

a dalším přeočkováním a přečištěním byly získány jednotlivé izoláty z hmoty testovaných sýrů i z povrchových vrstev těchto sýrů. U jednotlivých izolátů byla pro orientační stanovení dekarboxylázové aktivity a tvorbu aminů použita jedna z v literatuře popisovaných živných půd (MDA agar) podle Bover-Cid et al. Plotnová kultivační metoda je zde založena na barevné reakci provázející změnu pH a případně i tvorbě čiré zóny kolem kolonie v živné půdě zakalené v důsledku přebytku směsi aminokyselin. Zkumavkovou metodou za použití MDA bujónu se dekarboxylázová aktivita projevuje stejně barevnou reakcí a případně úbytkem či úplným vymizením sedimentu způsobeného dekarboxylací nadbytku aminokyselin obsažených v bujónu.

Soubor izolátů s pozitivní dekarboxylázovou aktivitou byl následně zúžen a vytvořen soubor izolátů, které by byly identifikovány do rodu a druhu, u kterých by mohla být byla určena přítomnost genů odpovědných za produkci některých významných dekarboxyláz a také stanovena schopnost skutečné tvorby biogenních aminů za optimálních kultivačních podmínek.

Výsledky a diskuze

Celkem bylo získáno více jak 100 jednotlivých izolátů z těchto druhů tuzemských i zahraničních sýrů: Luzerner Rahmkäse, ementál Kaltbach, Gruyer Kaltbach, Gouda Winzer, Swiss Alp panorama, Weiss Alp belevue, Fuego, Blaťácké zlato, Romadur, Jarošovský pivní sýr, moravský blok, eidamská cihla, Hermelín, Archivní sýr, olomoucké tvarůžky, sýr Danisgold zrající pod mazem a Danisch Weichkäse Blauschimmel.

Následně byla u celé skupiny získaných izolátů orientačně stanovena dekarboxylázová aktivita a tvorba aminů za použití MDA bujónu a MDA agaru. Tato plotnová metoda ukázala dobrou korelaci s chemickým rozбором a kvůli její jednoduchosti je v literatuře uváděna jako vhodná a citlivá metoda pro zkoušení produkce biogenních aminů kmeny LAB i dalšími mikroorganismy. Celkem bylo v předcházejícím roce získáno více jak 70 izolátů ze sýrů, které vykazaly pozitivní reakci vytvořením barevné zóny kolem kolonií. Izoláty byly uloženy k dalšímu testování.

Posledním krokem provedeným v této etapě řešení byl další výběr a vytvoření souboru 48 izolátů, který byl odeslán na identifikaci do ČSM Brno, na MZLU k identifikaci genů odpovědných za produkci dekarboxyláz a na SVÚ Jihlava ke stanovení obsahu jednotlivých biogenních aminů.

Výsledky těchto rozborů byly získány v průběhu prvního čtvrtletí 2009 a v současné době jsou podrobně vyhodnocovány. Na základě vyhodnocení získaných výsledků bude vytvořen pracovní soubor izolátů, který bude možno dále rozšířit či zúžit a následně využít pro řešení dalších dílčích cílů projektu.

Poděkování

Tato práce byla vytvořena za podpory grantu MŠMT 2B08069 a VZ MSM 2672286101.

Literatura:

- BARDOČZ, S. (1993). The role of dietary polyamines. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 47: 683-690. ISSN 0954-3007.
- BOVER-CID, S.; HOLZAPFEL, W.H. (1999). Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. of Food Microbiology* 53: 33-41
- BURDYCHOVÁ, R.; KOMPRDA, T. (2007). Biogenic amine-forming microbial communities in cheese. *FEMS Microbiology Letters*. 276 (2): 149-155. ISSN 0378-1097.
- KOMPRDA, T. (2005). Biogenní aminy a polyamidy ve fermentovaných potravinách živočišného původu. *Veterinářství*, 10: 646-650.
- KOMPRDA, T.; NOVICKÁ, K.; KALHOTKA, L.; SMĚLÁ, D. (2005). Biogenic amine content in sterilised and pasteurised long-term stored processed cheese. *Czech Journal of Food Sciences - Potravinářské vědy*. 23 (5): 209-216. ISSN 1212-1800. KOMPRDA, T.; SMĚLÁ, D.; NOVICKÁ, K.; KALHOTKA, L.; ŠUSTOVÁ, K.; PECHOVÁ, P. (2007). Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food Chemistry*, 102: 129-137. ISSN 0308-8146.
- KŘÍŽEK, M.; KALAČ, P. (1998). Biogenní aminy v potravinách a jejich role ve výživě. *Czech J. of Food Sci.* 16, č.4: 151-159.
- NOVELLA-RODRIGUEZ, S.; VECIANA-NOGUÉS, M. T.; ROIG-SAGUÉS, TRUJILLO-MESA, A. J.; VIDAL-CAROU, M. C. (2002). Influence of Starter and Nonstarter on the Formation of Biogenic Amine in goat Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Science*. Vol. 85 (10): 2471-2478. ISSN 1525-3198.
- SLÁDKOVÁ, P.; KOMPRDA, T.; BURDYCHOVÁ, R. (2007). Skrining startovacích a probiotických kultur určených pro výrobu fermentovaných masných výrobků na schopnost tvorby biogenních aminů. In *MendeNet'07 Agro*. MZLU v Brně: MZLU v Brně, 2007: 96. ISBN 978-80-7375-119-7.
- VIDAL-CAROU, M.; IZQUIERDO-PULINO, M.; MARTIN-MORRO, M. and MARINÉ-FONT, A. (1990). Histamine and tyramine in meat products: relationship with meat spoilage. *Food Chem.* 37: 239-249.
- Zákon č.110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích v platném znění

Přijato do tisku 10. 7. 2009

Lektorováno 29. 7. 2009

KONTROLA A MONITOROVÁNÍ ÚROVNĚ A ÚČINNOSTI SANITACE V MLÉKÁRENSKÝCH PROVOZECH

Kunová G.¹, Pechačová M.¹, Peroutková J.¹, Roubal P.¹, Jaglič Z.², Pazlarová J.³

¹ - MILCOM a.s., Praha

² - Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

³ - Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Control and monitoring the level and effectiveness of sanitation in dairy industries

Abstrakt

V rámci kontroly úrovně a účinnosti sanitace výrobních celků byly vybrány některé rizikové technologie, kde byly testovány různé metody detekce mikroorganismů na povrchích a odzkoušeny některé z tzv. nepřímých rychlých kontrolních metod dostupných na našem trhu, a to: přístroj **HY-LITE**[®] na měření adenosin trifosfátu (ATP); test

PRO-TECT™ Clean-Trace, Surface Protein Plus, za pomoci kterého lze detekovat proteiny a redukující sacharidy zůstávající při nedokonalém vyčištění zařízení; obtiskové testy - **Hygicult® TPC** na celkové počty a kontaktní misky **TSA - Trypton Soya Agar s disinhibitorem**, médium pro stanovení počtu kolonií po úklidu a dezinfekci; **GTK agar a Petrifilm™ Aerobic Count Plates** pro stanovení celkového počtu mikroorganismů.

Metoda bioluminiscence (za pomoci měření ATP) se prokázala jako vysoce citlivá metoda, která je rychlým indikátorem celkového organického znečištění a zahrnuje také mikrobiální kontaminaci, i když neříká nic o zastoupení jednotlivých druhů.

Další sledované metody se také osvědčily jako spolehlivé způsoby samokontroly a prokázaly opodstatněnost jejich použití v provozních podmínkách. Výhody těchto metod spočívají především v snadné proveditelnosti, nezávislosti na zkušenostech personálu, lehké manipulaci a reprodukovatelnosti výsledků v krátkém časovém intervalu.

Bylo by tedy vhodné, aby se tyto nebo i jiné dostupné screeningové metody využívaly v praxi výrobci ve větším měřítku, nejlépe v kombinaci s tradiční kultivační metodou. Vhodnost a spolehlivost jednotlivých metod závisí především na typu provozu a místech kontroly.

Abstract

As part of the level control and efficiency of sanitation of production units some high-risk technologies have been selected, various methods for detection of microorganisms on surfaces were tested and some of the so-called indirect rapid control methods available in our market tested, more specifically: the **HY-LITE®** for the measurement of adenosintriphosphate (ATP); the **PRO-TECT™ Clean-Trace**, which is one of the simplest protein tests, with a help of which one can detect a minimum amount of organic impurities remaining after the imperfect equipment cleaning. Furthermore, the press contact methods were used; **Hygicult® TPC** for determining the total count of microorganisms and **TSA (Tryptone Soya Agar)** with disinhibitor, a ready for use cultivating medium for determining the number of colonies after cleaning and disinfection. To determine the total count of microorganisms **GTK agar** and **Petrifilm™ Aerobic Count Plates** have been used.

Bioluminescence method (using ATP measurement) has proven to be a highly sensitive method which is a quick indicator of total organic pollution including also microbial contamination. It does not say anything about representation of species, though.

Other tested methods have also proven to be reliable methods of auto-control and have demonstrated the merits of their use in operating conditions. Advantages of these methods are easy handling and reproducibility of results within a short timeframe and independence from the experience of staff. It would therefore be appropriate these or other available screening methods to be used in practice by manufacturers on a larger scale, preferably in combination

with a traditional cultivation method. Suitability and reliability of each method depends mainly on location of control and type of operation.

Klíčová slova: sanitace, rychlé metody hodnocení hygieny, hygiena provozu, biofilmy, ATP

Úvod

Dodržování standardních hygienických postupů je v dobře řízeném výrobním podniku samozřejmostí a účinnost dohledu nad potravinářsky rizikovými mikroorganismy se zlepšila zejména díky aplikaci systémů analýzy nebezpečí a kritických kontrolních bodů (HACCP), správné výrobní praxe (SVP) a správné hygienické praxe (SHP)^(1, 2). Ve výrobních procesech jsou zavedené určité technologické postupy, které snižují nebo zcela eliminují za standardních podmínek mikrobiologickou kontaminaci potravin. Přesto dochází ve světě, ale i u nás, k epidemiím alimentárního původu, a tyto kontaminanty jsou v potravinách prokazovány⁽³⁾.

Nečistoty kontaminující povrchy zařízení jsou vhodným živným prostředím a kromě toho chrání mikroorganismy před působením dezinfekčních prostředků. Tam, kde jsou správně prováděny čistící a dezinfekční postupy, může být bakteriální kontaminace mléka ze zařízení menší než 10^2 bakterií na 1 ml mléka. Vazba nečistot na povrch zařízení je dána fyzikálně-chemickými vlastnostmi povrchu a nečistoty, jako jsou např. smáčivost, povrchové napětí, tvrdost vody, reaktivita nečistoty vůči povrchu, tvar a velikost částic nečistoty, adsorpce k povrchu, porozita povrchu a pod.⁽⁴⁾ Mezi často kontaminovanými povrchy v mlékárenských podnicích jsou i po sanitaci podle zavedených validovaných postupů dopravní pásy, nerezové povrchy potrubních systémů a další otevřená zařízení a prostory⁽³⁾.

Zvyšující se důraz na hygienu nutí zpracovatele surovin a výrobce potravin používat chemické sanitační látky ve velkém množství, a to přispívá k selekci mikroorganismů rezistentních k biocidním preparátům⁽³⁾ a má za následek kontaminaci potravin přímo z výrobního prostředí^(5, 6). Zvyšování dávkování a koncentrace dezinfekčního prostředku na ošetření povrchů je možné jen do té míry, kdy nedochází k ohrožení výrobku z hlediska chemických reziduí. Agresivní dezinfekcí zároveň dochází k eliminaci užitečné mikroflory, což vede k značným ztrátám na chuti, vůni a typických vlastnostech produktu⁽⁷⁾.

Když se mluví o hygieně a čistotě, nelze nezpomenout fenomén biofilmu, jako výsledku kolonizace bakterií na površích technologických zařízeních. Vlastnosti bakterií rostoucích ve formě biofilmu mohou být výrazně odlišné od vlastností bakterií stejného druhu rostoucích v planktonické formě⁽⁸⁾, což z hlediska bezpečnosti potravin představuje závažný problém. Důkazem vysoké odolnosti mikroorganismů v ochranné bariéře biofilmu jsou izolace kontaminujících bakterií i po přísných čistících a dezinfekčních procesech^(5, 9).

V potravinářském průmyslu je při výrobě potravin monitorování hygieny absolutní nutností. Pro výrobce potravin to znamená povinné kontroly, které musejí sami provádět spolu s ověřením a dokumentací. K provádění kontroly vstupních surovin, jednotlivých výrobních kroků a finálního výrobku se využívají tradiční metody: vizuální kontrola jako rychlý způsob, nebo mikrobiologie jako sofistikovaný způsob. Tyto tradiční metody mají ovšem své nevýhody: vizuální kontroly nejsou dostačující, protože nečistoty a zbytky potravin nemusejí být vidět a mikrobiologické vyšetření trvá několik dní⁽¹⁰⁾. V současnosti se nabízejí stále nové metody, za pomoci kterých lze rychle detekovat a monitorovat hygienickou úroveň a čistotu výrobních prostor a zařízení. Cílem prezentované práce bylo poukázat na některé výhody, resp. nevýhody, těchto metod, srovnání jejich spolehlivosti s tradičními metodami kultivace a celkový hygienický monitoring.

Materiál a metodika

Z povrchů výrobních zařízení a prostředí dvou mlékáren bylo odebráno 30 stěrů: z UHT provozu (vyrovnávací nádrže, výstup z výdržníku, plničky), z máslárny (uzravače, násypka), z provozu na výrobu sýrů (solné lázně, výrobník sýřeniny, předlisovací vany, lisovací tvořítka, kovové rošty na sýry do solné lázně), z cisteren (přiklapy, výpustě), z tvarohárny (tank na koagulát, kontejnery na tvaroh, potrubí), ze zásobních tanků na syrové mléko (víko, mezikruží, vnitřní stěna), z tanků na syrovou smetanu a z vyrovnávací nádrže pastéru.

Odběr stěrů byl vykonán do dvou hodin od ukončení pravidelného čištění a dezinfekce v provozech. Stěry pro mikrobiologický rozbor byly odebírány za pomoci vlastnoručně vyrobené vysterilované škrabky z plastu a natáček typu suchý zip (cílem bylo získat drsnou plochu pro seškrab biofilmů nejenom z povrchových vrstev). Stěry byly odebírány z plochy 10 x 10 cm a byly vytřepány do 10 ml pufrované peptonové vody. Takto odebraný vzorek se v peptonové vodě resuscitoval 2 hodiny při teplotě 37 °C v termostatu, pak se promíchal na vortexu a byl zpracován standardní mikrobiologickou metodou za použití desetinných ředění a metody přelivem.

Ke stanovení celkového počtu mikroorganismů byl použit **GTK agar** (Milcom a.s., ČR). Kultivace probíhala při 30 °C po dobu 72 hod. Rovněž byl použit **Petrifilm™ Aerobic Count Plates agar** (3M, USA), kdy kultivace probíhala při 30 °C po dobu 48 hod. Dále byly použity obtiskové metody; **Hygicult® TPC** na celkové počty (Orion Diagnostica, Finsko) a **TSA (Trypton Soya Agar) s disinhibítorem** (Oxoid, Velká Británie). **Hygicult® TPC** je testovací souprava nesoucí kultivační médium a je určena k monitorování mikrobiální kontaminace v potravinářském průmyslu. Odběr vzorků a inokulace se provádí ponořením do testovaného materiálu, otiskem testované plochy nebo stěrem. Po následné inkubaci se výsledky snadno vyhodnocují porovnáním četnosti kolonií na testu s modelovou tabulkou. Počítání kolonií není nutné. **TSA (Trypton Soya**

Agar) s disinhibítorem je hotové kultivační médium pro stanovení počtu kolonií po úklidu a dezinfekci. Disinhibitor má za úlohu deaktivovat zbytky dezinfekčních a konzervačních přípravků. V místě odběru se udělal obtisk přitlačení k testovanému povrchu, inkubace probíhala při teplotě 30 °C po dobu 48 hod.

Z dalších metod dostupných na našem trhu, které slouží ke kontrole čistoty prostředí, byl použit **PRO-TECT™ Clean-Trace, Surface Protein Plus** (Biotrace, Velká Británie), který je určen k detekci zbytků z předešlé výroby, hlavně zbytků proteinů a redukujících cukrů zůstávajících při nedokonalém vyčištění zařízení. Vzorek se odebíral stěrem pomocí přiloženého tamponu, konec stěrky se zatlačil do tuby a protřepal. Test je časově závislý, reakce proběhne do 10 minut. Po 10 minutách se porovná výsledné zbarvení s barevnou škálou uvedenou na obalu tuby. Výsledné zbarvení indikuje stupeň proteinového znečištění: zelená indikuje, že výsledek je v pořádku - není potřeba žádné další čištění, šedivá upozorňuje na možný problém a fialová poukazuje na znečištěný povrch.

Na monitorování hygieny byl dále použitý přístroj **HY-LITE®** (Merck, Německo) - rychlý a jednoduchý přenosný monitorovací systém. Detekuje na místě měření zbytku potravin a mikrobiální kontaminaci prostřednictvím měření adenosin trifosfátu (ATP), který je součástí všech buněk a většiny biologického materiálu. Vzorek odebraný ze zkušebního prostoru je smíchaný s enzymem (luciferázou) v činidle. Reakcí ATP s luciferázou dochází k tvorbě bioluminiscenčního světla, které se měří luminometrem. Čím více ATP vzorek obsahuje, tím je i světlo intenzivnější, a to naznačuje i pravděpodobnost vyšší mikrobiologické kontaminace, přítomnost zbytků potravin, případně jiných nečistot. Výsledek se uvádí v RLU (relative light units)⁽¹⁰⁾.

Výsledky a diskuze

Celkové počty mikroorganismů ve stěrech dosahovaly v průměru hodnotu 10³ KTJ/ml, nejvyšší zachycený počet byl 10⁸ KTJ/ml, a to u stěru odebraného z lisovací perforý v sýrařském provozu (tabulka č. 1). Vyšší počty (10⁵ až 10⁶ KTJ/ml) byly zachyceny např. i ve stěrech ze zásobního tanku na syrovou smetanu, ze solné lázně, z cisterny (z vnitřní stěny), ale také v UHT provozu, konkrétně u stěrů z plničky a u výstupu z výdržníku. Podle vyhlášky 289/2007 Sb. stěry odebrané z povrchu výrobního zařízení po skončení čištění a dezinfekce nesmí obsahovat více než 10² aerobních a fakultativně aerobních mikroorganismů. Pro úplnost údajů je ale potřebné dodat, že námi odebrané stěry byly ještě před provedením samotného mikrobiologického rozboru resuscitovány dvě hodiny při teplotě 37 °C v peptonové vodě za účelem pomnožení některých vybraných bakterií (bakterie mající afinitu k tvorbě biofilmů), které byly také předmětem sledování v tomto projektu. Dvouhodinová resuscitace by tedy mohla vysvětlovat vyšší mikrobiální záchyt u námi odebraných stěrů.

Tab. 1 Celkové počty mikroorganismů (CPM) na GTK agaru a Petrifilmch po dvouhodinové resuscitaci v peptonové vodě při 37 °C a výsledky měření metodami Pro-TECT™ a HY-LITE®

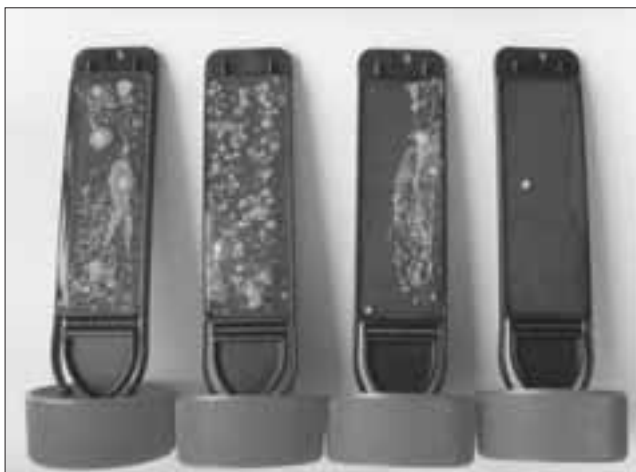
Odebrané vzorky	CPM / 1 ml (GTK)	CPM / 1 ml (Petrifilm)	Pro-TECT™	HY-LITE® (RLU)
Pastér - vyrovnávací nádrž	2,2 x 10 ²	< 10 JTK	X	20
Zásobní tank na syrovou smetanu	6,5 x 10 ⁶	9,0 x 10 ⁶	?	-
Cisterna - vnitřní stěna	1,5 x 10 ⁶	8,7 x 10 ⁵	V	20
Kovové rošty na sýry do solné lázně	2,6 x 10 ⁴	7,7 x 10 ³	V	19 000
Máslárna: tank - trubka	2,0 x 10 ²	3,0 x 10 ¹	V	350
Máslárna: uzravač na máslo	4,5 x 10 ²	7,0 x 10 ¹	V	160
Máslárna: násypka	1,9 x 10 ²	1,5 x 10 ²	V	46
Sýrárna: solná lázeň č. 1	1,5 x 10 ⁶	2,8 x 10 ⁵	XX	-
Sýrárna: solná lázeň č. 2	4,3 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁶	XX	16 000
Sýrárna: výrobek syřeniny	2,0 x 10 ¹	< 100 JTK	V	3900
Sýrárna: předlisovací vana - stěna	8,0 x 10 ⁵	1,0 x 10 ¹	V	10
Sýrárna: předlisovací vana - lisovací plech	2,0 x 10 ²	1,9 x 10 ²	V	8
Sýrárna: předlisovací vana - perfora	1,9 x 10 ²	1,0 x 10 ⁴	V	5
Sýrárna: lisovací tvořítko	1,2 x 10 ⁷	3,3 x 10 ⁶	V	35
Sýrárna: lisovací perfora - boční stěna	7,2 x 10 ⁷	1,0 x 10 ⁸	V	29
Tvarohárna - tank - koagulát	1,1 x 10 ¹	< 10 JTK	V	80
Kontejner na tvaroh	8,0 x 10 ¹	8,0 x 10 ¹	V	57
Tvarohárna - tank	3,6 x 10 ¹	6,0 x 10 ¹	V	100
Tvarohárna - tank - potrubí	1,0 x 10 ¹	2,2 x 10 ²	V	840
Cisterna č. 1 - výpusť	9,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ¹	V	1900
Cisterna č. 1 - příklop	3,0 x 10 ¹	3,0 x 10 ¹	V	650
Cisterna č. 2 - výpusť	1,9 x 10 ²	2,8 x 10 ²	V	780
Cisterna č. 2 - příklop	9,0 x 10 ¹	8,0 x 10 ¹	V	2100
Zásobní tank na syrové mléko - viko	2,7 x 10 ⁴	1,2 x 10 ²	V	1000
Zásobní tank na syrové mléko - mezikruží	2,9 x 10 ³	7,0 x 10 ¹	V	890
Zásobní tank na syrové mléko - vnitřní stěna	3,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ¹	V	3
UHT provoz: vyrovnávací nádrž -vstup	1,1 x 10 ²	8,0 x 10 ¹	X	7
UHT provoz: výstup z výdržníku	4,0 x 10 ⁵	5,8 x 10 ⁵	V	5700
UHT provoz: plnička 1	3,3 x 10 ⁴	4,5 x 10 ⁴	V	1900
UHT provoz: plnička 2	1,2 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁶	?	11000

Legenda k vyhodnocení metody Pro-TECT™: V - vyhovující, ? - hraniční, X - nevhovující, XX - nevhovující

RLU = relativní luminometrické jednotky

- = hodnotu nelze naměřit

Metoda Petrifilmů je srovnatelná s klasickou kultivací na živném agaru, jak to uvádějí i autoři Lopašovský a kol. (11) Co se týče srovnání mikrobiálního nárůstu na GTK agaru



Obr. 1: Hygicult® TPC na stanovení celkového počtu mikroorganismů (Orion Diagnostica). Výsledky se vyhodnocují porovnáním četnosti kolonií na testu s modelovou tabulkou. Počítání kolonií není nutné.

a Petrifilmch, celkové počty se nijak výrazně nelišily, jenom v některých případech se lišily o řád, případně o dva, což by mohlo nasvědčovat tomu, že klasická kultivační metoda na Petriho miskách je o něco citlivější, i když kultivace je o 24 hodin delší.

Obtiskové metody (Hygicult® a TSA kontaktní miska s disinhibitorem), slouží spíše jako kvalitativní metody hodnocení hygieny prostředí. V některých případech jsou výsledky přímo odečitatelné (v závislosti od míry kontaminace), mnohdy však počty nelze odečítat. Výrobce Hygicultu® v testovací soupravě přikládá vyhodnocovací tabulku, za pomoci které je možné výsledky snadno vyhodnotit porovnáním četnosti kolonií na testu s modelovou tabulkou, proto počítání kolonií není nutné (obr. č. 1). Při vzájemném srovnání těchto dvou obtiskových metod výsledky korespondovaly, avšak v jednom případě (u vzorku ze zásobního tanku na syrovou smetanu) jsme obtiskem na Hygicultu® stanovili počet 17 KTJ na testovací ploše, přičemž kontaktní miska TSA byla přerostlá. Tím, že TSA kontaktní misky obsahují inhibitor sanitacních látek, dá se předpokládat, že rezidua byla inhibitory neutralizována a tím i nárůst na TSA agaru byl vyšší.

Nápravníková a Kapounek⁽¹⁷⁾ sledovali povrchovou kontaminaci pracovních ploch za pomoci metody Hygicult (Envirocheck contact slides) ve srovnání s klasickou stěrovou metodou. Výsledky jejich testování také neprokázaly významné rozdíly mezi použitými metodami. V jistém smyslu omezení těchto obtiskových metod mohou představovat užší nebo méně dostupná místa, jako např. trubky, výpustě, výstupy z výdržníku apod. (hlavně u hotových TSA misek o průměru 60 mm). Naopak výhodou je snadné použití, jednoduché vyhodnocení a odpadá také složitá příprava kultivačních médií.

Dalším námi zkoušeným testem byl **Pro-TECT**TM. Z celkového počtu (30) odebraných stěrů 24 vyhovělo, 2 vzorky byly kategorizovány jako hraniční (stěry ze zásobního tanku na syrovou smetanu a z plničky na UHT provozu) a 4 vzorky byly vyhodnoceny jako nevyhovující (2 stěry ze solných lázní, stěr z vyrovnávací nádrže pastéru a také stěr z vyrovnávací nádrže na UHT provozu). Tuto metodu je výhodné použít v případě potřeby získání rychlé informace o aktuálním stavu hygieny provozu, zda dané čištění bylo dostatečně efektivní či nikoliv. Pro-TECT není produkt, který by měl být používán pro mikrobiologický monitoring, i když podle údajů od výrobce, detekuje i bakterie při množství 10⁷ KTJ a více. Výhodami jsou především snadné použití, nezávislost na zkušenostech personálu a rychlá reprodukovatelnost výsledků.

Přístrojem **HY-LITE**[®] jsme měřili množství ATP. Čím více ATP vzorek obsahuje, tím je i světlo intenzivnější a to naznačuje i pravděpodobnost vyšší mikrobiální kontaminace, zbytků potravin, případně jiných nečistot. Metoda bioluminiscence je indikátorem celkového organického znečištění a zahrnuje také mikrobiální kontaminaci, i když neříká nic o zastoupení jednotlivých druhů. Návod na jednoznačné vyhodnocení a interpretaci výsledků neexistuje, takže limitní hodnoty musejí být stanoveny individuálně pro každé odběrové místo v závislosti na hygienických požadavcích a na prostředí, kde přístroj používáme (někde se mikroorganismy vyskytují přirozeně). Výrobce uvádí orientační údaje hodnot relativních luminometrických jednotek (RLU), např. vyčištěná nerezová plocha řádově desítky jednotek, do 100 - 150 jednotek, v závislosti od prostředí. Při výskytu biofilmů můžeme stanovit i tisíce jednotek. V případě správně provedených sanitačních procesů u mléčných cisteren by hodnoty RLU neměly přesahovat hodnoty 250 - 300⁽¹⁰⁾. V námi testovaných vzorcích (stěrech) se hodnoty RLU naměřené luminometrem pohybovaly v rozpětí od 3 do 19 000. Rozpětí hodnot je relativně široké; nejvyšší naměřené hodnoty pocházely ze stěrů z kovových roštů na síry do solné lázně (19 000 RLU), ze solné lázně (16 000 RLU), nebo ze stěru z plničky na UHT provozu (11 000 RLU). U dvou vzorků se nám dokonce hodnotu nepovedlo naměřit (pravděpodobně v důsledku příliš intenzivního světla a tím vysokého množství ATP) a to u stěrů ze stěny zásobního tanku na syrovou smetanu a ze solné lázně. Zajímavé může být

zjištění, že tyto dva vzorky nevyhověly ani v proteinovém testu (Pro-TECT) a stanoveny byly i vyšší celkové počty mikroorganismů (10⁶ KTJ/ml). I když se vzájemný vztah mezi RLU a CPM (KTJ/ml) nedá definovat, obecně se dá říct, že vyšší celkové počty zvyšují také hodnotu RLU, jak to uvádějí i Lopašovská a kol.⁽¹²⁾. Jak dále uvádějí, hodnota RLU závisí nejen od množství organického znečištění, ale také od typu mikrobiálního znečištění. Množství ATP je rozdílné, např. v bakteriální buňce a buňce kvasinky, a z toho důvodu i světelný signál vyjádřený v jednotkách RLU je rozdílný při stejné mikrobiální kontaminaci v KTJ. Autoři Kottferová a kol.⁽¹³⁾ na základě korelace výsledků ATP-CPM dospěli k závěru, že bioluminiscenční metoda je citlivější než klasická mikrobiologická a lépe poukáže na úroveň provozní hygieny. Velmi dobrou korelaci ATP metody s plotnovou metodou uvádějí i další autoři^(14,15). Výsledky našich měření to ve většině případů potvrzují, i když ve třech případech hodnoty RLU nekorelovaly s celkovými počty (tab. I.; lisovací tvořítka, lisovací perfora, cisterna). Hodnoty RLU byly nízké (20-35), přičemž celkové počty u uvedených stěrů byly řádově 10⁶ - 10⁸ KTJ/ml, jak na GTK agaru, tak i na Petrifilmch. Pro úplnost informací, v proteinovém testu tyhle stěry vyhověly. Jak konstatují i Koreňová a kol.⁽¹⁶⁾, konkrétní limitní hodnota pro ATP monitoring musí být stanovena pro každý provoz a odběrové místo individuálně vícenásobným měřením za dodržení standardního sanitačního postupu, teprve pak může být tato metoda doporučena jako vhodný nástroj pro monitorování hygieny.

Závěr

Závěrem je možné konstatovat, že rychlé screeningové metody mají v praxi své opodstatnění a poskytují některé výhody ve srovnání s tradiční kultivační metodou - která byla ještě donedávna jedinou akceptovanou metodou hygienického monitoringu. Sledované metody mají v provozních podmínkách své opodstatnění zejména i proto, že každá měří jinou veličinu a každá veličina sama o sobě může poukazovat na nedostatky v sanitaci.

Jednou z největších předností těchto metod je rychlost. Rychlé výsledky mohou poskytnout dostatek času na nápravu zjištěné skutečnosti a ujistit, že před začátkem výroby je vše skutečně čisté. Výrobce se tím může vyhnout ztrátě reputace a ztrátě důvěry ve své výrobky. Tyto orientační metody lze použít jako měřítko čistoty především pro potenciální problémové oblasti, které by mohly potřebovat speciální pozornost. Také mohou představovat pomoc pro výrobce nebo zpracovatele, kteří nemají k dispozici vlastní laboratoř. Další výhody spočívají ve snadné proveditelnosti, nezávislosti na zkušenostech personálu, snadné manipulaci a reprodukovatelnosti výsledků v krátkém časovém intervalu. Proto by bylo vhodné, aby výrobci tyto nebo i jiné dostupné screeningové metody využívali v praxi ve větším měřítku, nejlépe v kombinaci s tradiční kultivační metodou.

Poděkování

Tato práce byla podporována grantem 2B08074 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

Literatura

- SILVA, I. M. M., ALMEIDA, R. C. C., ALVES, M. A. O., ALMEIDA, P. F.: Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *Int. J. Food Microbiol.*, 81, 3, 2003, s. 241 - 248.
- MEYER-BROSETA, S., DIOT, A., BASTIAN, S., RIVIERE, J., CERF, O.: *Int. J. Food Microbiol.*, 80, 2003, s. 1 - 15.
- SCHLEGELOVÁ, J., ROUBAL, P., KARPÍŠKOVÁ, R., VORLOVÁ, L.: Biofilmy na technologických zařízeních jako zdroj kontaminace surovin a potravin živočišného původu zdravotně významnými mikroorganismy. Projekt výzkumného programu MZE 2003 - 2007.
- GAJDŮŠEK, S.: Základní principy čištění a dezinfekce. Čištění a dezinfekce v prvovýrobě mléka, 1995, s. 12.
- BAGGE, D., HJELM, M., JOHANSEN, CH., HUBER, I., GRAM, L.: *Shewanella putrefaciens* adhesion and biofilm formation on food processing surfaces. *App. Env. Microbiol.*, 67, 2001, s. 2319 - 2325.
- AMMOR, S., CHEVALLIER, I., LAGUET, A., LABADIE, J., TALON, R., DUFOUR, E.: Investigation of the selective bactericidal effect of several decontaminating solutions on bacterial biofilms including useful, spoilage and/or pathogenic bacteria. *Food Microbiol.*, 21, 2004, s. 11 - 17.
- KOSTOLNÍKOVÁ, M., KOREŇOVÁ, J., LOPAŠOVSKÁ, J.: Analýza účinnosti bežnej dezinfekcie výrobných zariadení v malých a stredných výrobníach potravín. *Sborník Mikrobiologie potravín*, 28. - 30. 5. 2007, s. 45.
- COSTERTON, J. W., LEWANDOWSKI, Z., CALDWELL, D. E., KORBER, D. R., LAPPIN-SCOTT, H. M.: Microbial biofilms. *Ann. Rev. Microbiol.*, 49, 1995, s. 711 - 745
- KUMAR, C. G., ANAND, S. K.: Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 42, 1998, s. 9 - 27.
- www.merck.cz
- LOPAŠOVSKÝ, L., POPELKA, P.: Využitie moderných metód pri monitorovaní hygieny prostredia bitúnku. *Zborník z vedeckej konferencie Bezpečnosť a kontrola potravín*, SPU Nitra, apríl 2006, s. 70 - 73.
- LOPAŠOVSKÁ, J., PETRIKOVÁ, J., KOREŇOVÁ, J., STOLAŘOVÁ, K.: Monitoring úrovně hygieny a sanitácie v malých potravinárskych prevádzkach. *Zb. Bezpečnosť a kontrola potravín*, SPU Nitra, apríl 2006, s. 65 - 69.
- KOTTFEROVÁ, J., SASÁKOVÁ, N., ONDRAŠOVIČOVÁ, O., ONDRAŠOVIČ, M., VARGOVÁ, M., ČULENOVÁ, K.: ATP - rýchla metóda pre kontrolu biologickej kontaminácie výrobných priestorov. *Zb. Hygiena Alimentorum XXVI*, Vysoké Tatry, 2005, s. 22 - 24.
- BAUTISTA, D. A., VAILLANCOURT, J. P., CLARKE, R. A., RENWICK, S., GRIFFITHS, M. W.: Adenosine Triphosphate as a method to determine microbial levels in scald and chill tanks at a poultry abattoir. *Poultry Sci.*, 73, 11, 1994, s.1673 - 1678.
- ZUTTER, L., HELLWIG, K., LINDHARDT, C.: Outstanding applicability of ATP method as hygiene monitoring to reveal hidden potential for microbial product contamination, demonstrated in practical situations after clearing, *De Keurmeester*, 3, 1998, s. 5 - 10.

- KOREŇOVÁ, J., KOSTOLNÍKOVÁ, M.: Porovnanie rýchlych metód kontroly hygieny v ovčiarskych výrobníach. *Zb. Bezpečnosť a kontrola potravín*, SPU Nitra, apríl 2006, s. 74 - 78.
- NÁPRAVNÍKOVÁ, E., KAPOUNEK, S.: Metody hodnocení mikrobiální kontaminace. *Maso*, 1, 2002, s. 71 - 74.

Přijato do tisku 14. 6. 2009

Lektorováno 6. 7. 2009

SLEDOVÁNÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ MLÉKA BÍLÝCH KRÁTKOSRSTÝCH KOZ ZE DVOU FAREM V ČESKÉ REPUBLICE

MONITORING OF CHOSEN CHARACTERISTICS IN WHITE SHORT-HAIRED GOAT'S MILK FROM TWO FARMS IN CZECH REPUBLIC

Hana Přidalová, Bohumíra Janštová, Michaela Dračková, Pavlína Navrátilová, Lenka Vorlová

Department of Milk Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences, Palackého 1-3, 612 42 Brno, Czech Republic. Tel. +420 541 562 720, fax. +420 541 562 711, e-mail: pridalovah@vfu.cz

Práce vznikla za podpory výzkumného záměru MŠMT "Veterinární aspekty bezpečnosti a kvality potravin" MSM 6215712402.

Abstrakt

V dnešní době je stále více aktuální otázka zdravé výživy a otázka zdravotně prospěšných a hlavně nezávadných potravin. Práce hodnotila složení mléka a vybrané fyzikální a technologické vlastnosti syrového mléka Bílých krátkosrstých koz. Vzorky mléka pocházející z kozí farmy "A" a domácího malochovu "B" v České republice a byly odebírány v průběhu laktace. Byly zjištěny následující průměrné hodnoty (A/B): obsah bílkovin 27,80/31,60 g.l⁻¹,

INFORMACE

NĚMEČTÍ VÝROBCI PLÁNUJÍ NOVÉ OZNAČOVÁNÍ ESL MLÉKA

Vláda, výrobci a obchodníci v Německu spolupracují na zavedení přijatelné formy označování konzumního mléka, které bude označováno buď jako pasterované nebo bude podrobena dalšímu ošetření ke zvýšení jeho skladovatelnosti. V r. 2003 asi 3 % konzumního mléka (ne UHT) (méně než 50 % trhu) bylo ESL (s prodlouženou trvanlivostí). Zbytek bylo mléko pasterované. Maloobchod brzy realizoval přednosti obchodování mléka označeného jako čerstvé s trvanlivostí 12 a 21 dní. 2005 Mlékařská průmyslová asociace (MIV) v Bonnu spočetla, že 30 % mléka (ne UHT) bylo ESL a nyní se počty blíží 70 %. Ve skutečnosti nedávné přehledy spotřeby ve velkých městech ukazují, že diskonty a supermarkety neobchodují žádné klasicky pasterované mléko. V Německu jsou obě mléka jak ESL tak pasterované popsány jako "čerstvé mléko". Výrobci obchodují ESL produkty jako "extra čerstvé", "déle čerstvé" nebo "maxi čerstvé". Avšak někteří výrobci plánují zavedení vlastního označování k rozlišení ESL mléka od pasterovaného.

Dairy Ind. Intern. 74, 2009, č.3 /ben/