

UPŘESNĚNÍ MIKROBIÁLNÍCH LIMITŮ PRACOVNÍCH MATERIÁLŮ FÁZOVÉ ANALÝZY HYGIENY ZÍSKÁVÁNÍ MLÉKA

Hanuš Oto, Sojková Kamila, Klimešová Marcela,
Roubal Petr, Kopecký Jaroslav, Jedelská Radoslava,
Nejeschlebová Ludmila

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. Praha

Specification of microbial limits of working materials of milking hygiene phase analyse

Abstrakt

Hygienická kvalita syrového mléka je základním předpokladem výše jeho farmářské ceny, kvality mléčných výrobků, konkurenceschopnosti mléčných výrobků na trhu a bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Modernizace dojící technologie přinesla zlepšení hygienické kvality mléka, nicméně technologické chyby lidského faktoru v praxi přetrvávají a mohou být zdrojem hygienických rizik. Cílem bylo zpřesnit některé specifické limity mikrobiologické kontaminace materiálů (celkové počty mikroorganismů - CPM) pro podporu praktické metody fázové analýzy hygieny získávání mléka (FAHZM). Byly použity výsledky CPM, počtu psychrotrofních mikroorganismů (PSY) a počtu somatických buněk (PSB) z pokusného sledování ($n = 104, 57$ a 47) a dvou FAHZM pro dojírnu a potrubní dojící zařízení ($n = 48$ a 18 různých vzorků). Hodnoty aritmetických průměrů (x) byly $20\,709$ CPM a $21\,004$ KTJ/ml PSY. Vztah mezi CPM a PSB byl významný ($P < 0,05$; $n = 57$), korelace $0,3126$ (log CPM a log PSB $0,2941$). $9,8$ % variability v hodnotách bazénových PSB je vysvětlitelných variacemi v relevantních hodnotách CPM. Rovněž vztah mezi log CPM a log PSY byl významný ($0,6484$; $P < 0,001$) a 43 % variability v hodnotách log PSY je vysvětlitelných variacemi v log CPM. Některé odvozené hygienické limitní hodnoty CPM ($x + sd \times 1,64$; jednostranný interval spolehlivosti, 95 %) pro praxi FAHZM činily: čtyři vnitřních povrchů technologie $8\,018$ (dojírna) a $5\,235$ KTJ/ml (potrubní dojící zařízení); fázová mléka $50\,857$ a $99\,570$ KTJ/ml; výplachové vody 24 a $1\,110$ KTJ/ml.

Klíčová slova: syrové bazénové mléko; hygiena; dojení na stání; dojírna; stěr; výplachová voda; celkový počet mezofilních mikroorganismů; počet psychrotrofních mikroorganismů; koli bakterie

Abstract

Hygienic quality of raw milk is an essential prerequisite of its farm price, the quality of dairy products, the competi-

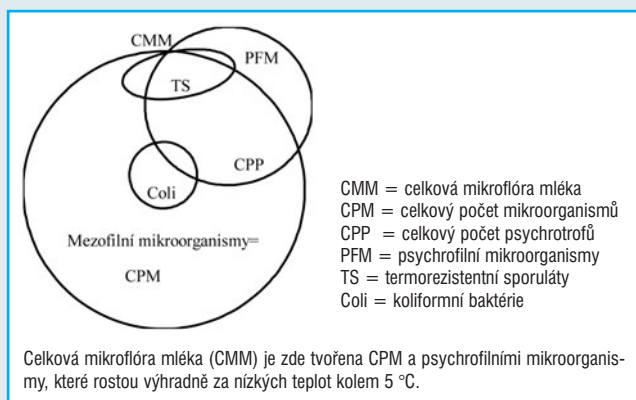
tiveness on the dairy market and the safety of milk food chain. Modernization of milking technology has improved the hygienic quality of milk, however the technological human errors persist in practice and may be a source of health risks. The aim was to clarify some specific limits for microbiological contamination of materials (total number of microorganisms - TCM) to support the practical methods of phase analysis of hygiene of the milking (PAHM). The TCM, psychrotrophic microorganisms (PSY) and the somatic cell count (SCC) results from the experimental observation ($n = 104, 57$ and 47) and two PAHM were used for milking parlor and pipeline milking equipment ($n = 48$ and 18 different samples). Arithmetic means (x) were $20,709$ TCM and $21,004$ CFU/ml PSY. Relationship between TCM and SCC was significant ($P < 0.05$; $n = 57$), correlation 0.3126 (log TCM and log SCC 0.2941). 9.8% of the variability in bulk SCC values is explainable by variations in the relevant TCM values. Also the relationship between the log TCM and log PSY was significant (0.6484 ; $P < 0.001$) and 43% of the variability in the log PSY values is explainable by variations in log TCM. Some derived hygienic cut-off values TCM ($x + sd \times 1.64$; 95% level of one-way confidence interval) for practice of PAHM were: swabbing of the internal surfaces of technology $8,018$ (milking parlor) and $5,235$ CFU/ml (pipeline milking equipment); phase milk $50,857$ and $99,570$ CFU/ml; flushing water 24 and $1,110$ CFU/ml.

Key words: bulk raw milk; hygiene; pipeline milking equipment; milking parlor; swabbing; flushing water; the total number of mesophilic microorganisms; the number of psychrotrophic microorganisms; coli bacteria

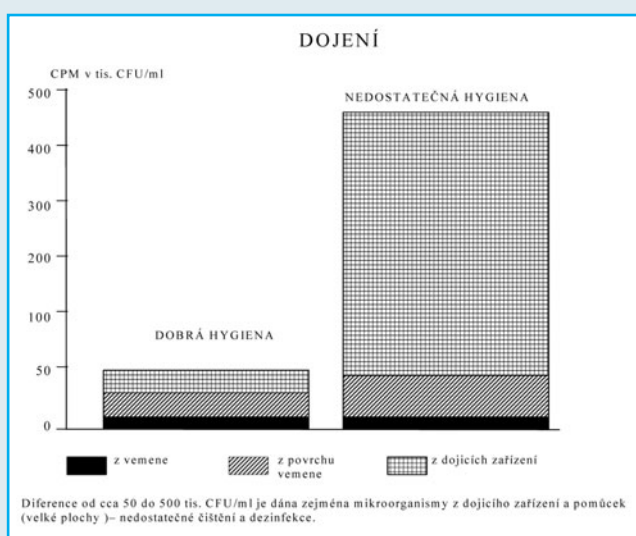
Úvod

Hygienická kvalita syrového mléka je základním předpokladem výše jeho farmářské ceny, kvality mléčných výrobků, konkurenceschopnosti mléčných výrobků na trhu a bezpečnosti mléčného potravinového řetězce vůbec. Ten je jedním z nejvíce kontrolovaných s ohledem na četnost sledovaných kvalitativních ukazatelů, pravidelnost prováděných vyšetření a někdy biologickou podstatu prováděných kontrol. Např. v Německu mluvících zemích má pravidelně nejvyšší důvěru konzumentů při analýzách spotřebního koše. Sledování a vyhodnocování kvality syrového mléka pomáhá plnit důležitou společenskou zakázku (Baumgartner, 2000). Bezpečnost a kvalita mléčného potravinového řetězce jsou tedy důležitými aspekty ochrany veřejného zdraví.

Hygienické ukazatele standardního syrového mléka byly v posledních třech dekádách výrazně zpříšňovány ze současného pohledu velmi benevolentních $20\,000$ tis. KTJ/ml až na dnešních 100 tis. KTJ/ml celkového počtu mezofilních mikroorganismů (CPM; EU a ČSN 57 0529), přičemž průměrné hodnoty za posledních šest roků (2008 - 2013) pro ČR činily $40,3, 40,8, 36, 44,5$ a $35,1$ tis. KTJ/ml (Kvapilík et al., 2014). Mléko, s ohledem na obsahy vody a základních živin (tuk, bílkoviny, laktóza, minerálie), je



Obr. 1 Schéma možného technologicko-fyziologického dělení základní případně normované (ČSN 57 0529) kontaminující mléčné mikroflóry (Hanuš et al., 2004)



Obr. 2 Původ celkového počtu mikroorganismů (CPM) v syrovém mléce (Rosický et al., 1990)

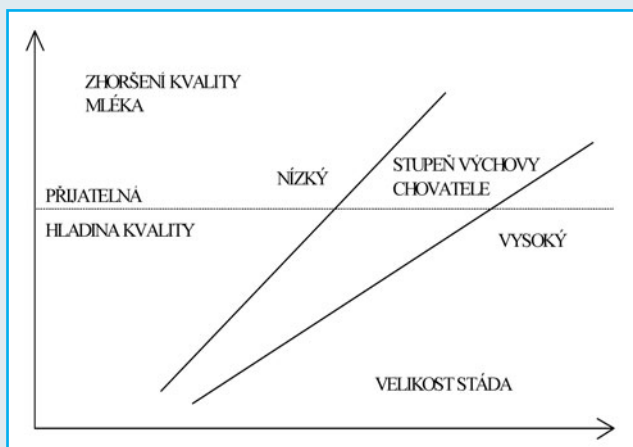
ideálním živným médiem pro bakterie (Obr. 1 a 2). Původ mikroorganismů v mléce obecně a zejména z povrchu mléčné žlázy a zejména dojícího zařízení naznačili již dříve Rosický et al. (1990; Obr. 2). Andersen a Jensen (1987; Tab. 1) našli těsné korelační vztahy pro obsah termorezistentních sporulujících mikroorganismů mezi různými materiály ze stájového prostředí (mezi: siláží a výkaly 0,8; výkaly a podestýlkou 0,78; výkaly a mlékem 0,73). Nejvyšší, ale významný kladný korelační koeficient (0,69) byl mezi siláží a mlékem. Některé mikroorganismy sice mohou projít do mléka z krve, nicméně, drtivá většina pochází z prostředí technologie. V daném případě jde o přenos od prachem a blátem kontaminované nekvalitní siláže, přes zažívací trakt dojnice do výkalů, podestýlky, na povrch vemene a s dojením do mléka. Hanuš et al. (2004) našli nejvíce významných vztahů (0,26 až 0,76; $P \leq 0,05$ až $P \leq 0,001$) mezi krmivem a exkrementy pro termorezistentní bakterie, *Bacillus licheniformis*, ostatní bacily a počet bacilů celkem. Výskyt termorezistentních bakterií a *Bacillus licheniformis* v mléce pak byl ovlivněn (0,24 a 0,32; $P \leq 0,05$ a $P \leq 0,01$) jejich výskytem v krmivu a exkrementech. Tyto závislosti potvrzují hygienické

Tab. 1 Korelace pro obsah termorezistentních sporulujících mikroorganismů mezi různými materiály ze stájového prostředí (Andersen a Jensen (1987))

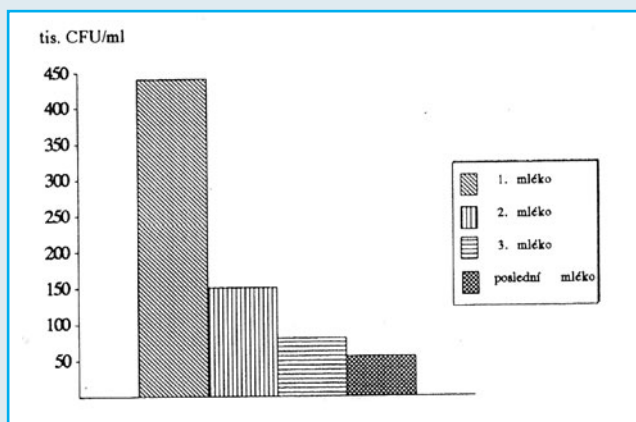
| Materiál | × Materiál | = Korelace |
|----------|------------|------------|
| siláž | výkaly | 0,8 |
| výkaly | podestýlka | 0,78 |
| výkaly | mléko | 0,73 |
| siláž | mléko | 0,69 |

vztahy mezi materiály a možnosti pronikání termorezistentních mikroorganismů a bacilů řetězcem technologie po ose krmivo - výkaly - mléko. V jiném vyhodnocení (Hanuš et al., 2005) nebyl zaznamenán vliv nadmořské výšky chovů na celou řadu mikrobiálních, resp. patogenních kontaminantů mléka, krmiv a výkalů, jako termorezistentní mikroorganismy, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, ostatní bacily a počet bacilů celkem.

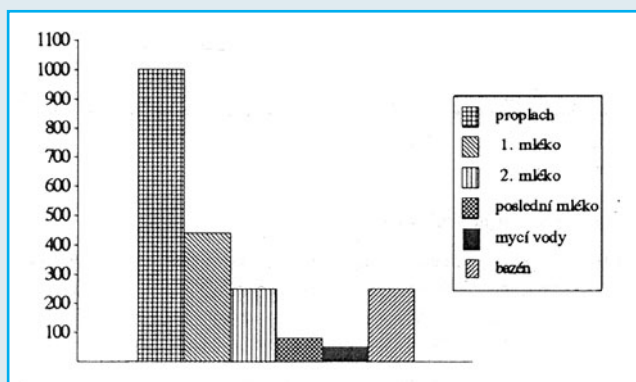
Dojení krav na stání mělo své hygienické limity a v důsledku variability lidského faktoru (Obr. 3) nezřídka byly v praxi zaznamenány hygienicky problematické situace s překračováním limitů normy kvality. To může za jistých okolností ohrozit kvalitu mléčných výrobků a potravinovou bezpečnost konzumentů. Tyto situace byly v praxi individuálně řešeny poradenstvím na principu mikrobiologické a logické analýzy fázových vzorků materiálů z procesu dojení. Výsledky metody jsou porovnávány mezi vzorky vzájemně a zároveň k postupně definovaným limitům a standardům tohoto postupu. Snahou je co nejdříve identifikovat a odstranit zdroj hygienické kontaminace. Tato praktická poradenská metoda byla postupem doby poměrně podrobně rozpracována a její použití bylo relativně úspěšné (Ticháček et al., 1995, 2007; Doležal et al., 2000; Seydlová, 2004; Seydlová et al., 2009; Samková et al., 2012). Základní výsledkové modely fázové analýzy hygieny dojení jsou ukázány v Obr. 4, 5, 6 a 7, spolu s praktickou interpretací. Počty koliformních mikroorganismů zde zároveň významně kladně korelovaly mezi proplachem před dojením, zbytkovou vodou v potrubí, prvním přítokem mléka, proplachem po dojení a bazénovým mlékem (0,36; 0,42; 0,35; 0,72).



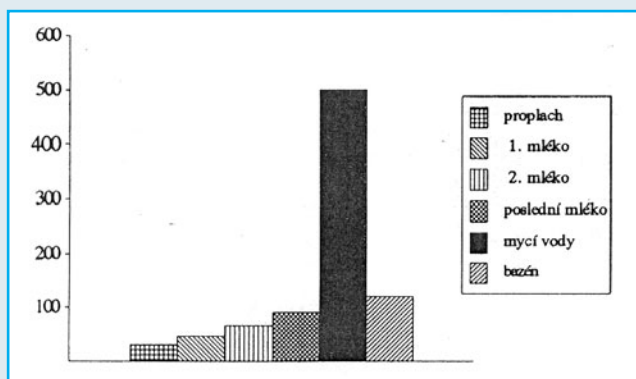
Obr. 3 Schéma vlivu chovatele a jeho znalostí na udržitelnost kvality mléka (Ostergard, 1980)



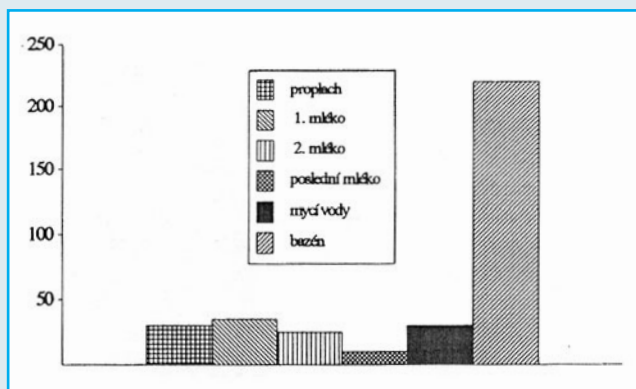
Obr. 4 Ukázka nejčastějších hodnot CPM ve fázových vzorcích mléka (tis. CFU/ml; Ticháček et al., 1995)



Obr. 5 Příklad nevyhovující sanitace dojícího zařízení podle CPM (tis. CFU/ml; Ticháček et al., 1995)



Obr. 6 Příklad vlivu znečištěných mycích vod podle CPM (tis. CFU/ml; Ticháček et al., 1995)



Obr. 7 Ukázka vlivu chybného chlazení v tanku podle CPM (tis. CFU/ml; Ticháček et al., 1995)

Vzhledem k větší průměrné velikosti stád dojnic v ČR než v Evropě je nutné velký důraz klást na průběžnou osvětlu chovatelů (Obr. 3; Ostergard, 1980), což přispívá významně k prevenci hygienických rizik. Postupné zavádění dojení v dojrnách, oproti dřívějšímu dojení na stání (manuální, konvové a potrubní), přispívalo ke zvyšování hygieny mléka v důsledku lepších hygienických podmínek prostředí dojren. Postupem času se zdánlivě jevílo, že s rozšířením dojren je problém hygieny syrového mléka vyřešen. Praxe dynamiky hygieny syrového mléka a opakovaného uplatňování její fázové analýzy na konkrétních lokalitách však ukazuje, že lidský faktor je stále zdrojem určité chybovosti. Cílem této práce proto bylo zpřesnit některé specifické limity mikrobiologické kontaminace materiálů z technologie podle výsledků pokusných sledování a případových studií metodou kalkulace a kvalifikovaného odhadu pro podporu metody fázové analýzy hygieny získávání mléka (FAHZM).

Materiál a metody

Praktická poradenská metoda ke kvalitě mléka FAHZM sestává obecně z logického posouzení mikrobiologických výsledků materiálů podle Tab. 2. Byly použity výsledky CPM, počtu psychrotrofních mikroorganismů (PSY), koli bakterií (K) a počtu somatických buněk (PSB) z pokusného sledování a dvou provedení FAHZM.

Bazénové vzorky syrového kravského mléka (n = 57) byly odebírány 2x měsíčně (leden až březen) u 13 chovů dojnic plemene Holštýn (30 až 500 zvířat). Dojivost stád byla od 6 700 do 11 050 kg mléka, chovy byly s volným ustájením a dojrnou. Vzorky byly odebírány ranním dojením při teplotě < 6 °C a následně byly uchovávány v chladu < 4 °C do analýzy. Druhý den (po 24 hod.) byly provedeny analýzy. Část vzorků byla uložena při 10 °C po dalších 24 hodin. Pak byly vzorky znovu analyzovány. Zatímco první analýza představovala běžný postup kontroly kvality mléka, druhá analýza zastupovala zhoršený stav péče

Tab. 2 Základní sada typů odebíraných vzorků materiálů z průběhu technologie dojení metody FAHZM (upraveno podle Ticháček et al., 1995)

| Pořadí vzorkování | Popis typu vzorku |
|-------------------|--|
| 1. | stěrové vzorky z vybraných míst technologie |
| 2. | zbytková voda v potrubí před dojením |
| 3. | proplachová voda před dojením |
| 4. | proplachová voda chladičho tanku na mléko |
| 5. | zbytková voda po proplachu v chladičím tanku |
| 6. | voda z molitanové stěrky |
| 7. | první dojené mléko |
| 8. | další fázová mléka v průběhu dojení |
| 9. | poslední dojené mléko |
| 10. | voda na mytí vemen |
| 11. | pitná stájová technologická voda |
| 12. | konečný směsný bazénový vzorek mléka |

Sada podléhá obměně podle typu vyšetřované dojící technologie (dojení konvové, potrubní, dojrná) a podle dostupnosti rizikových bodů. Podle typu problému je prováděná vyšetřena na CPM, PSY nebo koliformní bakterie, popřípadě rezidua inhibičních látek.

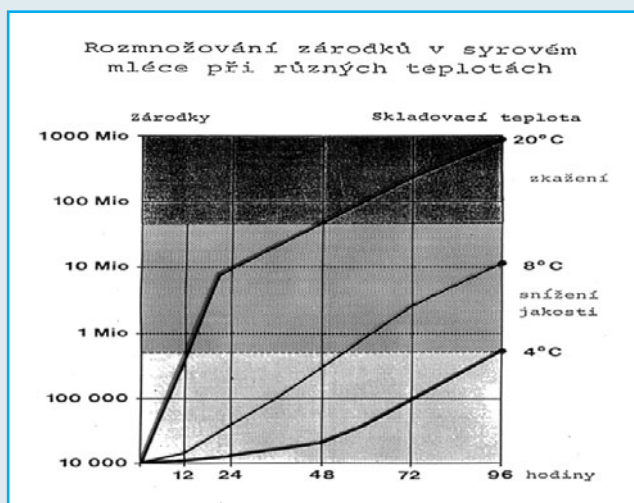
o surovinu. Celkově hodnoceno bylo 104 vzorků, 57 bylo analyzováno jako nativní mléko a ve skupinách analyzovaných párovým způsobem bylo 47 a 47 vzorků syrového bazénového kravského mléka.

FAHZM byla provedena pro dojírnu a potrubní dojící zařízení (n = 48 a 18 různých vzorků) za současně průměrných hygienických podmínek a výsledků (běžný bazénový vzorek mléka kolem 40 tis. KTJ/ml; Kvapilík et al., 2014) a podle konkrétní technologie určené a specifické modifikace vzorkové sady v souladu s Tab. 2. Jednalo se o stáda s plemenem dojníc České strakaté.

Mikrobiologické rozbory byly provedeny podle příslušných norem a standardních operačních postupů laboratoře, pomocí plotnových kultivačních metod. Stanoven byl celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM), počet psychrotrofních mikroorganismů (PSY) a koli bakterie (K). Dále počet somatických buněk (PSB) fluorooptoelektronicky (Bentley Somacount, USA). Pro hodnocení výsledků byly použity: základní statistické parametry; logaritmické transformace mikrobiálních dat; lineární regresní analýza; párový t-test; kvalifikovaný odhad.

Výsledky a diskuse

Zvýšené hodnoty hygienických ukazatelů (geometrické průměry (xg) CPM 85 083 a PSY 71 936 KTJ/ml) jsou dány uchováním části vzorků po 24 hod. při 10 °C (Tab. 3). Hodnoty hygienických ukazatelů (xg CPM 13 245 a PSY 9 567 KTJ/ml) původního mléka odpovídaly standardním požadavkům na kvalitu syrového mléka (CSN 57 0529). Tomu odpovídají i aritmetické průměry CPM 20 709 a PSY 21 004 KTJ/ml. Hodnoty podobné geometrickým průměrům ukazují i příslušné mediány. Pokud se jedná o rozdíly vzniklé při prodlouženém uložení vzorků (Tab. 3) v důsledku vyšší teploty, pak významně vzrostly hodnoty obou hygienických ukazatelů (CPM a PSY): xg CPM a PSY (P < 0,001) z 13 713 a 10 728 na 811 927 a 830 819 KTJ/ml. Relevantní zvýšení v hodnotách mediánů bylo z 13 000 a 10 000 na 1 200 000



Obr. 8 Rozmnožování mikroorganismů v mléce v čase při různých teplotách (Rosický et al., 1990)

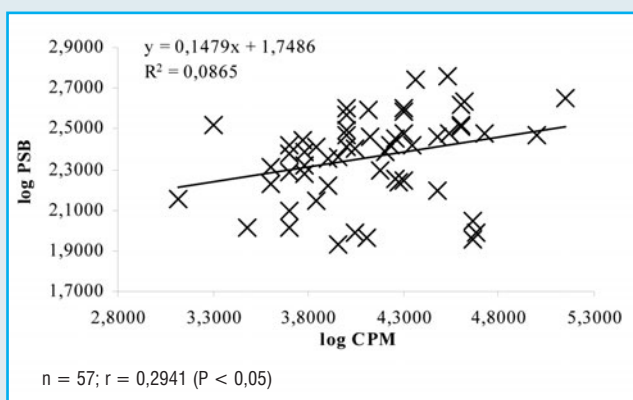
Tab. 3 Hodnoty hygienických ukazatelů (CPM celkový počet mikroorganismů, PSY psychrotrofní mikroorganismy, v KTJ/ml a PSB počet somatických buněk v tis/ml) nativního bazénového mléka (B) a po uložení (A, 10 °C, 24 hodin).

| Ukazatel | | CPM | PSY | PSB |
|----------|----|-----------|-----------|-----|
| A + B | n | 104 | 104 | |
| | x | 918 754 | 1 167 819 | |
| | sd | 2 230 900 | 2 771 603 | |
| | xg | 85 083 | 71 936 | |
| | m | 45 500 | 31 500 | |
| B | n | 57 | 57 | 57 |
| | x | 20 709 | 21 004 | 253 |
| | sd | 23 766 | 28 584 | 112 |
| | xg | 13 245 | 9 567 | 228 |
| | m | 12 800 | 9 000 | 255 |
| A | n | 47 | 47 | |
| | xg | 811 927 | 830 819 | |
| | m | 1 200 000 | 1 600 000 | |
| B | n | 47 | 47 | 47 |
| | xg | 13 713 | 10 728 | 224 |
| | m | 13 000 | 10 000 | 245 |

n - počet případů; x - aritmetický průměr; sd - směrodatná odchylka; xg - geometrický průměr; m medián

a 1 600 000 KTJ/ml. Výsledky logicky dokreslují obecné schéma podle Rosického et al. (1990; Obr. 8) a výsledky Vyleťelové et al. (1999, 2000).

Byly zaznamenány některé zajímavé korelační závislosti. Vztah mezi CPM a PSB (Tab. 4) má významný (P < 0,05; n = 57) pozitivní koeficient r 0,3126 (log CPM a log PSB 0,2941 (Obr. 9)). Vyšší mikrobiální tlak (vyšší hodnoty CPM) ve stádě dojníc velmi pravděpodobně zahrnuje i vyšší kvantitu patogenů mastitidy a může působit na vyšší hodnoty mastitidně-hygienických, resp. zdravotních ukazatelů (PSB). Tento vztah nemusí platit nutně vždy, tedy individuálně nebo v krátkodobých šetřeních, ale ve větších souborech a dlouhodobějších sledováních by mohl být logicky očekáván. Pak 9,8 % variability v hodnotách bazénových PSB je vysvětlitelných variacemi v hodnotách CPM. Proto je možné přeneseně konstatovat odhad, že přibližně tímto relativním podílem by další zvýšená péče o zlepšenou hygienu stáje a dojení mohla přispět ke



Obr. 9 Lineární regresní vztah mezi log CPM a log PSB v syrovém bazénovém mléce

Tab. 4 Vzájemné lineární korelační závislosti mezi hygienickými a zdravotními ukazateli CPM, PSY a PSB u nativního bazénového mléka (B) a po uložení (A, 10 °C, 24 hodin)

| Soubor | n | Vztah | Korelace | Významnost |
|--------|-----|-------------------|----------|------------|
| B | 57 | CPM × PSB | 0,3126 | < 0,05 |
| B | 57 | log CPM × log PSB | 0,2941 | < 0,05 |
| B | 57 | log CPM × log PSY | 0,6484 | < 0,001 |
| A + B | 104 | CPM × PSY | 0,4815 | < 0,001 |
| A + B | 104 | log CPM × log PSY | 0,879 | < 0,001 |

zlepšení frekvence výskytu mastitid u zdravotně konsolidovaných stád, protože právě tato byla zahrnuta v uvedeném pokusném sledování. Významným pozitivním lineárním vztahem ($P < 0,001$) mezi log CPM a log PSY (Tab. 4; $r = 0,6484$; Obr. 10) jsou potvrzeny některé dřívější výsledky (Vyletělová et al., 1999, 2000) pro nativní mléko. Až 43 % variability v hodnotách hygienické kontaminace log PSY je vysvětlitelných variacemi v hodnotách log CPM. Ticháček et al. (1998) uvedli v dané souvislosti také významnou korelaci 0,63 ($n = 4\ 754$). Při hodnocení celého souboru vzorků včetně prodlouženého uložení ($n = 104$) byl pak zmíněn vztah, podle očekávání, reprezentován ještě výrazněji těsnou korelací (Tab. 4; $r = 0,879$; $P < 0,001$; Obr. 11). Tato odpovídala, při vyjádření v původních jednotkách mléčných ukazatelů, rovněž výrazné závislosti (CPM a PSY; Tab. 4; $r = 0,4815$; $P < 0,001$).

Při hledání hygienicky rizikových míst technologie dojení (FAHZM) jsou porovnávány mikrobiologické výsledky vzorků v sadě vzájemně mezi sebou a u tekutých vzorků, jako mléko a voda, se standardními hodnotami norem (ČSN 57 0529 Syrové kravské mléko; Vyhláška 252/2004 Pitná voda). Z uvedeného důvodu standardizace je interpretace výsledků tekutých vzorků poměrně jasná. Problematictější je ovšem interpretace vzorků stěrů (zpravidla ploch 10×10 cm), zpravidla z mlékem omývaných vnitřních povrchů technologie. Proto hodnoty vhodné k porovnání výsledků musí být odvozeny na základě výsledků vlastní praxe a zkušeností a limity jsou často výsledkem kvalifikovaného odhadu. Výsledky zde mají upřesnit některé limitní hodnoty pro konkrétní vzorky a situace.

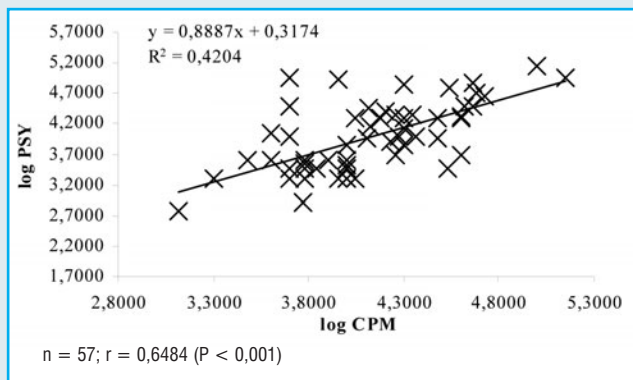
Ticháček et al. (1997) uvedli při FAHZM pro fázová mléka hygienicky problematického stáda CPM 76 438 ± 113 834 KTJ/ml ($n = 16$). Tyto hodnoty mohou posloužit k odvození příslušného limitu pro hygienicky riziková

stáda. Pak hodnoty nad 263 126 KTJ/ml (průměr (\bar{x}) 76 438 plus směrodatná odchylka (sd) 113 834 krát 1,64 = 263 126 KTJ/ml; jednostranný konvenční interval spolehlivosti na hladině pravděpodobnosti 95 %) nutno u sady fázových mlék považovat za alarmující, rovněž s ohledem na limit ČSN 57 0529. Naopak u stejného stáda po sanační aktivitě byly CPM 2 836 ± 1 182 KTJ/ml ($n = 8$) a příslušný limit naopak pro přijatelné fázové hodnoty 4 774 KTJ/ml ($\bar{x} + sd \times 1,64$). Ve stejné sekvenci vyšetření byly CPM zbytkových vod v tanku před dojením 117 000 KTJ/ml ($n = 2$) a to stejné po sanaci 30 KTJ/ml. Obdobně v bazénovém mléce byl CPM 84 000 KTJ/ml ($n = 2$) a to stejné po sanaci 3 800 KTJ/ml. Větší individuální odchylka CPM v řadě fázových mlék od zbytku vyšetření při interpretaci reprezentuje pravděpodobně individuální znečištění konkrétní mléčné žlázy a nemusí být nutně spojována se závěrem k hygieně vlastního dojícího zařízení.

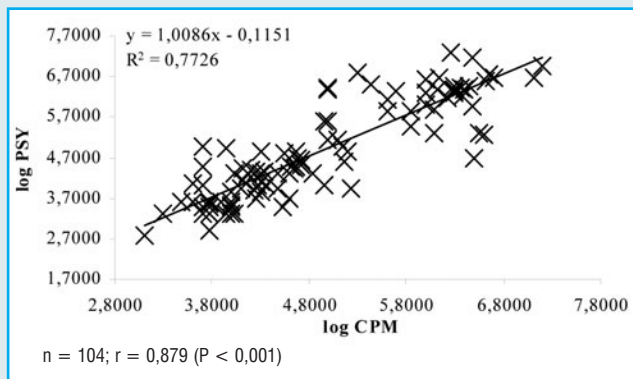
V 1. FAHZM pro dojírnu (karusel) je podle výsledků možné konstatovat (Tab. 5), resp. specifikovat, některé současné limitní hodnoty. Ve všech stěrech z dobře sanitované dojící technologie (vnitřních povrchů úložného tanku, součástí jako úchyt dezinfekčního Segnerova kola, lopatek míchadla, vnitřku deskového předchladiče atd.) byly CPM 1 881 ± 3 742 KTJ/ml ($n = 14$; \bar{x}_g 42 KTJ/ml; Tab. 5). Tyto vyhovující hodnoty pro stěry mohou pro další interpretaci u jiných podobných technologií poskytnout limitní hodnotu ($\bar{x} + sd \times 1,64$) 8 018 KTJ/ml. V uvedeném smyslu byla zaznamenána jedna nevyhovující hodnota stěru z vnitřní plochy dna sběrače mléka dojící soupravy pod strukovými násadci 89 000 KTJ/ml. Ohledně tekutých vzorků výplachových vod a mléka byly zaznamenány následné hodnoty: voda (výplach tanku a celé dojírny) CPM 6 ± 11 KTJ/ml ($n = 10$; \bar{x}_g 2 KTJ/ml; Tab. 5); mléka fázová z průběhu dojení a bazén CPM 14 233 ± 22 332 KTJ/ml ($n = 9$; \bar{x}_g 4 309 KTJ/ml; Tab. 5). Tyto vyhovující hodnoty tekutých vzorků mohou poskytnout limitní hodnotu ($\bar{x} + sd \times 1,64$) 24 KTJ/ml pro výplachovou vodu a 50 857 KTJ/ml pro fázová mléka pro hledání zdroje hygienické kontaminace syrového mléka během dojení. Voda z vodovodního řádu jako referenční měla CPM 8 KTJ/ml (Tab. 5). Mléko jako výplach rukávového potrubního mléčného filtru mělo CPM 24 400 KTJ/ml (Tab. 5). Mléko vyřazené mělo CPM 770 000 000 KTJ/ml (Tab. 5; K a PSY tamtéž). Rezidua inhibičních látek nezjištěna v žádném tekutém vzorku (fázová mléka) vyjma mléka

Tab. 5 Výsledky a odhady kritických limitů (KL) mikrobiálních hodnot (CPM, PSY a K (koli bakterie v KTJ/ml)) různých vybraných materiálů z fázové analýzy hygieny získávání mléka (FAHZM) v dojárně

| Prostředí | | | CPM | KL | PSY | K |
|---|----|-------------|------------------|--------|------------------|------------------|
| | n | \bar{x}_g | $\bar{x} \pm sd$ | | $\bar{x} \pm sd$ | $\bar{x} \pm sd$ |
| Stěry, vnitřní povrchy dojící technologie (tank, potrubí) | 14 | 42 | 1 881 ± 3 742 | 8 018 | | |
| Stěr sběrače mléka v dojárně | 1 | | 89 000 | | | |
| Vody, výplach úložného tanku a dojírny (potrubí) | 10 | 2 | 6 ± 11 | 24 | 0 | 0 |
| Fázová mléka a bazénové mléko | 9 | 4 309 | 14 233 ± 22 332 | 50 857 | 841 ± 1 992 | 96 ± 283 |
| Voda z vodovodního řádu | 1 | | 8 | | 0 | 0 |
| Mléko, rukávový mléčný filtr | 1 | | 24 400 | | 19 500 | 66 |
| Mléko vyřazené (mastitidy) | 1 | | 770 000 000 | | 811 000 000 | 5 600 |



Obr. 10 Lineární regresní vztah mezi log CPM a log PSY v syrovém bazénovém mléce



Obr. 11 Lineární regresní vztah mezi log CPM a log PSY v syrovém bazénovém mléce nativním a po prodlouženém uložení

vyřazeného z důvodu podezření a léčby mastitid v souladu s logikou vyšetření.

Ve 2. FAHZM pro potrubní dojicí zařízení je podle výsledků rovněž možné konstatovat, resp. specifikovat, některé současné limitní hodnoty. Stěry z vizuálně dobře sanitovaných vnitřních míst (mléčný tank, horní díl přerušovače podtlaku a vnitřek dolního dílu pouzdra sítkového mléčného filtru) měly $1\,801 \pm 2\,094$ KTJ/ml ($n = 3$; možný limit pak $5\,235$ KTJ/ml). Stěr tužšího biofilmu bílého voskového vzhledu z vnitřku horního pouzdra sítkového mléčného filtru vykázal překvapivě poměrně nevýraznou kontaminaci CPM $55\,500$ KTJ/ml. Podobný stěr měkkého až tekutého biofilmu krémově-jogurtového vzhledu velmi špatně sanitovaného vnitřku odnímatelné trubky od přerušovače podtlaku do mléčného tanku měl hrubě závažnou kontaminaci CPM $2\,300\,000\,000$ KTJ/ml. Tyto výsledky, odpovídající vizuální charakteristice podezřelého materiálu, ač individuální, mohou mít určitou predikční hodnotu s ohledem na další interpretační praxi FAHZM. Fázová mléka (potrubí a tanky) vykázala CPM $43\,833 \pm 33\,986$ KTJ/ml ($n = 6$; x_g $33\,543$ KTJ/ml). Tyto vyhovující hodnoty mohou pro další interpretaci u jiných podobných technologií poskytnout limitní hodnotu ($x + sd \times 1,64$) $99\,570$ KTJ/ml. Voda proplachu po dojení a sanitaci měla CPM 18 ± 3 KTJ/ml ($n = 4$). Voda uchovaná v mléčném potrubí po sanitaci a proplachu mezi dojením (6 hod.) vzorkovaná před následným dojením měla CPM

568 ± 615 ($n = 4$) s maximem $1\,100$ KTJ/ml. Dokazovala tak dobrou účinnost sanitace a hygienickou způsobilost potrubí a nebyla významným zdrojem kontaminace mléka. Tyto vyhovující hodnoty proplachových vod mohou poskytnout limitní hodnotu ($x + sd \times 1,64$) $1\,110$ KTJ/ml ($n = 8$). Voda z hygienicky neadekvátně uložených molitanových potrubních stěrek vykázala CPM $11\,000\,000$ KTJ/ml.

Závěr

Výsledky sledování upřesnily význam vztahů a některé rizikové limity mikrobiologických hodnot pro praktickou interpretaci metody fázové analýzy hygieny získávání mléka pro současné podmínky, u tekutých vzorků zejména pro potrubní výplachy a dále pro stěry hygienicky kritických bodů technologie dojení. Tato poradenská metoda FAHZM je účelově v podstatě, ovšem s určitou rezervou (nepravdivost a dobrovolnost provedení v případě hygienických rizik), nepravidelnou variantou (modifikací či odnoží) oficiálně uznávané regulérní metody kontroly zdravotní bezpečnosti v potravinářství zvané HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points - Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů). Tato je ve výrobě potravin považována za jeden ze základních nástrojů, jak účinně předcházet rizikům ohrožujícím bezpečnost potravin.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projekty MZe NAZV KUS QJ1210301 a MZe RO 1415.

Použitá literatura je u autorů příspěvku.

Přijato do tisku: 13. 7. 2015

Lektorováno: 26. 7. 2015

VYUŽITÍ BAKTERIOFÁGŮ K ELIMINACI *LISTERIA MONOCYTOGENES* Z POVRCHU MĚKKÝCH SEKUNDÁRNĚ ZRAJÍCÍCH SÝRŮ

Plocková Milada, Horáčková Šárka

Ústav mléka, tuků a kosmetiky,

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 168 00 Praha 6, milada.plockova@vscht.cz

Use of bacteriophages for *Listeria monocytogenes* elimination from the soft cheeses surface

Abstrakt

Standardní metody používané pro eliminaci *Listeria monocytogenes* z potravin zahrnující tepelné ošetření surovin pasterací, snížení pH potraviny přidávkem kyselin nebo fermentací, přidavek NaCl a využití bakteriocinů bak-