има више од 60 ензима, који могу да потичу из ћелија млечне жлезде, крвне плазме, леукоцита и микроорганизама.

Четири ензима, због својих карактеристика, могу да се искористе у млекарству:

- редуктаза
- алкална фосфатаза
- пероксидаза
- каталаза

**Редуктаза** је ензим у млеку пореклом из микроорганизама. Катализује оксидације и редукције. Користи се **за индиректно одређивање броја бактерија** у млеку на основу брзине промене боје. Редуктазна проба може да се ради са:

- са метиленским плавим
- са резазурином

**Алкална фосфатаза** се инактивише при режимима ниске пастеризације (30 минута на 63–65°C) и краткотрајне пастеризације (15–20 секунди на 72 – 76°C). Користи се **у контроли ниске и краткотрајне пастеризације**.

**Пероксидазу** стварају ћелије млечне жлезде, нормално се налази у сировом млеку. Разара се при температурама изнад 80°C. Због тога се може користити **у контроли високе пастеризације** (20 секунди на 82°C).

**Каталаза** је у највећем проценту производ различитих ћелија (леукоцита и епителних ћелија). Садржај каталазе сразмеран је броју леукоцита у млеку, па се одређивање каталазе може користити **за индиректно одређивање броја соматских ћелија** у млеку. Данас се овај ензим не доказује у ту сврху, јер постоје много једноставније методе као што је Калифорнија маститис тест (СМТ).



## ЗАДАЦИ:

### 1. Одређивање садржаја суве материје:

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

#### а) Рефрактометром (Видети Прилоге 5 и 6)

#### б) Методом сушења

Израчунати СМ(%), ако су:

маса посуде = \_\_\_\_\_ g

маса посуде са узорком = \_\_\_\_\_ g

маса посуде са узорком после сушења = \_\_\_\_\_ g

#### в) Рачунским путем

$$\text{СМ}(\%) = (1,311 \cdot m) + (2,738 \cdot \frac{100 \cdot d_{20} - 100}{d_{20}})$$

Израчунати СМ(%), ако су:

m (% млечне масти) = \_\_\_\_\_

d<sub>20</sub> (густина млека на 20°C) = \_\_\_\_\_

### 2. Одређивање садржаја млечне масти методом по Герберу

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

(Видети Прилог 7)

### **3. Редуктазна проба са метиленским плавим**

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

### **4. Примери из праксе**

## 6. Доказивање фалсификовања млека водом

Најчешће врсте фалсификовања сировог млека су:

- Додавање воде
- Обирање (одузимање млечне масти)
- Мешање различитих врста млека
- Додавање конзерванса
  - средства за неутрализацију киселости
  - антисептици

Фалсификовање млека у најужем смислу подразумева додавање воде у млеко. Уколико се том млеку одузме и маст то се назива двоструки фалсификат млека. Прикривање фалсификовања млека водом врши се и додавањем скроба, сахарозе или соли, тј. повећавањем специфичне тежине млека која се смањила додатком воде. Због тога приликом контроле квалитета млека никада не треба одређивати само један параметар.

За оцену фалсификовања млека водом, може да се одреди:

- густина млека (и садржај млечне масти!) или
- садржај суве материје, или
- тачка мржњења

**Густина млека** зависи од количине и густине свих састојака млека, тј. од количине и густине воде, масти, протеина, лактозе и соли.

Густина млека крава варирала од  $1,028 \text{ g/cm}^3$  до  $1,035 \text{ g/cm}^3$  при  $20^\circ\text{C}$ , а просечно износи  $1,030 \text{ g/cm}^3$  ( $\text{cm}^3 = \text{mL}$ ). У пракси, густина млека најчешће се одређује лактодензиметром. Лактодензиметар је ареометар који служи за одређивање густине млека. Подсећа на стаклени пловак, са оловном сачмом у доњем делу. У њему је и термометар за мерење температуре млека.

**Одређивање густине млека лактодензиметром** заснива се на истом принципу као и код свих ареометара да више тону у течност уколико је њена густина нижа.

За одређивање густине млека лактодензиметром потребно је 250 mL млека. Млеко се пажљиво измеша пресипањем из суда у којем се налази у мензуру пазећи да се при мешању млека не створи пена. Млеко се остави у мензури и у њега пажљиво, не додирујући зидове мензуре, урони лактодензиметар. Мензура мора да буде довољно широка да лактодензиметар не додирује зидове суда и може слободно да плива у млеку. Растојање између пловка и зида мензуре треба да буде веће од 0,5 cm. Када се лактодензиметар умири мери се температура млека. Ако је температура млека  $20^\circ\text{C}$  директно се са скале лактодензиметра у висини горњег менискуса чита густина.

Уколико је температура млека нижа од  $20^\circ\text{C}$ , тада се врши корекција очитане вредности тако да се за сваки степен нижи од  $20^\circ\text{C}$ , од очитане вредности за густину одузима 0,0002, а ако је температура виша од  $20^\circ\text{C}$  тада се за сваки степен изнад  $20^\circ\text{C}$  додаје по 0,0002 на очитану вредност за густину. Ову корекцију могуће је извршити у случају када је температура млека између  $15^\circ\text{C}$  и  $25^\circ\text{C}$ .

У индустрији млека одређује се и **релативна густина**, која представља однос густине млека (на  $+20^\circ\text{C}$ ) и густине дестиловане воде (на  $+4^\circ\text{C}$ ). Одређује се **помоћу пикнометра**, као количник масе млека и масе дестиловане воде истих запремина.

Најпре се на аналитичкој ваги измери празан (чист и сув) пикнометар ( $m_0$ ). Пикнометар се потом напуни дестилованом водом (на  $+4^\circ\text{C}$ ) и затвори стакленим запушачем са капиларним отвором. Вишак дестиловане воде који је изашао кроз капиларни отвор пажљиво се обрише папирном ватом и пикнометар са водом измери се на ваги ( $m_1$ ). Након тога, добро осушен пикнометар се напуни млеком, које је претходно добро измешано без стварања пене, и затвори се стакленим запушачем са капиларним отвором. Вишак млека који изађе кроз капиларни отвор обрише се папирном ватом и пикнометар са млеком се измери ( $m_2$ ). Температура испитиваног млека треба да буде  $20^\circ\text{C}$ .

Релативна густина млека нема јединицу. Израчунава се тако што се од масе пикнометра са млеком одузме маса празног пикнометра и добијена вредност (маса млека) се подели са вредношћу која се добије када се од масе пикнометра са дестилованом водом одузме маса празног пикнометра (маса воде).

$$\text{Густина} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

$m_0$  – маса празног пикнометра  
 $m_1$  – маса пикнометра са дестилованом водом  
 $m_2$  – маса пикнометра са млеком

Уколико је густина млека нижа од очекиване, може се посумњати на фалсификовање млека водом. У случају да је садржај млечне масти у млеку висок, густина таквог млека ће бити мања, и обрнуто. Одузимањем млечне масти долази до повећања густине млека и због тога је за оцену фалсификовања млека водом неопходно одредити и густину и садржај млечне масти.

**Рефрактометријско одређивање суве материје млека**, поменуто у 5. поглављу, може се користити и приликом доказивања фалсификовања млека водом. Рефрактометар за мерење количине суве материје / додате воде у млеко, може се користити за оцењивање квалитета млека приликом откупа као и за контролу приликом обраде и паковања.

Најчешће се користе ручни и дигитални рефрактометри, који су лако преносиви и врло једноставни за употребу (видети Прилоге 5 и 6).

Видно поље ручног рефрактометра је у зависности од процента суве материје у узорку, хоризонтално подељено на плаву и белу половину. Вредност подеока на граници два поља представља проценат суве материје у узорку.

**Одређивање тачке мржњења млека** (криоскопска метода) врши се помоћу криоскопа. Тачка мржњења зависи од осмотског притиска тј. од садржаја лактозе и дела минералних материја које се у млеку налазе растворене у виду правог раствора. Просечно износи  $-0,550^\circ\text{C}$ , а може да варира од  $-0,525^\circ\text{C}$  до  $-0,565^\circ\text{C}$ .

По Правилнику о квалитету сировог млека тачка мржњења не сме бити већа од  $-0,515^\circ\text{C}$ .

Додавањем воде у млеко, смањује се концентрација материја које се налазе у правом раствору, што има за последицу повећање тачке мржњења, што практично значи да се тачка мржњења приближава  $0^\circ\text{C}$ .

Снижавање тачке мржњења може да настане при повећању киселости млека, јер бактерије млечне киселине трансформишу један мол лактозе у четири мола млечне киселине, што увећава број молекула у раствору и последично доводи до снижавања тачке мржњења.

**Најчешће додавани конзерванси у млеко су:** формалин, калијум дихромат, борна киселина, водоник-пероксид, натријум карбонат и бикарбонат.

## **ЗАДАЦИ:**

### **1. Одређивање густине млека (помоћу лактодензиметра).**

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

(Видети Прилог 8)

Очитана температура: \_\_\_\_\_

Очитана густина: \_\_\_\_\_

Густина на 20°C: \_\_\_\_\_

### **2. Одређивање релативне густине млека (помоћу пикнометра).**

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

(Видети Прилог 9)

### **3. Када се одлучити за одређивање густине млека лактодензиметром, а када пикнометром?**

Колико трају анализе? Колико је млека потребно за те анализе?

### **4. Извршите анализу узорка млека на (ручном и/или на дигиталном) рефрактометру. (Видети Прилоге 5 и 6)**

Сврха анализе, тј. каква је то анализа? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача) и са којим циљем? Напишите Ваш налаз (резултат). Шта можете рећи о датом узорку млека након извршене анализе – Ваше стручно мишљење?

## 7. Утврђивање поремећаја у секрецији млека Соматске ћелије у млеку

**Хигијенска исправност сировог млека** односи се на број соматских ћелија и укупан број бактерија у млеку.

**Поремећај секреције** млека у ширем смислу обухвата сва одступања од физиолошког лучења млека. У ужем смислу речи користи се за случајеве повећања броја соматских ћелија у млеку из којег није изолован узрочник маститиса, при чему су физиолошки разлози за повећање броја соматских ћелија искључени, а нема ни видљивих клиничких промена на вимену. Више о поремећајима секреције млечне жлезде видети у литератури из болести преживара.

Повећање броја соматских ћелија у млеку није увек и поремећај секреције. С друге стране, код латентних инфекција може да се деси да ни нема повећања броја соматских ћелија.

**Соматске ћелије** у млеку називају се још и млечне или ендogene ћелије млека. То су различите ћелије које могу да потичу **из млечне жлезде** (ћелије плочастог епитела, жлезданог епитела без секреторне функције и жлезданог епитела са секреторном функцијом) и **из крви** (еритроцити, полиморфонуклеарни леукоцити, лимфоцити, моноцити).

Соматске ћелије чине:

**четири главне ћелијске групе:**

- полиморфонуклеарни леукоцити,
- лимфоцити,
- макрофаги,
- недиференциране ћелије и ћелијски делови;

**и специфичне ћелије** које се у зависности од ситуације могу јављати у различитом броју. У специфичне ћелије спадају: еозинофили, моноцити, епителоидне ћелије, гигантске ћелије, плазмоцити, лимфоцитоици, базофили, мастоцити, еритроцити, као и ћелије епитела.

Број соматских ћелија у млеку варира под утицајем различитих фактора. Према Правилнику о квалитету сировог млека дозвољено је до 400.000 соматских ћелија у 1 mL стадног млека крва. У колоструму тај број може ићи и преко 1 милион /mL. Када је реч о секрету број соматских ћелија може да достигне чак 20 до 50 милиона /mL.

**ФИЗИОЛОШКЕ ВАРИЈАЦИЈЕ броја соматских ћелија** (када се повећање броја соматских ћелија не сматра поремећајем) условљавају:

- Стадијум лактације (колострум – највише, средина лактације – најмање, пораст према крају лактације)
- Број лактација или старост животиње (од 5. до 8. – 9. лактације – расте)
- Начин држања (лети на паши – више, шталско држање – мање)

**Фактори који могу да изазову ПОРЕМЕЋАЈ СЕКРЕЦИЈЕ:**

- Микробиолошки агенси
- Механичка оштећења вимена (технички недостаци музилице, погрешна мужа, лоши услови држања)
- Алиментарни утицаји (неодговарајућа исхрана, поремећаји метаболизма)
- Стрес (климатски, топлотни и стрес из околине)

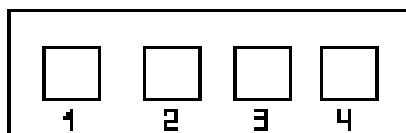
**Одређивање броја соматских ћелија** може да се врши:

- микроскопском методом
- помоћу електронског бројача
- методом проточне цитометрије
- индиректним методама (маститис тестови, одређивање каталазе...)

### Метода микроскопског бројања соматских ћелија

За испитивање броја соматских ћелија у испитиваним узорцима млека праве се, суше, боје и под микроскопом са имерзионим објективом прегледају размази млека и утврђује се број соматских ћелија у њима. Приликом микроскопског бројања соматских ћелија могуће је одредити и заступљеност појединих врста ћелија, што може да буде од користи код постављања дијагнозе и избора терапије.

Микроскопска плочица се постави на шифру од четири поља од по  $1\text{ cm}^2$  и на свако од тих поља се наноси по  $0,01\text{ mL}$  узорка млека који прекрива целу површину од  $1\text{ cm}^2$ .



Шифра са четири поља за наношење млечних размаза

Овако припремљени размази млека суше се 24 сата на собној температури. Бојење размаза млека (соматских ћелија у млеку) врши се једнократним поступком бојења по Њумен Ламперту (Newman Lampert), модификованом по Левовиц Веберу (Levowitz Weber).

Састав боје за бројање соматских ћелија у млеку:

Алкохол етанол 96%	54 mL
Тетрахлоретан	40 mL
Метиленско плаво	1 g
Глацијална сирћетна киселина	6 mL

Бројање соматских ћелија изводи се помоћу светлосног микроскопа под највећим увећањем у једном реду хоризонтално, од средине једне ивице до средине друге ивице квадрата у којем се налази млечни размаз.

На површину од  $1\text{ cm}^2$  ( $100\text{ mm}^2$ ) наноси се  $0,01\text{ mL}$  млека. Бројање се врши на површини од  $1,65\text{ mm}^2$  (зависи од ширине видног поља на микроскопу који се користи) и добијен број представља број соматских ћелија у  $0,000165\text{ mL}$  млека. Укупан број соматских ћелија у  $1\text{ mL}$  млека се добија када се број добијен бројањем помножи са 6060,61.

Број соматских ћелија у  $1\text{ mL}$  млека израчунава се на основу следеће пропорције:

$$\text{Број с.ћ. у } 1\text{ mL} : 1\text{ mL} = \text{избројано с.ћ.} : 0,000165\text{ mL}$$

$$\text{Број с.ћ. у } 1\text{ mL} = \text{избројано с.ћ.} \cdot \frac{1\text{ mL}}{0,000165\text{ mL}}$$

$$\text{Број с.ћ. у } 1\text{ mL} = \text{избројано с.ћ.} \cdot 6060,61$$

### Метода проточне цитометрије у бројању соматских ћелија

Методом проточне цитометрије врши се аутоматско бројање соматских ћелија. Проточна цитометрија је технолошки процес који омогућава појединачно мерење флуоресценције ћелија и расипање светлости.

За ову анализу користи се Фосоматик (*Fossomatic*) апарат. Брзина процеса мери се хиљадама избројаних ћелија у секунди, што практично значи преглед 350 – 400 узорака на сат.

### Калифорнија маститис тест (СМТ)

Калифорнија маститис тест представља брзу теренску методу за откривање поремећаја секреције и субклиничких маститиса, на основу индиректног одређивања броја соматских ћелија. Након додавања СМТ реагенса у млеко, долази до оштећења ћелијске мембране свих ћелија присутних у узорку млека, што омогућава да ДНК из тих ћелија реагује са реагенсом и формира гел.

Први млаз млека се одбацује, а онда се млеко измузе у тестатор са 4 одвојена одељка, по један за сваку четврт вимена краве.

Тестатор се нагне под углом до 45° и вишак млека се одлије, а у сваком одељку остане око 2 mL млека.

Дода се једнака количина (око 2 mL) СМТ реагенса. Мешавина треба нежно да се ротира око 20 секунди, након чега се читавају резултати.

**Табела за процену броја соматских ћелија за Калифорнија маститис тест**

Реакција	Стварање гела	Процењен број с.ћ. /mL
негативна (-)	нема промена у конзистенцији	<10.000 – 200.000
сумњива (±)	незнатна промена у конзистенцији при померању посуде	150.000 – 500.000
слабо позитивна (+)	појачано згрушавање без стварања гела	400.000 – 1.500.000
позитивна (++)	ствара се гел, при мешању се скупља на средини посуде али се разилази по престанку мешања	800.000 – 5.000.000
јак позитивна (+++)	ствара се густа желатинозна маса, при мешању се скупља на средини посуде и не разилази се ни по престанку мешања	>5.000.000

С обзиром на то да постоји могућност да узрочник маститиса буде присутан у вимену, а да нема повећања броја соматских ћелија, такве четврти ће остати нерегистроване након прегледа Калифорнија маститис тестом, па је, с времена на време, потребно извршити и друге анализе.



### **Драмински (Dramiński) маститис детектор**

Познато је да се електрична проводљивост млека повећава када се повећа ниво соли у млеку, што се дешава приликом упалних процеса и пре појаве клиничких симптома. Електрична проводљивост млека обрнуто је пропорционална електричној отпорности млека.

Драмински маститис детектор је електронски инструмент који мери електричну отпорност млека. Састоји се из посуднице са електродама, електронске јединице са екраном и дршке у којој се налази батерија и прекидач.

Однос између проводљивости и нивоа соматских ћелија није директан. На проводљивост млека такође утиче и фаза лактације, ниво масти, музни интервал и раса, тако да се може десити да две краве дају млеко са сличном електричном проводљивошћу, иако имају веома различит број соматских ћелија. Поређење са претходним данима, или са осталим четвртима вишена је више него употребљиво када се користи са одређеним прагом толеранције нивоа проводљивости.

Комбинована употреба Драмински маститис детектора и Калифорнија маститис теста на терену даје најбоље резултате, али и тада је реч само о постављању сумње на присуство субклиничког маститиса и потребне су даље микробиолошке анализе млека како би се утврдило о ком узрочнику се ради и на која антимикуробна средства је осетљив.

## **ЗАДАЦИ:**

### **1. Бројање соматских ћелија микроскопском методом**

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача) и у складу с тим како се тумаче резултати? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Шта све обухвата и како се ради (припрема размаза, бојење, бројање) Ваш налаз и стручно мишљење?

(Видети Прилог 10)

### **2. Калифорнија маститис тест (СМТ)**

О каквој анализи се ради? Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? Евентуални недостаци теста? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Ваш налаз и стручно мишљење?

(Видети Прилоге 11 и 12)

### **3. Драмински тест**

О каквој анализи се ради? Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? Евентуални недостаци теста? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Ваш налаз и стручно мишљење?

(Видети Прилог 13)

## 8. Узимање узорака млека за микробиолошки преглед

### Узимање узорака стадног млека

Приликом узимања узорака стадног млека (из лактофриза) за микробиолошки преглед потребно је добро измешати млеко – да би узорак био репрезентативан и придржавати се принципа асепсе и антисепсе.

У узорцима стадног млека могу да се траже патогене бактерије (али сада бактерије које су патогене за људе, јер стадно млеко представља сировину за добијање производа од млека), али је значајно и утврђивање укупног броја бактерија (што указује на хигијену муже и начин чувања млека). Присуство индекс микроорганизама као што су *Proteus* и *Echerichia coli* може да указује на нарушавање хигијенско санитарног режима у млекарима.

Одсуство микроорганизама још увек не значи да је млеко безбедно, јер су нпр. ентеротоксини стафилокока термостабилни (могу да остану активни и након пола сата на 100°C).

### Узимање узорака млека од једне краве

На основу резултата маститис теста, из позитивних четврти вимена кржава узимају се узорци за **микробиолошки преглед**. У узорцима млека из вимена могу да се траже патогене бактерије и гљивице – изазивачи маститиса. Више о маститисима видети у литератури из болести преживара.

Да би резултати били валидни неопходно је да се спречи контаминација узорака.

Појединачни узорци млека узимају се после прања и сушења вимена и после измузања првих млазева. Врх папиле дезинфикује се ватом натопљеном 76% алкохолом. Врх папиле се фиксира палцем и кажипрстом десне руке. У леву руку се палцем и кажипрстом узме вата. Врх папиле се брише снажним покретима.

Дезинфекција папила врши се по редоследу „ка себи”, јер се тако избегава контаминација дезинфиковане папиле руком за време дезинфиковања осталих папила. Најпре се бришу папиле са супротне стране од оне на којој се налази лице које узима узорке и то прво предња, па задња папила. Затим се бришу папиле са стране на којој је лице које узима узорке и то прво предња па задња.

Приликом овог поступка немирне животиње потребно је фиксирати, а пожељно је да се фиксира и реп животиње да не би ногом или репом контаминирала дезинфиковану папилу или саму епрувету.

Узимање узорака се врши тако што се стерилна епрувета са поклопцем узме у леву руку, малим прстом десне руке се скида поклопац и држи се у руци за време узимања узорка. Палцем и кажипрстом десне руке се врши измузање неколико млазева млека у епрувету. Након тога се поклопац враћа на епрувету и она се обележава унапред припремљеном налепницом на којој је број и ознака четврти из које је узорак узет.

У циљу спречавања контаминације потребно је водити рачуна да доњи део поклопца епрувете не дође у додир са било којим предметом у штали, као и да не дође до контакта врха папиле и епрувете. Редослед узимања узорака млека је „од себе“ односно супротно од редоследа којим се врши дезинфекција папила.

Овакво узимање узорака млека врши се у циљу проналажења узрока поремећене секреције, тј. ради даље изолације **патогених микроорганизама** пореклом из вимена. Тада је потребно да се уради и антибиограм, а у зависности од дате ситуације и да се донесе одлука о начину лечења, као и о даљим корацима које треба предузети.

## Транспортовање узорака

После завршеног узорковања, обележени узорци са пропратним актом (упутом) транспортују се до лабораторије у ручном фрижидеру при 4°C. Узорци треба да стигну до лабораторије у што краћем року, а најдуже за шест сати.

## Мере контроле

За израду програма за отклањање примарно патогених узрочника маститиса на фармама неопходно је благовремено откривање поремећаја секреције и субклиничких маститиса и елиминисање извора инфекције.

Инфекција се шири путем вектора од инсеката преко простирке и стеље, уређаја за мужу и течности/тканина за прање вимена, па до руку музача.

Важан аспект у контроли маститиса је спречавање преноса инфекције на пријемчиве животиње. Унос новонабављених крава у стадо са високом продукцијом млека представља потенцијални ризик за појаву инфекција код крава на фарми, уколико су новонабављене краве инфициране патогенима млечне жлезде. Тај ризик не може да се избегне у потпуности, али може да се сведе на минимум предузимањем биосигурносних мера и израдом програма за контролу маститиса за сваку фарму посебно, на предлог и под надзором ветеринарске службе.

Када се набављају старије краве, потребно је имати у виду и број соматских ћелија тих крава током претходне лактације, као и да њихове четврти вимена буду негативне на патогене вимена. Битно је да новонабављене краве потичу из стада у којима је геометријска средина броја соматских ћелија мања од 200.000/mL, такво стадо мора да има податке о броју соматских ћелија за сваку краву најмање двомесечно за претходних 6 месеци.

Стадо из којег долази кржава не сме да има било какву историју о *Streptococcus agalactiae* за последње две године, треба да буде слободно од бовине вирусне дијареје (BVD), а власник стада мора да буде спреман да да све наведене информације. Последњих година код нас су присутне болест квргаве коже и болест плавог језика, па је важно да се утврди да ли новонабављене краве потичу из запата где је вршена вакцинација против наведених болести.

На фармама кржава са ниским процентом маститиса и ниским бројем соматских ћелија у стадном млеку редовно се врши провера рада система за мужу, а сува припрема вимена и хигијена је на високом нивоу.

Како у свету постоји тренд повећања броја крава на фармама, куповина животиња је неминовност која повећава ризик од уношења нових инфекција. Међутим, са увећањем стада јавља се и потреба за инвестирање у лабораторијска испитивања и развој биосигурносних програма.

Биосигурносне мере треба да се спроводе од фарме до фарме. Зависе од здравственог статуса стада, процене квалитета млека и амбијента у којем се држе животиње.

## **ЗАДАЦИ:**

### **1. Узимање узорака за микробиолошке анализе**

Које су то анализе и са којим циљем се раде и на ком све млеку (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Какве морају бити епрувете или чаше за узорковање? Обележавање. У циљу добијања валидних резултата како се мора узети узорак? Како се узорак транспортује до лабораторије? Које су најчешће грешке приликом узимања и транспорта узорака и како оне могу да утичу на резултате анализе?

### **2. Објаснити разлику у интерпретирању резултата код узорковања млека из вимена (појединих четврти) и приликом узорковања стадног млека**

## 9. Методе за одређивање укупног број бактерија у млеку

Одређивање укупног броја бактерија у стадном млеку (из лактофриза) даје податак о хигијени муже и начину чувања млека. Присуство или одсуство патогена није могуће утврдити овом методом.

Укупан број бактерија у сировом млеку креће се од неколико хиљада до неколико милиона у 1 mL. Може да се одреди на следеће начине:

- директно микроскопско одређивање броја бактерија,
- метода проточне цитометрије /*BactoScan* (150 узорака на сат),
- одређивање броја бактерија засејавањем на хранљиву подлогу,
- индиректним методама (нпр. одређивање редуктазе).

### Одређивање укупног броја бактерија засејавањем на хранљиву подлогу

На површини стандардне Петри шоље може да се изброји највише 300 микроорганизама. Да би се свакој бактерији обезбедили услови да формира колонију, праве се децимална разређења млека у стерилном физиолошком раствору. Број разблажења зависи од очекиваног броја бактерија у млеку. Ради се у асептичним условима, стерилним прибором.

За разређења користи се стерилни физиолошки раствор и то 180 mL за основно разређење и по 9 mL за свако следеће разређење.

Хранљива подлога која се користи теба да погодује расту највећег броја бактерија.

### Састав подлоге за одређивање укупног броја бактерија

Екстракт квасца	2,5 g
Триптон	5,0 g
Гликоза монохидрат	1,0 g
Обрано млеко у праху	1,0 g
Агар	9 – 16 g
Вода	до 1000 mL
pH	7,0 ± 0,2 при 25°C

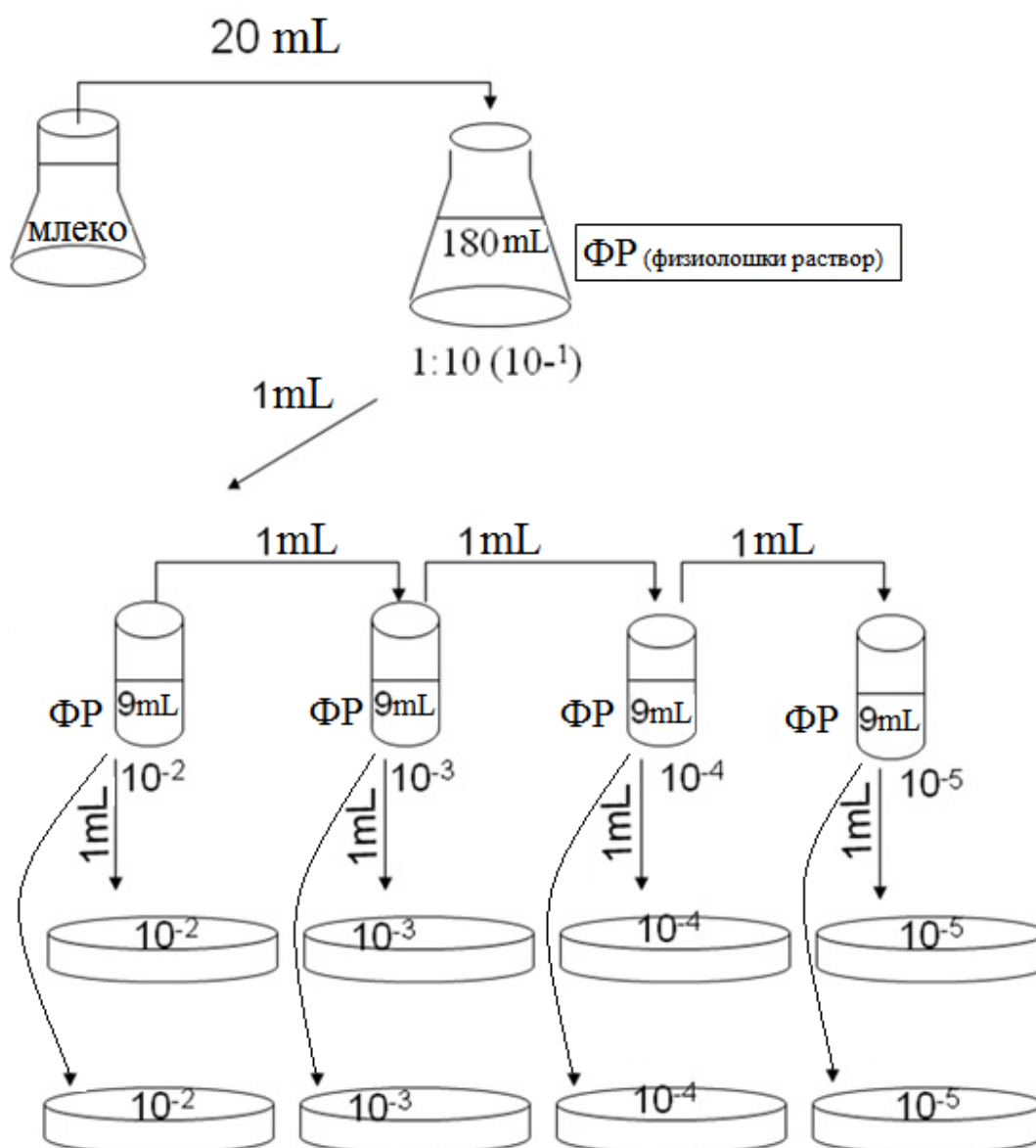
Подлога се пре употребе потпуно раствори у воденом купатилу које кључа, а затим расхлади у воденом купатилу до 45±1°C.

Стерилном пипетом из добро промешаног узорка млека узме се 20 mL и промеша се са 180 mL стерилног физиолошког раствора. Тако је добијено основно разређење 1:10 или  $10^{-1}$ , што значи да једну десетину чини млеко. За прављење наредног децималног разређења узима се 1 mL основног разређења и преноси се у 9 mL физиолошког раствора. Тако је добијено разређење 1:100 или  $10^{-2}$ . Из те епрувете се узме 1 mL и пренесе у следећу епрувету са 9 mL физиолошког раствора и добије се разређење  $10^{-3}$ . Поступак се понавља док се не направи потребан број разређења.

Ова анализа може да се ради како са течним тако и са чврстим производима од млека.

Из сваког разређења преноси се по 1 mL у по две **празне** стерилне Петри шоље. За свако разређење се користи нова (друга) стерилна пипета. Након тога се око 10 mL отопљене подлоге наспе у Петри шољу преко разређења и лаганим кружним покретима руке се измеша.

Када се подлога стегне, Петри шоље се преместе у инкубатор на **72±3 сата при 30±1°C**. За то време и на тој температури очекује се да ће израсти највећи број бактерија.



**Инкубација: 72 сата при 30°C**

Израсле колоније бактерија могу да се броје голим оком, помоћу лупе и помоћу специјалних бројача. За бројање се одаберу Петри шоље на којима је порасло од 10 до 300 колонија. Броје се све израсле колоније, а број бактерија се израчунава на следећи начин:

$$\Sigma c$$

---

$$[(n_1 + (0,1 \cdot n_2)) \cdot d$$

$\Sigma c$ - збир свих избројаних колонија

$n_1$  = колико Петри шоља је одабрано за бројање у мањем разблажењу

$n_2$  = колико Петри шоља је одабрано за бројање у већем разблажењу

$d$  = фактор мањег разблажења одабраног за бројање у облику  $10^{-x}$

Добијена вредност се заокружује и изражава у хиљадама по милилитру сировог млека или течног производа од млека ( $\cdot 10^3/\text{mL}$ ). У случају да се анализирају чврсти производи од млека, укупан број бактерија се изражава по граму чврстог производа (/g).



## **ЗАДАЦИ:**

### **1. Одређивање укупног броја бактерија засејавањем на хранљиву подлогу.**

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе, а шта нећемо знати? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Шта све треба урадити? Колико траје?

#### **а) Припремити разређења и обележавање**

Због чега се ради разређење млека, са чиме се разређује млеко и зашто баш са тиме? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Које су могуће грешке приликом припремања разређења и како оне могу да утичу на резултате анализе?

#### **б) Засејавање на хранљиву подлогу**

Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Шта је специфично? Које су могуће грешке приликом засејавања и како оне могу да утичу на резултате анализе?

#### **ц) Инкубација**

Колико дуго, на којој температури и зашто?

**д) Очитавање резултата**

Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Које су могуће грешке приликом бројања колонија и како оне могу да утичу на резултате анализе? Ваш налаз и стручно мишљење?

(Видети Прилог 14)

## **2. Процена броја колонија**

а) Уколико је на Петри шољи са разређењем  $10^{-3}$  избројано 22 колоније, проценити колико би могло бити колонија код разређења  $10^{-2}$ , а колико код разређења  $10^{-4}$ . Објаснити одговор.

б) Да ли је могуће да у случају анализе истог узорка на разређењу  $10^{-3}$  израсте 19 колонија, а на разређењу  $10^{-4}$  израсте 210 колонија? А обрнуто? Објаснити одговоре.

## 10. Патогене бактерије и резидуе ветеринарских лекова у млеку

### Микробиолошка исправност млека

Према члану 45. **Закона о безбедности хране** (Сл. гласник Републике Србије, број 41/2009 и 17/2019), субјекти у пословању храном дужни су да: „обезбеде да су у свим фазама производње, прераде и промета хране, које су под њиховом контролом, испуњени прописани услови у вези са хигијеном хране“,

а у Члану 4. **Правилника о условима хигијене хране** (Сл. гласник Републике Србије, број 73/2010), утврђени су принципи на којима се заснива пословање храном, који између осталог обухватају:

- за безбедност хране највећу одговорност има субјект у пословању храном,
- коришћење водича за добру праксу у свим фазама ланца хране помаже субјектима у пословању храном у спровођењу правила о хигијени хране и у примене принципа НАССР, и
- успостављање микробиолошких критеријума и услова за контролу температуре који су засновани на научној процени ризика.

**Правилник о општим и посебним условима хигијене хране у било којој фази производње, прераде и промета** (Сл. гласник Републике Србије, број 72/2010, 62/2018 и 30/2024) усклађен је са Уредбом (ЕС) 2073/2005 у којој су утврђени микробиолошки критеријуми засновани на научној процени ризика битних за заштиту потрошача.

Микробиолошки критеријуми за храну примењују се на све субјекте укључене у производњу, прераду и промет хране.

Субјект у пословању храном мора да осигура да је храна у потпуности усаглашена са захтевима Правилника о микробиолошким критеријумима, као и да предузме потребне мере, ако утврди да храна не задовољава било који од прописаних, или критеријума утврђених у систему самоконтроле.

Овим Правилником о микробиолошким критеријумима уведени су:

**Критеријум безбедности хране** је критеријум који се примењује да се оцени безбедност производа или производне партије. Овај критеријум се примењује на производе током рока употребе и, ако они нису задовољени, субјект не може да стави такав производ на тржиште или, ако је производ стављен на тржиште, субјект мора да га повуче или опозове са тржишта. У таквим случајевима треба да буду преиспитани поступци за управљање безбедношћу хране, како би се осигурало да ће производ убудуће бити усаглашен са микробиолошким критеријумима.

**Критеријум хигијене у процесу производње** је критеријум који треба да покаже да се производни процес правилно одвија. Он се примењује кроз сваку фазу производње и руковања храном. Ако критеријум хигијене процеса није задовољен, треба да се преиспитају процедуре које се примењују, примене корективне мере, а као резултат тих активности, побољша хигијена процеса производње.

## Прилог 1

### Правилника о општим и посебним условима хигијене хране у било којој фази производње, прераде и промета

#### МИКРОБИОЛОШКИ КРИТЕРИЈУМИ ЗА ХРАНУ

##### Поглавље 1. Критеријуми безбедности хране

##### Поглавље 2. Критеријуми хигијене у процесу производње

- 2.1. Месо и производи од меса
- 2.2. Млеко и производи од млека
- 2.3. Производи од јаја
- 2.4. Риба, друге водене животиње и њихови производи
- 2.5. Поврће, воће и њихови производи

##### Поглавље 3. Правила за узимање узорака и припрему узорака за испитивање

- 3.1. Општа правила за узорковање и припрему узорака за испитивање
- 3.2. Узорковање у објектима за клање, објектима за производњу уситњеног меса и полупроизвода од меса за бактериолошко испитивање
- 3.3. Правила за узимање узорака за клице

#### Пример за критеријум безбедности хране

Категорија хране	Микроорганизми/ њихови токсини, метаболити	План узорковања		Граничне вредности		Референтни метод испитивања*	Фаза у којој се критеријум примењује
		n	c	m	M		

n = број јединица које чине узорак

c = број јединица узорка које дају вредности између m и M

\*Примењује се најновије издање стандарда (међународни или стандард Р. Србије)

#### Пример за критеријум хигијене у процесу производње

Категорија хране	Микроорганизми/ њихови токсини, метаболити	План узорковања		Граничне вредности		Референтни метод испитивања*	Фаза у којој се критеријум примењује	Мера у случају незадовољавајућих резултата
		n	c	m	M			

n = број јединица које чине узорак

c = број јединица узорка које дају вредности између m и M

\*Примењује се најновије издање стандарда (међународни или стандард Р. Србије)

##### Категорија хране (видети правилник):

Пастеризовано млеко и други пастеризовани течни производи од млека, сиреви, маслац и павлака произведени од сировог млека или млека које је обрађено температуром нижом од температуре пастеризације, сиреви произведени од млека или сурутке који су обрађени топлотом, млеко у праху и сурутка у праху...

##### Микроорганизми/њихови токсини, метаболити (видети правилник):

- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella* врсте
- Стафилококни ентеротоксини
- Коагулаза - позитивне стафилококе
- *Enterobacteriaceae*
- *E. coli*

**Фаза у којој се критеријум примењује (видети правилник):**

- За време производног процеса, у време када се очекује да ће број (тражених микроорганизама) бити највећи
- Крај производног процеса
- Производ у промету током његовог рока употребе

**Мера у случају незадовољавајућих резултата - за критеријуме хигијене у процесу производње (видети правилник):**

- Побољшање хигијене производње
- ...

### **Стране материје у млеку**

**Стране материје** су материје које се **уобичајено не налазе** у млеку добијеном „природним“ процесом, могу бити:

- **Адитиви** (материје које се намерно додају с циљем да се побољшају сензорне особине, продужи трајност и олакша чување производа од млека)
- **Резидуе** (крајњи производи хотимично употребљених материја или препарата у ланцу стварања животних намирница с циљем да се одржи производња, омогући лагеровање и сачува свежина намирнице)
- **Загађивачи / контаминенти** (пестициди, тешки метали, органохлорна једињења, радионуклиди, биогени амини, микотоксини)

Резидуе ветеринарских лекова су фармаколошки активне супстанце; било активне супстанце, носач или разграђени производи и њихови метаболити, а који остају у ткивима која се добијају од животиња, којима су апликовани ови лекови.

О ветеринарским лековима чије се резидуе могу наћи у млеку видети више у литератури из фармакологије.

**Методe за доказивање резидуа антибиотика у млеку**

- Микробиолошке
- Ензимске колориметријске методе
- Рецептор везујуће методе
- Хемијске методе
- Имунолошке методе

### **Изолација патогених микроорганизама (Подсећање)**

О изолацији патогених микроорганизама видети више у литератури из микробиологије. Видети Прилог 15.

## ЗАДАЦИ:

### 1. Правилник о општим и посебним условима хигијене хране у било којој фази производње, прераде и промета - Тумачење

Шта све обухвата и на шта се све односи (шта има у њему)?

а) Објаснити критеријуме хигијене процеса производње за **сладолед и смрзнуте млечне десерте на следећем примеру:**

Микроорганизми/ њихови токсини, метаболити	План узорковања		Граничне вредности		Референтни метод испитивања	Фаза у којој се критеријум примењује	Мера у случају незадовољавајућих резултата
	n	c	m	M			
<i>Enterobacteriaceae</i>	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	ISO 21528-2	Крај производног процеса	Побољшање хигијене производње

б) На основу правилника, дати налог/упутство за анализу за \_\_\_\_\_.  
(категорија хране).

### 2. Одређивање резидуа антибиотика у млеку

Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? Евентуални недостаци теста?

На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Ваш налаз и стручно мишљење?

(Видети Прилоге 16 и 17)

### 3. Због чега није пожељно да се у млеку нађу резидуе антибиотика?

## **11. Производи од млека – органолептички, физички, хемијски и бактериолошки преглед Правилници**

### **Производи од млека**

#### **Извод из**

**Правилника о квалитету производа од млека и стартер култура**  
(Сл. гласник РС, бр. 33/2010, 69/2010, 43/2013 – др. правилник и 34/2014)

Овим правилником ближе се прописују услови у погледу квалитета производа од млека намењених конзумирању и стартер култура за производе од млека и то за:

- класификацију, категоризацију и назив производа;
- физичка, хемијска, физичко-хемијска и сензорска својства, као и састав производа;
- физичка, хемијска, физичко-хемијска и сензорска својства сировина, као и врсту и количину сировина, додатака и других супстанци које се употребљавају у производњи и преради производа;
- елементе битних технолошких поступака који се примењују у производњи и преради производа; додатне захтеве за означавање производа.

У смислу овог Правилника **производи од млека** јесу:

- 1) термички обрађено млеко:
  - пастеризовано млеко и
  - стерилизовано млеко
- 2) ферментисани производи од млека
- 3) павлака
- 4) маслац
- 5) масло
- 6) анхидрована млечна маст
- 7) млаћеница
- 8) кајмак (скоруп)
- 9) сиреви и производи од сира
- 10) кондензовано млеко
- 11) млеко у праху и други сушени производи од млека
- 12) сурутка
- 13) млечни намаз
- 14) млечни напици и млечни десерти
- 15) смрзнути десерти
- 16) казеин и казеинати
- 17) копреципитати
- 18) сушени производи од млека

**Ферментисани производи од млека** производе се ферментацијом млека (крављег, овчијег, козјег и бивољег млека или њихове мешавине) и производа од млека добијених искључиво од млека, којима је дозвољено додавање састојака потребних за њихову производњу, под условом да ти састојци нису додати како би делимично или потпуно заменили било коју млечну компоненту, применом стартер култура за производе од млека (у даљем тексту: стартер културе). Стављају се у промет као:

- 1) јогурт,
- 2) кисело млеко,
- 3) ферментисани производи од млека са пробиотским бактеријама,
- 4) кефир,
- 5) остали ферментисани производи од млека и
- 6) ферментисани млечни напитаи.

**Сиреви** су свежи производи или производи са различитим степеном зрелости, који се производе:

- 1) одвајањем сурутке након коагулације млека, павлаке, сурутке, или комбинацијом наведених сировина;
- 2) коришћењем технолошких решења, која укључују коагулацију млека, односно полупроизвода и производа добијених од млека, при чему се добија производ који се одликује истим физичким, хемијским и сензорним карактеристикама, као и производ који је добијен коагулацијом из тачке 1).

Сиреви се стављају у промет као:

- 1) сиреви са зрењем;
- 2) сиреви без зрења;
- 3) сир-качкаваљ.

**Сиреви са зрењем** су сиреви који имају процес зрења под одређеним условима и у одређеном временском периоду у којем се дешавају одговарајуће биохемијске и физичке промене када попримају специфичне сензорне карактеристике, у складу са произвођачком спецификацијом.

Назив сира у односу на **удео (%) млечне масти у сувој материји сира:**

Екстремасни	$\geq 60\%$
Пуномасни	$\geq 45$ и $< 60\%$
Полумасни	$\geq 25$ и $< 45\%$
Нискомасни	$\geq 10$ и $< 25\%$
Обрани	$< 10\%$

Назив сира у односу на **садржај (%) воде у безмасној материји сира:**

Екстра тврди	$< 51\%$ , <b>минимални период зрења:</b> не мање од шест месеци
Тврди	49 – 56%, не мање од пет недеља
Полутврди	54 – 69%, не мање од две недеље
Меки	$> 67\%$ , не мање од седам дана

Екстра тврди, полутврди и тврди сиреви могу се производити **са или без коре**, а кора се може заштити и премазати филмовима и заштитним премазима.



**Сиреви без зрења** су сиреви који се могу користити непосредно после производње:

- 1) свежи сиреви
- 2) свежи сиреви пареног теста

**Производи од сирева** су производи који садрже не мање од 50% садржаја сирева у укупној сувој материји производа, а производе се термичком обрадом или поступцима топљења и емулговања помоћу соли за топљење. У промету могу бити:

- 1) сирни намаз и сирни десерт
- 2) топљени сир
- 3) производи од топљеног сира

## Примери

### Пример за називање сира

Ако сир у 100 g производа садржи следеће:

Протеини.....24,0 g  
 Угљени хидрати..... 0,4 g  
 Масти.....23,0 g  
 Сува материја укупно...50,0 g

У сувој материји сира (у 50 g) има 23 g млечне масти. Удео (%) млечне масти у сувој материји сира је 46%, па се такав сир може назвати пуномасним.

У безмасној материји сира (100 g – 23 g = 77 g) има 50 g воде, што је 65%, па се такав сир може назвати полутврдим.

### Пример бодовне листе за оцењивање сензорних својстава јогурта са пробиотским културама

Производи	Бодовање	3	2	1	Укупно
Јогурт 500 g 1000 g	конзистенција	хомогена, густо – течна	делимично нехомогена	нехомогена, грудвичаста	од 4 до 12
	мирис	својствен мирис	благо промењен	несвојствен/ стран	
	укус	карактеристичан	благо промењен	прекисео или недовољно кисео	
	изглед	својствен изглед	благо издвајање сурутке	издвајање сурутке	

**ЗАДАЦИ:**

**1. Тумачење Правилника о квалитету производа од млека и starter култура**

Шта све обухвата и на шта се све односи (шта има у њему)?

**2. Одредити (израчунати) тврдоћу полумасног сира (са 40% млечне масти) који у 100 g производа садржи:**

Протеини:	24,0 g
Угљени хидрати:	0,4 g
Масти:	20,0 g

**3. Оценити сензорна својстава јогурта са пробиотским културама на основу бодовне листе.**

## 12. Стартер културе Јачина сирила Биотест

### Стартер културе

Стартер културе су мешавине једног или више различитих сојева једне или више бактеријских врста које својом активношћу усмеравају технолошки процес производње ферментисаних производа од млека и истовремено им дају одређена сензорна својства.

У производњи ферментисаних напитака од млека карактеристична су два типа ферментације лактозе у млеку:

- хомоферментативни тип, 90-95% продукта чини млечна киселина и
- хетероферментативни тип, поред млечне 50%, стварају се етанол и CO<sub>2</sub> (кефир и кумис).

#### Стартер културе према родовима микроорганизама:

- *Streptococcus* – најчешће врсте: *thermophilus*, *lactis*, *diacetylactis*
- *Leuconostoc* – врсте: *mesenteroides* и *lactis*. За ове врсте је значајно стварање гаса (CO<sub>2</sub>), као и диацетила и ацетона
- *Lactobacillus* – врсте: *delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *acidophilus*, *casei*
- *Bifidobacterium* – врсте: *bifidum*, *longum*, *infants*, *brevis*
- Квасци – редовна микрофлора у кефиру и кумису, док њихово присуство у другим производима представља контаминацију. Као стартери у кефирном зрну користе се: *Torulospora delbrueckii*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Klyveromyces*

#### За развој стартера неопходни су:

- оптимална температура,
- рН и
- време деловања.

Процес ферментације се прати мерењем рН вредности. Обично се ферментација прекида наглим хлађењем, при одређеној рН вредности.

Прекидање ферментације ради се обично на крају логаритамске фазе развоја микроорганизама и почетку стационарне фазе, односно у тренутку постизања оптималних сензорних особина производа.

Код ферментисаних производа циљ је да се потпуно заустави ферментација како не би више расла киселост. Код сира се након зрења спушта температура, процеси се знатно успоравају, али и даље трају.

Потребно је знати и који проценат инокулума треба додати. На пример *Lactobacillus acidophilus* (ацидофилно млеко) и *Bifidobacterium* (биојогурт) теже разлажу лактозу, па их треба додати у већим количинама.

#### Ефекти деловања стартера

Основни ефекти деловања стартера су редукција садржаја лактозе (20–30%) и продукција млечне киселине. Снижавањем рН вредности млека (конзервирајући

ефекат), долази до приближавања изоелектричној тачки казеина тако да казеинска мицела губи стабилност, коагулише се и уклапа остале састојке (из стања сола прелази у стање гела).

### Стартер културе за сиреве

Микроорганизми и њихови ензими имају кључну улогу у правилном одвијању процеса производње сирева. Стога се у савременој производњи придаје велики значај употреби квалитетног сирила и стартер култура. Њихова улога је у образовању специфичног укуса, мириса, општег изгледа и конзистенције сира.

Стартер културе за производњу сирева су доступне у следећим облицима:

- лиофилизоване културе за директно засејавање
- дубоко замрзнуте културе
- лиофилизоване културе намењене производњи техничких култура

## Сирило

**Сирило** се раније производило од сиришта телади – природно телеће сирило. Са развојем млекарске индустрије и повећањем производње, услед недостатка телећих сиришта, као алтернатива на тржишту појављују се још два типа сирила – 100% химозин и микробиолошка сирила.

Главна сврха сирила је да омогући згрушавање млека, а у процесу зрења сира да разлаже протеине до протеоза и пептона. Стабилност сирила зависи од температуре, рН вредности и концентрације соли. Дејство сирила зависи од температуре и рН млека, количине калцијумових јона у млеку, количине сирила, концентрације натријум хлорида, врсте сира, садржаја масти у сиру, као и од годишњег доба.

Под **јачином сирила** подразумева се количина свежег млека, изражена у милилитрима, коју 1 mL сирила у течности (или 1 g сирила у праху или сирила у таблетама) подсири при одређеној температури млека у одређеном времену (нпр. на 35°C за 40 минута): нпр. 1:10.000.

## Биотест

**Биотест** или **јогуртна проба** врши се као провера ферментације млека, тј. одсуства инхибиторних материја у млеку намењеном за производњу ферментисаних производа, нпр. јогурта. Ова проба даје одговор на питање може ли се достићи одговарајућа киселост и квалитет груша код испитиваног млека.

Проба се изводи тако што се 200 mL сировог или пастеризованог млека кува око 10 минута на 95°C, а затим се охлади на 42°C, дода се 2,5% јогуртне културе и инкубира се 2,5 сата при температури од 42°C. Након инкубације, испитује се чврстина груша и титрациона киселост методом по Сокслет–Хенкелу – киселост треба да је већа од 30°SH. Ако је киселост мања од 30°SH, узорак се враћа у инкубатор на још пола сата

Постоје и аутоматске методе где се посебним апаратима, нпр. на основу промене боје узорка млека, закључује о присуству инхибиторних материја у млеку.

## **ЗАДАЦИ**

**1. Одредити јачину сирила ако се зна да 2 mL сирила подсире 10 литара свежег млека, при температури млека од 35°C за 40 мин.**

## **2. Урадити биотест и прокоментарисати резултат**

Каква је то анализа? Сврха анализе, тј. шта се може сазнати из резултата ове анализе? На ком све млеку се ради ова анализа (од фарме до потрошача)? Шта је све потребно од прибора, материјала и услова за рад? Како се ради? Ваш налаз и стручно мишљење?

## 13. Посета лабораторији за испитивање квалитета млека

### Лабораторија за испитивање квалитета млека на Пољопривредном факултету у Новом Саду

Анализе које се врше у Лабораторији за испитивање квалитета млека на Пољопривредном факултету:

- Испитивање садржаја млечне масти, укупног протеина, лактозе и суве материје без масти
- Испитивање садржаја урее
- Одређивање присуства кетонских тела у млеку
- Испитивање садржаја укупног казеина
- Испитивање садржаја масних киселина (засићених, незасићених, мононезасићених и полинезасићених)
- Одређивање броја соматских ћелија
- Одређивање укупног броја бактерија
- Испитивање тачке мржњења криоскопском методом
- Испитивање резидуа антибиотика
- Испитивање садржаја млечне масти методом по Герберу

**Апарати за анализу сировог млека** (видети Прилоге 18 и 19)

**Милкоскан** (*MilkoScan*) апарат служи за испитивање хемијског састава сировог млека. Применом инфрацрвене спектрофотометрије са Фуријеовом трансформацијом (FTIR) може да се одреди садржај:

- млечне масти,
- протеина,
- лактозе,
- суве материје,
- суве материје без масти,
- урее,
- масних киселина,
- казеина и
- тачка мржњења.

Пре анализе узорци се загреју на температуру од  $40\pm 2^\circ\text{C}$ . Апарат меша узорак и узима око 5mL узорка млека. Апарат може да анализира до 400 узорака на сат.

**Фосоматик** (*Fossomatic*) апарат служи за одређивање броја соматских ћелија у сировом млеку методом проточне цитометрије. Пре анализе узорци се загреју на температуру од  $40\pm 3^\circ\text{C}$ . Апарат хомогенизује (меша) узорак и узима око 2,5 mL узорка млека. Апарат може да анализира до 400 узорака на сат.

**Бактоскан** (*BactoScan*) апарат служи за одређивање укупног броја бактерија у сировом млеку методом проточне цитометрије. Узорци млека треба да се конзервишу азидиолом. Пре анализе узорци се загреју на температуру од  $30 - 35^\circ\text{C}$ . Апарат хомогенизује (меша) узорак и узима око 4,5 mL узорка млека. Апарат може да анализира до 150 узорака на сат.

## **ЗАДАЦИ**

### **Забележити запажања у вези са радом лабораторије**

Динамика стизања узорака

Пријем узорака

Складиштење узорака

Припрема узорака за анализе

Анализе

Резултати

Транспортно возило

Упутство за узорковање

Посуде за узорковање (видети бочицу у Прилогу 1)

Конзерванси

- Који се користе?
- За шта служе?
- Откуд боја и зашто?

## 14. Организација поступка са млеком и примена НАССР система у млекари (Посета млекари)

### Организација рада у млекари

#### Организације млекарске индустрије

- Производња
- Сакупљање
- Прерада
- Продаја

#### Сакупљање млека

- Сабирно место
- Сабирна млекара
- Млекара

#### Прерада млека

- У индустријским објектима
- У занатским објектима
- Прерада у домаћинству

#### Према врсти производа млекаре могу бити:

- Млекаре конзумног типа
- Сираре
- Масларе
- Прашкаре
- Мешовите

### НАССР систем у млекари

**НАССР систем** (**H**azard **A**nalysis and **C**ritical **C**ontrol **P**oints) је систем који идентификује, дефинише, процењује и контролише значајне опасности по безбедност хране.

**Анализа опасности** представља процес прикупљања и оцене информација о опасностима, које су значајне за безбедност хране и које морају бити укључене у НАССР план и утврђује ниво ризика од сваке идентификоване опасности.

**Опасност** је сваки биолошки, хемијски или физички агенс у храни/производу, који може да има неповољан утицај на здравље. Озбиљност опасности зависи од тежине последица по здравље потрошача, изазвано присуством биолошке, хемијске или физичке материје.

**Хигијена прехранбених производа** обухвата скуп мера неопходних за безбедности производа од микробиолошке контаминације.

**Безбедност прехранбених производа** се односи на безбедност у смислу одсуства биолошких, хемијских и физичких материја које би могле да представљају опасност по здравље потрошача.

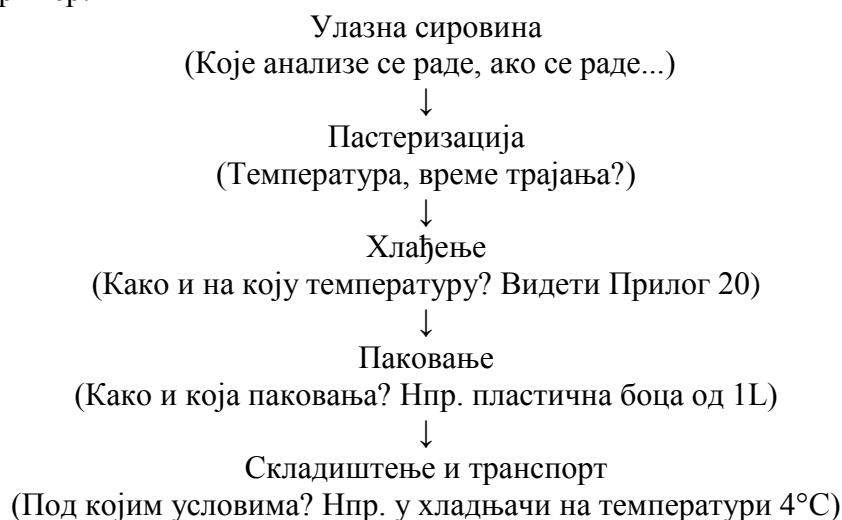
**Здравствено исправни производи** задовољавају захтеве Закона о здравственој исправности намирница у промету.



**Мониторинг** јесте спровођење низа планираних активности које се односе на мерење, узимање узорака и праћење различитих параметара у одређеном временском интервалу, ради увида у здравствену исправност производа и њихов евентуално штетан утицај на здравље људи као и увид у правилну примену прописа из ове области.

**Дијаграм тока процеса производње производа** подразумева шематски или табеларни приказ тока процеса производње по корацима, од почетка до краја, тј. до паковања и складиштења: **Улази – Процесни кораци – Излази**

На пример:



**Критична контролна тачка** (ККТ) представља један процесни корак (нпр. пастеризација) у којем постоје мерљиве опасности по квалитет или безбедност производа (нпр. пад температуре и скраћење времена пастеризације). За сваку дефинисану опасност треба да постоји шта је, и колика је критична граница (нпр. за температуру: испод 72°C, за време трајања: испод 15 секунди).

Произвођач прехранбених производа је дужан да за сваку критичну контролну тачку документује корективне мере које предузима у случају када се прекораче критичне границе. Активности које се том приликом предузимају могу бити унапред дефинисане, али се могу и тренутно дефинисати и примењивати, о чему одлучује НАССР тим. Предузете корективне мере треба да дефинишу начин на који ће бити утврђена неусаглашеност и како се она може отклонити (нпр. поновити пастеризацију).

О предузетим корективним мерама води се евиденција где се наводи која је неусаглашеност/девијација у питању, њен узрок, као и да ли је узрок елиминисан, а ККТ под контролом, након спроведене корективне мере. Уз то у евиденцију се уносе и превентивне мере, диспозиција производа и верификација.

У оквиру мониторинга критичне контролне тачке треба да стоји када је вршено испитивање/мерење (нпр. у 9 и у 14 часова), како је испитано/мерено (нпр. читавањем са екрана или са траке), ко је испитао/мерио (име и презиме), да ли треба предузети корективне мере (нпр. треба / не треба, ако треба: поновити пастеризацију), постоје ли записи у вези са тим и који су, и на крају ко потврђује (верификује) извршени мониторинг (навести ко је одговорно лице).

Потребно је направити разлику између критичних контролних тачака на основу тога која тачка је критична са аспекта квалитета, а која са аспекта безбедности датог производа.

**ЗАДАЦИ:**

**1. Приказ дијаграма тока процеса производње производа за изабрани производ.**

**2. Мониторинг критичне контролне тачке. Попунити табелу.**

**Евиденција о мониторингу критичне контролне тачке**

<b>ККТ бр. _____</b>	<b>Датум и време:</b>	<b>Напомене</b>
Процесни корак:		
Опасност(и):		
Шта је и колика је критична граница?		
Када је испитано/мерено?		
Како је испитано/мерено?		
Ко је испитао/мерио?		
Да ли треба предузети корективне мере? Које?		
Записи?		
Ко потврђује (верификује) извршени мониторинг?		

**3. Предузете корективне мере. Попунити табелу.**

**Евиденција о предузетим корективним мерама**

Корективне мере: евиденција		
Производ:		Ознака производне партије:
Датум:	Време:	Одговорно лице:
Неусаглашеност/девијација:		
Узрок неусаглашености:		
Узрок неусаглашености елиминисао/ла:		
ККТ под контролом, након спроведене корективне мере:		
Превентивне мере:		
Диспозиција производа:		
Верификација:		

## **15. Хигијенска контрола млекарске опреме и судова (Посета млекари)**

### **Контрола посуда за млеко и млекарских уређаја**

Посуде које служе за прихватање и транспорт млека, као и сва остала млекарска опрема за обраду и прераду млека морају да се редовно перу и дезинфикују. Ефекат ових хигијенских мера у млекарству треба редовно контролисати. Контрола може бити визуелна, али је најсигурније извршити бактериолошки преглед. Ово се углавном заснива на принципу испирања посуда стерилном водом, Рингеровим или физиолошким раствором у којима се одређује број бактерија, или директним бројањем колонија на отиску агара узетог са одређене површине или узимањем брисева.

**Оцена добре произвођачке и добре хигијенске праксе (GMP/GHP) у млекари, односи се на оцену хигијене на следећим нивоима:**

**А. Улазна сировина** (Шта се све контролише, које анализе се раде, да ли налази одговарају Правилнику?)

**Б. Прерада** (са аспекта хигијене)

**В. Особље и поступци**

1. Обученост радника (Ко све ради у млекари, тј. које професије? Нпр. технолог, лаборант, спремачица, возач...)
2. Програм контроле здравља особља (Које контроле и колико често? Санитарна књижица?)
3. Употреба заштитне опреме (Која и каква опрема се користи? Нпр. бели мантили, капе, маске, рукавице... обућа...)
4. Употреба опреме за прање и санитацију (Ко, када и како? Нпр. пре процеса производње / после процеса производње, која средства – кисела, базна..., колико дуго?)
5. Корективне акције у случају контаминације (Предвиђене или нису, ако јесу, примери)
6. Остали поступци (Ако их има...)

**Г. Одржавање и хигијена просторија** (Ко ради, како то ради, колико често, и ко врши надзор?)

1. Одржавање и хигијена просторија, опреме и средстава (чишћење)
2. Програм одржавања
3. Околина млекарне
4. Распоред просторија
5. Надзор над штеточинама
6. Дренажа и отпадне воде (мониторинг воде)

**Д. Опште стање и управљање млекарском** (Управа млекарне, контакт са радницима и однос према радницима, набавка сировине, пласирање производа...)

**ЗАДАТАК:**

**1. Оцена добре произвођачке и добре хигијенске праксе (GMP/GHP) у млекарни. Описати и прокоментарисати следеће:**

- А. Улазна сировина
- Б. Прерада
- В. Особље и поступци
- Г. Одржавање и хигијена просторија
- Д. Опште стање и управљање млекарном

## Коришћена и препоручена литература

- Бачић Г. **Дајагностика и лијечење маститиса у говеда**. Ветеринарски факултет, Загреб, 2009.
- Бобош С, Видић Б. **Млечна жлезда преживара-морфологија, патологија, терапија**. Монографија Пољопривредни факултет Нови Сад, 2005.
- Булајић С, Ледина Т, Улога **бактерија млечне киселине у преносу гена резистенције на антибиотице**, 5. Симпозијум, Безбедност и квалитет намирница анималног порекла, Зборник радова 43 – 52, Факултет ветеринарске медицине Београд, 2016.
- Катић В, **Превентива маститиса**, Зборник радова, 69 – 81, Научни симпозијум „Обољења млечне жлезде“, Дивчибаре, 2010.
- Катић В. **Практикум из хигијене млека**. Ветеринарска комора Београд, 2007.
- Катић В, **Мониторинг афлатоксина М<sub>1</sub> у млеку у Републици Србији**, Зборник радова са 4. Симпозијума безбедност и квалитет намирница анималног порекла, 31 – 46, Факултет ветеринарске медицине Београд, 2014.
- Катић В, Булајић С. **Хигијена и технологија млека**. Факултет ветеринарске медицине Београд, 2018.
- Катић В, Мијачевић З. **Значај броја соматских ћелија за дијагностику мастита и оцену квалитета млека**, Зборник предавања XXVII семинара за иновације знања ветеринара, 83 – 95, Београд, 2006.
- Стојановић Ј, Катић В. **Хигијена млека**. Ветеринарска комора Београд, 2011.
- Савић Радовановић Р, Бабић М, Здравковић Н, Чалић М, Бабић П, Крстић В, Илић В, **Маститис крава проузрокован са *Pseudomonas spp.***, Зборник предавања са 7.научног симпозијума Репродукција домаћих животиња, 139 – 140, Дивчибаре, 2016.
- Савић Радовановић Р., Катић В., Велебит Б., **Процена ризика од налаза ентеротоксина стафилокока у меким сиревима**, Зборник радова са 5. Симпозијума безбедност и квалитет намирница анималног порекла, 27 – 42, Факултет ветеринарске медицине, Београд, 2016.
- Стојић В. **Ветеринарска физиологија**, треће измењено и допуњено издање, Научна књига, Београд, 2004.
- Bradley AJ, 2002, **Bovine mastitis:An Evolving Disease**, The veterinary Journal 2020, 164, 116 – 128.
- Mansel WG. Improving the safety and quality of milk, Volume 1: **Milk production and processing**. Woodhead Publishing Limited, 2010.
- Mansel WG. Improving the safety and quality of milk, Volume 2: **Improving Quality in Milk Products**. Woodhead Publishing Limited, 2010.
- Nickerson SC, Akers RM, **Mammary Gland Anatomy**.In: Fuqay JW, Fox PF, McSweeney PHL (eds.), **Encyclopedia of Dairy Sciences**, Second Edition, vol.3 pp.328-337, san Diego: Academic Press. 2011.
- Teale CJ, and David G, **Antibiotic Resistance in Mastitis Bacteria**, Proceedings of the British Mastitis Conference, 24 – 29, Institute for Animal Health, 1999.
- Turnipseed SB, Andersen WC. **Veterinary drug residues**, In: Picó, Y (Ed), Comprehensive Analytical Chemistry, vol. 51.Elsevier, amsterdam, 307 -338, 2008.

**Нормативни акти:**

**Codex Alimentarius: Food hygiene.** Basic texts. Fourth edition, 2009.

**Commission Regulation (EC) No 2073/2005** on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union, 2005. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073&from=EN>

**Водич за примену микробиолошких критеријума за храну**, Министарство пољопривреде, трговине, шумарства и водопривреде Републике Србије, Београд, 2011.

[http://www.vet.minpolj.gov.rs/veterinarsko\\_javno\\_zdravstvo/instrukcije\\_i\\_vodici/Vodici\\_za\\_mikrobioloske\\_kriterijume\\_za\\_hranu.pdf](http://www.vet.minpolj.gov.rs/veterinarsko_javno_zdravstvo/instrukcije_i_vodici/Vodici_za_mikrobioloske_kriterijume_za_hranu.pdf)

**Закон о безбедности хране**, Сл. гласник РС, бр. 41/2009 и 17/2019

**Закон о ветеринарству**, Сл. гласник РС, бр. 91/2005, 30/2010, 93/2012 и 17/2019 - др. закон

**Закон о добробити животиња**, Сл. гласник РС, бр. 41/2009

**Правилник о квалитету и другим захтевима за млеко, млечне производе, композитне млечне производе и стартер културе**, Службени лист СРЈ, 26/2002, Службени лист СЦГ, 56/2003 - др. правилник, 4/2004 - др. правилник и 5/2004 и Службени гласник РС, 21/2009 - др. правилник и 33/2010 - др. правилник

**Правилник о квалитету производа од млека и стартер култура**, Сл. гласник РС, бр. 33/2010, 69/2010, 43/2013 – др. правилник и 34/2014

**Правилник о квалитету сировог млека**, Сл. гласник РС, бр. 106/2017

**Правилник о општим и посебним условима хигијене хране у било којој фази производње, прераде и промета**, Сл. гласник Републике Србије, број 72/2010 и 62/2018 и 30/2024

**Правилник о условима хигијене хране**, Сл. гласник Републике Србије, број 73/2010



## ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Епрувете и бочица за узимање узорака млека .....	67
Прилог 2. Одређивање титрационе киселости млека .....	68
Прилог 3. „Пиштољ“ за алкохолну пробу .....	69
Прилог 4. Позитивна алкохолна проба .....	69
Прилог 5. Ручни рефрактометар .....	70
Прилог 6. Дигитални рефрактометар .....	70
Прилог 7. Одређивање садржаја млечне масти по Герберу .....	71
Прилог 8. Лактодензимерат и мензура (одређивање густине млека) .....	72
Прилог 9. Пикнометар (одређивање густине млека) .....	72
Прилог 10. Соматске ћелије под највећим увећањем светлосног микроскопа .....	73
Прилог 11. Маститис тест .....	74
Прилог 12. Тестатор за маститис тест .....	75
Прилог 13. Драмински маститис детектор .....	75
Прилог 14. Одређивање укупног број бактерија у млеку засејавањем на хранљиву подлогу – бројање колоније на бројачу .....	76
Прилог 15. Примери раста различитих колонија на хранљивим подлогама .....	77
Прилог 16. SNAP тест за одређивање присуства резидуа антибиотика у млеку ...	78
Прилог 17. Charm MRL™ тест - инкубатор и тест траке за одређивање присуства резидуа антибиотика у млеку .....	78
Прилог 18. Милкоскан ( <i>MilkoScan</i> ) и Фосоматик ( <i>Fossomatic</i> ) апарати .....	79
Прилог 19. Бактоскан ( <i>BactoScan</i> ) апарат .....	79
Прилог 20. Термометри за млеко .....	80



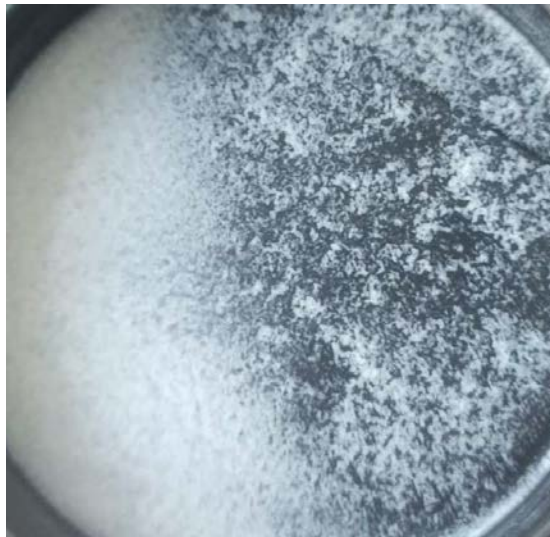
**Прилог 1.** Епрувете и бочица за узимање узорака млека



Прилог 2. Одређивање титрационе киселости млека



**Прилог 3.** „Пиштољ“ за алкохолну пробу



**Прилог 4.** Позитивна алкохолна проба

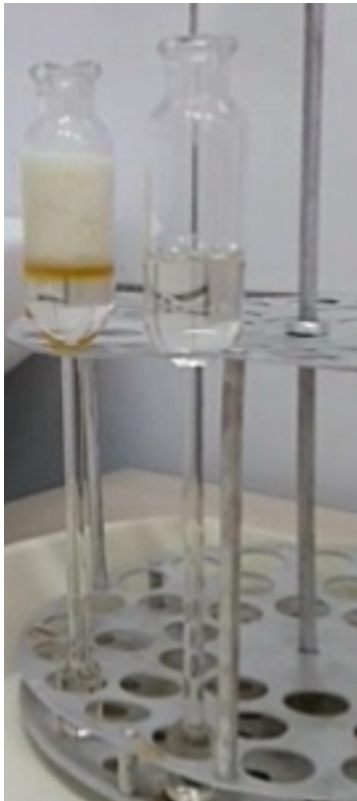


Прилог 5. Ручни рефрактометар



Прилог 6. Дигитални рефрактометар

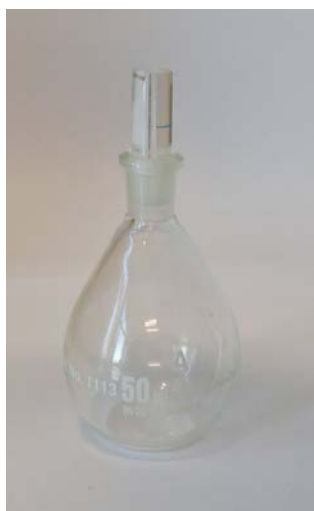




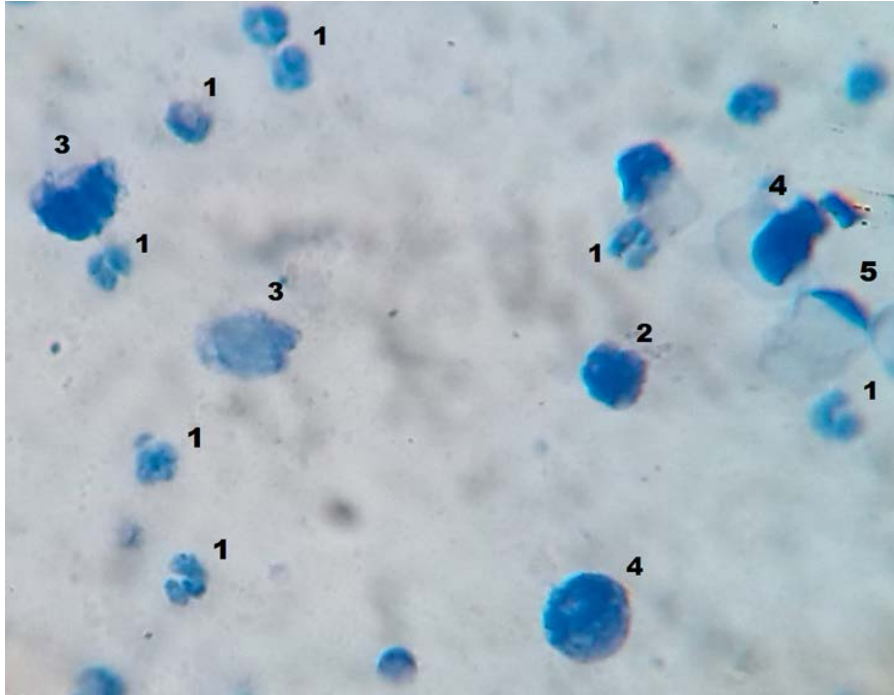
**Прилог 7.** Одређивање садржаја млечне масти по Герберу  
(фото: Мирјана Симоновић)



**Прилог 8.** Лактодензимерат и мензура (одређивање густине млека)



**Прилог 9.** Пикнометар (одређивање густине млека)



**Прилог 10.** Соматске ћелије под највећим увећањем светлосног микроскопа  
(фото: Ана-Марија Черњански)

- Легенда:
- 1. ПМН
  - 2. моноцит
  - 3. макрофаг
  - 4. лимфоцит
  - 5. остале ћелије





**Прилог 11.** Маститис тест  
(фото: Мирјана Симоновић)



**Прилог 12.** Тестатор за маститис тест

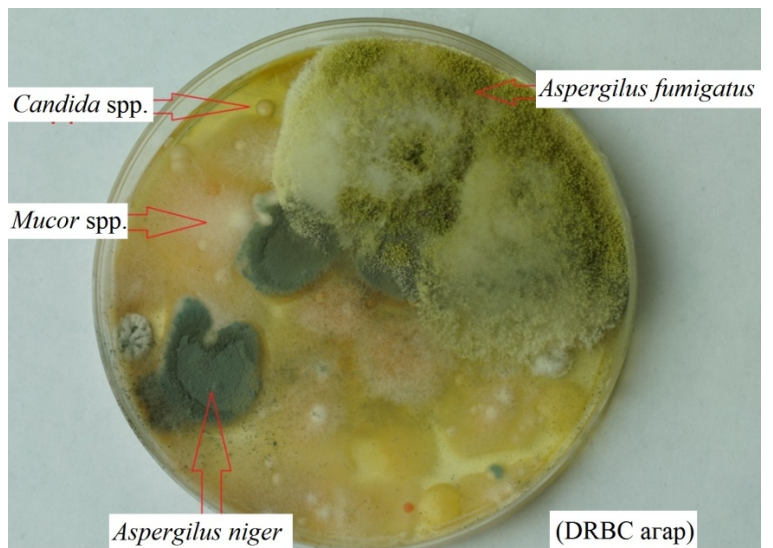
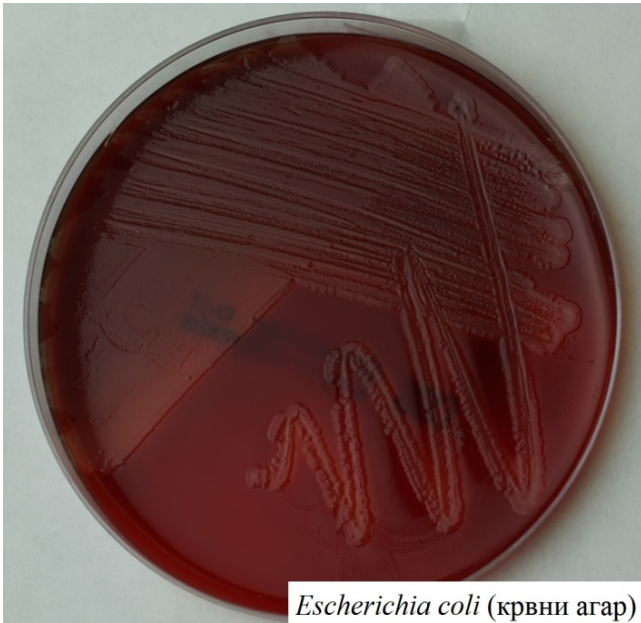


**Прилог 13.** Драмински маститис детектор



**Прилог 14.** Одређивање укупног број бактерија у млеку засејавањем на хранљиву подлогу – бројање колоније на бројачу





**Прилог 15.** Примери раста различитих колонија на хранљивим подлогама  
(фото: Мирјана Симоновић)



**Прилог 16.** SNAP тест за одређивање присуства резидуа антибиотика у млеку



**Прилог 17.** Charm MRL™ тест - инкубатор и тест траке за одређивање присуства резидуа антибиотика у млеку



**Прилог 18.** Милкоскан (*MilkoScan*) и Фосоматик (*Fossomatic*) апарати



**Прилог 19.** Бактоскан (*BactoScan*) апарат





**Прилог 20.** Термометри за млеко

### О аутору

**Др Марија Пајић** (девојачко презиме: Нешић), рођена је 12. априла 1978. у Сенти. Детињство је провела у Мољу где је завршила основну школу. Завршила је Гимназију „Јован Јовановић Змај” у Новом Саду. Студије ветеринарске медицине уписала је 1997. године на Факултету ветеринарске медицине Универзитета у Београду. Године 1999. добија стипендију Републике Мађарске и студије наставља на Универзитету ветеринарских наука у Будимпешти. У Србију се враћа 2001. године и 2006. године завршава студије у Новом Саду, на Пољопривредном факултету, са просечном оценом 9,00. На Департману ветеринарске медицине Пољопривредног факултета у Новом Саду 2008. године завршила је Мастер студије, а 2014. године Докторске студије са просеком 10,00. Запослена је на Пољопривредном факултету у Новом Саду од 2007. године, када је изабрана у звање сарадника у настави, а затим у звање асистента 2009. године. У звање доцента изабрана је 2015. године, а 2020. године у звање ванредног професора за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа. До сада је аутор и коаутор више од сто научних радова и саопштења. Као истраживач учествовала је у реализацији једног међународног и четири домаћа пројекта. Била је ментор на две докторске дисертације и на великом броју дипломских и студентских радова. Говори енглески, немачки и мађарски језик.



ISBN 978-86-7520-617-0