ACTA UNIVERSITATIS AGRICULTURAE ET SILVICULTURAE MENDELIANAE BRUNENSIS
SBORNÍK MENDELOVY ZEMĚDĚLSKÉ A LESNICKÉ UNIVERZITY V BRNĚ

Ročník LV 10 Číslo 2, 2007

VLIV PORUŠENÍ CHLADÍRENSKÉHO ŘETĚZCE NA MIKROBIOLOGICKOU KVALITU PASTEROVANÉHO MLÉKA

P. Sládková, K. Šustová, R. Burdychová

Došlo: 23. listopadu 2006

Abstract

SLÁDKOVÁ, P., ŠUSTOVÁ, K., BURDYCHOVÁ, R.: *Breaking of cooling chain influencing microbial quality of pasteurized milk*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2007, LV, No. 2, pp. 71–76

The aim of this thesis was to evaluate the changes of the microbiological quality of milk during storage. Fresh pasteurized milk was used for the laboratory experimentations. Cooling chain of the samples was broken for 8 and for 12 hours at different temperatures (22–30 °C). In these samples, total count of psychrotrophic microorganisms was assessed.
Technological indiscipline, i. e. higher storage temperature (24 °C and more), was associated with higher increase of total count of microorganisms and psychrotrophic microorganisms. Microbiological results proved that the samples stored under standard conditions were of very good quality. However, in fresh pasteurized milk the representation of total count of microorganisms and psychrotrophic microorganisms meets fully the norm requirements. It is necessary respect a sustentation of a lower temperature of fresh pasteurized milk during storage, especially in summer months.

pasterurized milk, total count of microorganisms, psychtrotrophic microorganisms, microbial quality

Neopomenutelnou a velmi důležitou součástí jak syrového, tak tepelně ošetřeného mléka jsou mikroorganismy, které se v mléku vyskytují. V průběhu rozvoje mlékařství se plně potvrdil význam mikroorganismů jako činitelů ovlivňujících využitelnost a zpracovatelnost suroviny, průběh technologických procesů, fyzikálně chemické vlastnosti mléčných výrobků, jejich senzorické vlastnosti, skladovatelnost, trvanlivost a hygienickou nezávadnost. Sledování výskytu technologicky a jakostně významných druhů mikroorganismů se stalo rutinním úkonem mlékárenských laboratoří i laboratoří státního dozoru. Informaci o dodržování technologických postupů a hygienických zásad při výrobě mléka dávají tzv. celkové počty mikroorganismů (CPM). Nízký počet CPM však nezaručuje, že mléko neobsahuje mikroorganismy vyvolávající onemocnění nebo technologicky nežádoucí mikroorganismy. Mezi mikroorganismy způsobující kromě zdravotních rizik i rizika vad mléka a mléčných výrobků patří skupina psychrotrofních mikroorganismů. Tyto mikroorganismy produkují termorezistentní lipázy a proteázy, které jsou příčinou „kažení" tepelně ošetřeného mléka, k němuž může dojít v průběhu skladování (MARTH a STEELE, 2001).

Zdrojem psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce jsou dojicí zařízení a potrubí na mléko, nádoby, nářadí, chladiče a úchovné nádrže. Nejčastějšími zástupci psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce jsou bakterie rodů *Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacter, Enterobacter, Micrococcus, Brevibacterium a Bacillus* (ŽIŽKA a kol., 1992). Z nich převažuje rod *Pseudomonas*, který obvykle netvoří více než 10 % mikroflóry čerstvě nadojeného mléka, ale patří mezi nejdůležitější psychrotrofy, dominující mikroflóře čerstvého a pasterizovaného mléka v momentě kažení (SORHAUG a STEPANIAK, 1997). Přestože mikrobiologická kontaminace syrového kravského mléka je silně ovlivňována řadou především přímých hygienicko-technologických faktorů (např. čistota technologických zařízení), nelze opo-

míjet skutečnost, že rovněž sezonní kolísání hodnot psychrotrofních mikroorganismů může být vlivným faktorem (VYLETĚLOVÁ a kol., 1999).

Většina současných prací se zabývá technologickým významem a negativním vlivem psychrotrofní mikroflóry v průběhu výroby mléka. Po tepelném ošetření a balení mléka jako finálního produktu se již nepředpokládá významné pomnožení nežádoucí mikroflóry a doba použitelnosti mléka a jeho zdravotní nezávadnosti je dána dobou minimální trvanlivosti. Po tepelném ošetření mléka ultravysokým záhřevem zůstává mléko prakticky sterilní, proto může být balené skladováno při pokojové teplotě. Po otevření je nutné skladovat jej při teplotě 4–8 °C, aby nedošlo k mikrobiálnímu znehodnocení. Zajímavější je situace po tepelném ošetření mléka pasterací. Jakékoli zvýšení skladovací teploty (i při přepravě) nad hodnotu 6–8 °C i po krátkou dobu výrazně zkracuje trvanlivost pasterovaného mléka (GAJDŮŠEK, 2000).

Práce se zabývala sledováním změn mikrobiologické kvality čerstvého pasterovaného mléka s cílem posoudit, zda nedodržení doporučené teploty a doby skladování pasterovaného mléka může vést ke snížení jeho trvanlivosti. K tomuto účelu byly na získaných vzorcích čerstvého pasterovaného mléka provedeny analýzy celkového počtu mikroorganismů a počtu psychrotrofních mikroorganismů během celého roku při různých teplotách porušení chladírenského řetězce. Zvolený pokus měl potvrdit či vyvrátit domněnku, dle které by mělo porušení chladírenského řetězce dodavatelem, prodejcem či spotřebitelem vést k průkaznému zvýšení celkového počtu mikroorganismů a psychrotrofních mikroorganismů a tedy k významnému snížení trvanlivosti pasterovaného mléka.

MATERIÁL A METODY

Odběr vzorků: dle směrnice pro odběr vzorků mléka a mléčných výrobků ČSN ISO 707. 1 litr vzorku čerstvého pasterovaného byl odebrán jednou měsíčně a po úvodní mikrobiologické analýze skladován při 4–8 °C.

Mikrobiologický rozbor: dle ČSN ISO 6730 (stanovení počtu jednotek tvořících kolonie psychrotrofních mikroorganismů) na půdě PCA se sušeným mlékem (NOACK, Francie), dle ČSN ISO 6610 CPM na půdě PCA (NOACK, Francie). Před odběrem vzorku byla láhev dokonale promíchána rychlým 25násobným převracením. Vzniklou pěnu bylo potřeba nechat rozptýlit. Postup odběru a ředění byl proveden podle ČSN ISO 8261.

Pro porovnání byly zvoleny různé teplotní podmínky, které měly zjistit, zda skladováním čerstvého pasterovaného mléka při pokojové teplotě po dobu 8 a 12 hodin dojde k výraznému pomnožení mikroflóry. Teplotní podmínky byly vybrány podle GAJDŮŠKA (2000). U vzorků mlék byly záměrně porušeny podmínky skladování, tj. doporučená teplota do 6–8 °C. Vzorky mléka byly hodnoceny v den odběru při 6–7 °C, po 8 hodinách skladování při teplotách 23–30 °C, po 12 hodinách skladování při teplotách 23–30 °C a na konci doby trvanlivosti (po 12 dnech). Kontrolní vzorek byl po celou dobu trvanlivosti skladován při teplotě 7 °C. Přehled manipulace se vzorky a jejich hodnocení uvádí Tab. I.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Práce se zabývala sledováním změn mikrobiologické kvality čerstvého pasterovaného mléka při porušení chladírenského řetězce v průběhu skladování a uchovávání mléka vzhledem k celkovému počtu mikroorganismů a počtu psychrotrofních mikroorganismů.

Tab. I. shrnuje výsledky prováděných analýz. Je patrné, že celkový počet mikroorganismů u čerstvého mléka byl plně v souladu s nařízením zákona č. 132/2004 Sb. 8 a 12hodinové porušení chladicího řetězce mělo vliv na zvýšení celkového počtu mikroorganismů. Počty dané normou jako limitní nebyly překročeny. Na konci doby trvanlivosti mléka celkové počty mikroorganismů u většiny vzorků překročily limity vyplývající ze zákona č. 132/2004 Sb. na jakost mléka a to více než 1,5×. Statistický rozdíl mezi vzorky skladovanými při doporučených teplotách a mezi vzorky s porušeným řetězcem chlazení nebyl prokázán. Vyšší počty CPM i psychrotrofních mikroorganismů byly zaznamenány hlavně koncem jarních měsíců (květen, červen) a v červenci (graf 1 až 3).

VYLETĚLOVÁ a kol. (2000) uvádí, že psychrotrofní mikroorganismy se velkou měrou podílejí na kažení mléka a mléčných výrobků. Samotná přítomnost bakteriálních kmenů neznamená negativní zatížení senzorických a jiných vlastností mléčné suroviny, nežádoucí je hlavně tvorbou svých termorezistentních extracelulárních lytických enzymů. Teprve při pomnožení psychrotrofů a zvýšení enzymatické koncentrace představuje tato eventualita riziko kvalitativních problémů se zpracováním mléka. Z tohoto důvodu byl v čerstvém pasterovaném mléce po dobu skladování a porušení chladírenského řetězce sledován výskyt psychrotrofních mikroorganismů. Počty psychrotrofních mikroorganismů v analyzovaných vzorcích byly plně v souladu s vyhláškou č. 294/1997 Sb., 91/1999 Sb. na jakost mléka, a to jak u mléka čerstvého, tak ve vzorcích s porušeným chladicím řetězcem po dobu 8 a 12 hodin. Na konci doby trvanlivosti se počty psychrotrofních mikroorganismů výrazně zvýšily a překročily ve dvou případech limit normy daný výše uvedenou vyhláškou.

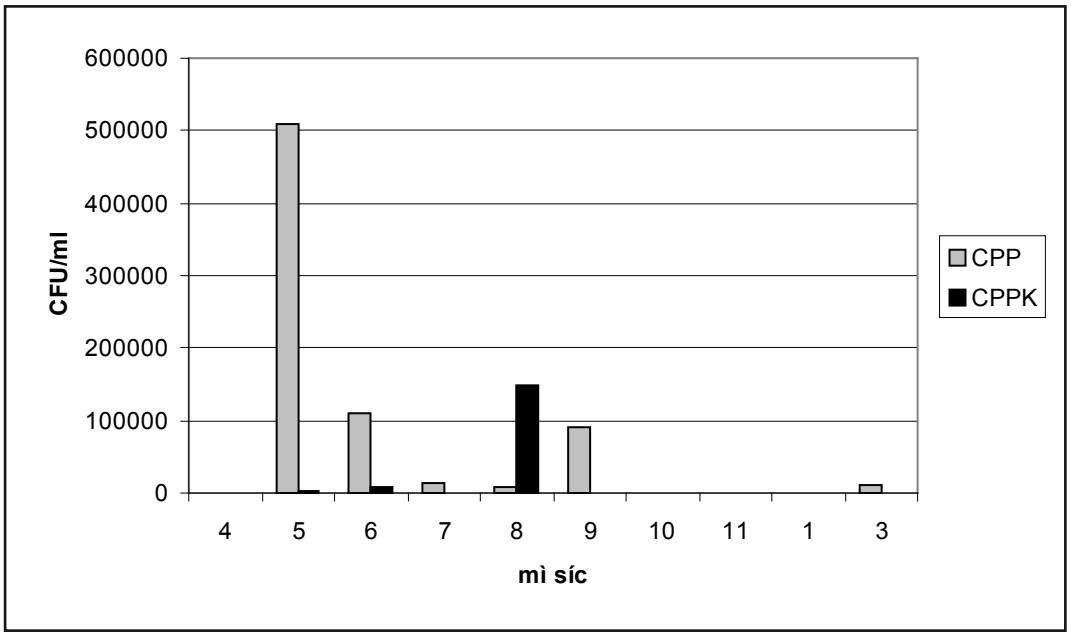
Jako kontrolní vzorek bylo použito čerstvé pasterované mléko, kterému nebyl porušen chladírenský

I: *Výsledky mikrobiologického rozboru čerstvého pasterovaného mléka (vzorky č. 1)*

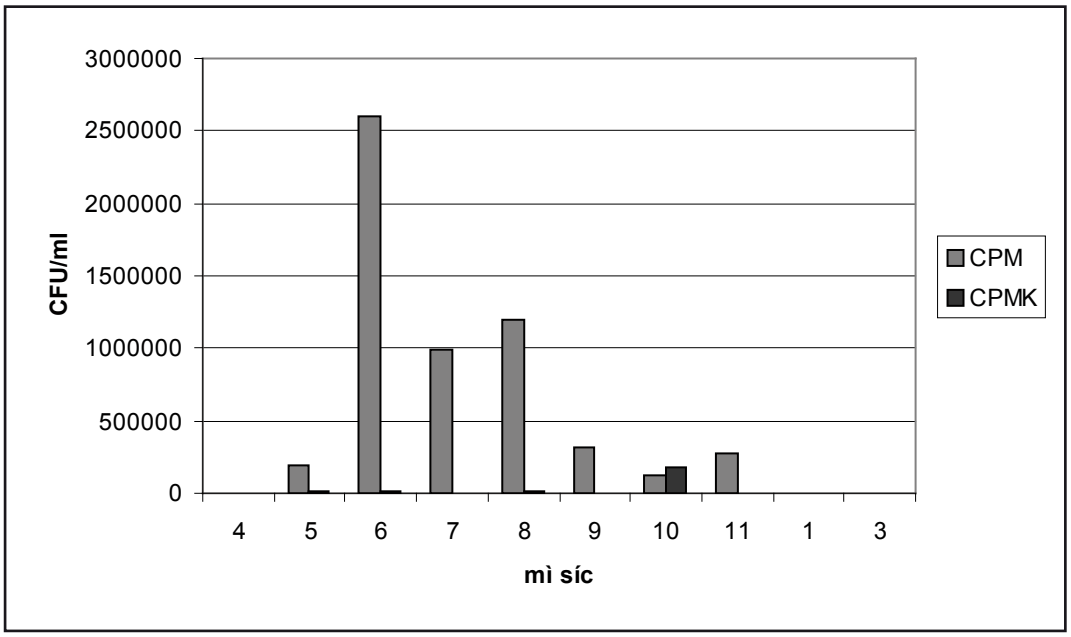
Měsíc odběru	Teplota skladování (°C)	Délka skladování	Psychrotrofní MO (CFU/ml)		CPM (CFU/ml)	
			vzorky	kontrola	vzorky	kontrola
duben	7	0 hodin	1	1	$1{,}0.10^{1}$	$1{,}0.10^{1}$
	23	8 hodin	<10		<10	
	23	12 hodin	<10		$1{,}3.10^{1}$	
	7	12 dní	$4{,}2.10^{1}$	$2{,}1.10^{1}$	$1{,}6.10^{1}$	<10
květen	7	0 hodin	neg.	neg.	$3{,}6.10^{1}$	$3{,}6.10^{1}$
	27	8 hodin	<10		$6{,}0.10^{1}$	
	27	12 hodin	$2{,}0.10^{3}$		$1{,}7.10^{4}$	
	7	12 dní	$5{,}1.10^{5}$	$3{,}3.10^{3}$	$1{,}9.10^{5}$	$1{,}3.10^{4}$
červen	7	0 hodin	<10	neg.	$3{,}3.10^{1}$	$3{,}3.10^{1}$
	30	8 hodin	$1{,}3.10^{1}$		$4{,}6.10^{1}$	
	30	12 hodin	$1{,}8.10^{3}$		$9{,}9.10^{4}$	
	7	12 dní	$1{,}1.10^{5}$	$8{,}6.10^{3}$	$2{,}6.10^{6}$	$1{,}7.10^{4}$
červenec	7	0 hodin	neg.	neg.	$4{,}0.10^{1}$	$4{,}0.10^{1}$
	28	8 hodin	$1{,}5.10^{1}$		$7{,}1.10^{1}$	
	28	12 hodin	$4{,}8.10^{3}$		$9{,}2.10^{3}$	
	7	12 dní	$1{,}4.10^{4}$	$1{,}1.10^{2}$	$9{,}9.10^{5}$	$1{,}0.10^{4}$
srpen	7	0 hodin	<10	<10	<10	<10
	26	8 hodin	$2{,}0.10^{1}$		<10	
	26	12 hodin	$2{,}0.10^{1}$		$8{,}7.10^{1}$	
	7	12 dní	$8{,}3.10^{3}$	$1{,}5.10^{5}$	$1{,}2.10^{6}$	$1{,}9.10^{4}$
září	7	0 hodin	1	1	<10	<10
	25	8 hodin	1		<10	
	25	12 hodin	$1{,}5.10^{1}$		$6{,}7.10^{3}$	
	7	12 dní	$9{,}1.10^{4}$	$1{,}5.10^{2}$	$3{,}2.10^{5}$	$1{,}8.10^{2}$
říjen	7	0 hodin	1	1	$3{,}1.10^{1}$	$3{,}1.10^{1}$
	26	8 hodin	$1{,}5.10^{1}$		$8{,}4.10^{2}$	
	26	12 hodin	$3{,}7.10^{1}$		$7{,}1.10^{3}$	
	7	12 dní	$1{,}1.10^{1}$	$2{,}2.10^{2}$	$1{,}3.10^{5}$	$1{,}8.10^{5}$
listopad	7	0 hodin	neg.	neg.	<10	<10
	24	8 hodin	neg.		<10	
	24	12 hodin	<10		$5{,}4.10^{2}$	
	7	12 dní	$6{,}6.10^{1}$	$1{,}0.10^{1}$	$2{,}7.10^{5}$	$2{,}3.10^{3}$
leden	7	0 hodin	<10	<10	<10	<10
	22	8 hodin	<10		$3{,}0.10^{1}$	
	22	12 hodin	$1{,}0.10^{1}$		$1{,}2.10^{2}$	
	7	12 dní	$2{,}0.10^{1}$	<10	$1{,}1.10^{1}$	$2{,}8.10^{1}$
březen	7	0 hodin	neg.	neg.	<10	<10
	22	8 hodin	neg.		<10	
	22	12 hodin	neg.		1	
	7	12 dní	$1{,}2.10^{4}$	$1{,}0.10^{3}$	$2{,}4.10^{2}$	$7{,}0.10^{2}$

řetězec po celou dobu trvanlivosti. Celkové počty mikroorganismů i psychrotrofních mikroorganismů u kontrolních vzorků byly zcela v souladu se zákonem č. 132/2004 Sb., a vyhláškou Ministerstva zdravotnictví ČR č. 294/1997 Sb., 91/1999 Sb.

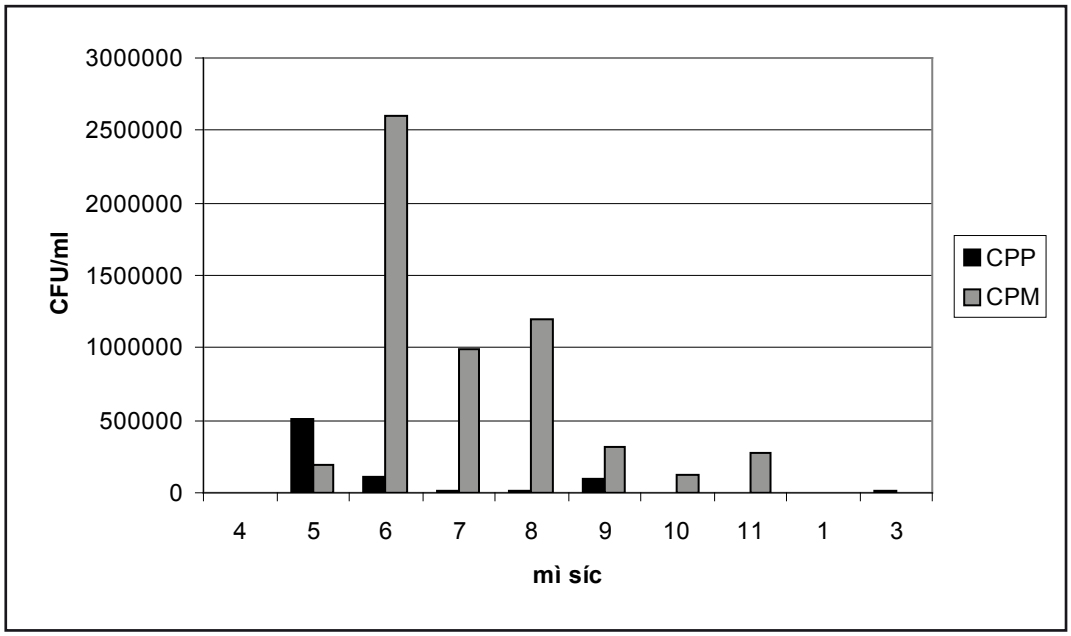
Z výsledků práce plyne fakt, že i přechodné zvýšení teploty ovlivňuje rychlost růstu mikroorganismů i psychrotrofních mikroorganismů. Výsledky se shodují s prací VYLETĚLOVÉ a HANUŠE (2000). Jmenovaní autoři také uvádějí, že při vyšší úchovné teplotě dochází k rychlejší degradaci mléka v důsledku zvětšující se aktivity enzymů. Původní předpoklad BAJTKOVÉ (2003), že by k výraznějšímu růstu celkového počtu mikroorganismů a psychrotrofních mikroorganismů docházelo hlavně v letních měsících, nebyl potvrzen, protože úvodní analýzy vzorků mléka prováděné celoročně se výrazně nelišily.



1: *Výsledky mikrobiologického rozboru čerstvého pasterovaného mléka (celkové počty psychrotrofních MO)*



2: *Výsledky mikrobiologického rozboru čerstvého pasterovaného mléka (celkové počty mikroorganismů)*



3: *Výsledky porovnání výskytu celkového počtu mikroorganismů a psychrotrofních mikroorganismů*

SOUHRN

Práce se zabývá sledováním mikrobiologických změn čerstvého pasterizovaného polotučného mléka vlivem skladování. Kontrolní vzorky pasterizovaného mléka byly skladovány v chladničce a u ostatních vzorků byl porušen chladírenský řetězec na dobu 8 až 12 hodin, kdy byly vzorky skladovány při teplotách 22 až 30 °C. U vzorků byl sledován vliv porušení chladírenského řetězce na výskyt celkového počtu mikroorganismů a psychrotrofních mikroorganismů.

Z naměřených výsledků vyplývá, že vyšší teplota skladování čerstvého pasterizovaného polotučného mléka má vliv na rostoucí počet mikroorganismů. Pro spotřebitele je zásadní fakt, že bylo v této práci zjištěno a ověřeno, že k výraznému negativnímu ovlivnění kvality pasterovaného mléka, zejména na konci doby jeho trvanlivosti, dochází při porušení chladírenského řetězce již po dobu 8 hodin při teplotě 24 °C a výše. Při konzumaci pasterovaného mléka je tedy dle výsledků této práce doporučeno důsledně dodržovat výrobcem doporučený chladírenský řetězec, především v letních měsících, kdy pokojová teplota přesahuje zjištěný teplotní limit 24 °C.

pasterované mléko, celkový počet mikroorganismů, psychrotrofní mikroorganismy, mikrobiologická kvalita

LITERATURA

BAJTKOVÁ, I.: Trvanlivost vybraných mléčných výrobků. Diplomová práce, MZLU, Brno, 2003, 47 s.

ČSN ISO 8261 Všeobecné pokyny pro úpravu analytických vzorků, přípravu výchozích suspenzí a desetinásobných ředění pro mikrobiologické zkoušení

ČSN ISO 707 Směrnice pro odběr vzorků

ČSN ISO 6610 Stanovení počtu jednotek mikroorganismů tvořících kolonie. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30°C.

ČSN ISO 6730 Stanovení počtu jednotek tvořících kolonie psychrotrofních mikroorganismů. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 6,5°C.

GAJDŮŠEK, S.: Mlékařství II. MZLU, Brno, 2000, 142 s.

MARTH, E. H., STEELE, J. L.,: Applied dairy mikrobiology. New Zork: Marcel Dekkr, 2001, 744 s., ISBN: 0-8247-0536-X.

SŘHAUG, T., STEPANIAK, L.: Psychrotrophs and thein enzymes in milk and dairy products: Quality aspects, Food Science a Technology, 1997, 8: 35–40.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 294/1997 Sb., 91/1999 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení

VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O.: Vliv kontaminace *Pseudomonas fluorescens* na hlavní složky a technologické vlastnosti pasterizovaného mléka během skladování. *Czech J. Food Sci*., 2000, 18: 224–234.

VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O., URBANOVÁ, E., KOPUNECZ, P.: Výskyt a identifikace psychrotrofních bakterií s proteolytickou a lipolytickou aktivitou v bazénových vzorcích mléka v podmínkách technologií prvovýrobního uskladnění. *Veterinářství*, 1999, 11: 480–482.

ŽIŽKA, B.: Mikrobiologie. Praha, 1992, 195 s.

Adresa

Ing. Pavla Sládková, Ing. Květoslava Šustová, Ph.D., Ing. Radka Burdychová, Ph.D., Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: sladkopavla@seznam.cz