

Podiel spór aeróbných sporulujúcich baktérií v celkovom počte baktérií v odstredenom sušenom mlieku

MÁRIA GREIFOVÁ - FRIDRICH GÖRNER - LUBICA ŠUŠOLIAKOVÁ

Súhrn. Vo vzorkách sušeného odstredeného mlieka sa sledoval celkový počet baktérií a počet aeróbných sporulujúcich baktérií počas výroby sušeného mlieka s cieľom zistiť podiel aeróbných spór v celkovom počte baktérií. Priemerný celkový počet baktérií za 7 hodín sušenia vzrástol o 6,8 log poriadkov. Priemerný počet aeróbných spór stúpal za rovnaký čas sušenia iba o 1,05 log poriadku. Podiel spór aeróbných sporulujúcich baktérií v celkovom počte baktérií sa s časom sušenia znižoval, lebo narástol počet nesporulujúcich baktérií, čo poukazuje na zvýšenú rekontamináciu mlieka z dôvodu havarijného stavu alebo nedostatočnej dekontaminácie sušiarenskej linky.

Sušené mlieka sú mliečne konzervy, ktorých trvanlivosť je oproti natívnemu mlieku spôsobená odobraním vody po hranicu nedovoľujúcu rozmnožovanie a metabolizmus mikroorganizmov. To však neznamená, že sušené mlieko nemôže obsahovať rad mikroorganizmov saprofytických, ako aj choroboplodných.

Podľa ČSN 57 0803 [1] sa nemá zo sušeného mlieka pre priamu spotrebu vypestovať štandardnou metódou viac ako 50 000 KTJ/g (celkový počet baktérii - CPB). V tomto čísle je zahrnutý rad bakteriálnych skupín, rodov a druhov. Z hľadiska dodržania toho mikrobiologického limitu v technologickej praxi je potrebné poznať, ktoré baktérie sa na CPB podieľajú a ako sa chovajú pri výrobe sušených mliek. Podľa zistených skutočností sa môžu pri výrobe robiť opatrenia potrebné

Ing. Mária Greifová, Prof. Ing. Dr. Fridrich Görner, DrSc., Ing. Lubica Šušoliaková, Katedra mlieka, tukov a hygieny požívatin, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

na ich elimináciu.

V predloženej práci bola pozornosť zameraná na sledovanie rekontaminácie počas výroby sušeného mlieka s hlavným zreteľom na zistenie podielu aeróbných spór v celkovom počte baktérií.

Materiál a metódy

Vyšetrované vzorky

Mikrobiologicky sme vyšetrili vzorky sušeného odstredeného mlieka (SOM) vyrobeného v závode A. Vzorky boli odoberané pracovníkmi závodu v dohodnutých časových intervaloch v procese sušenia do sterilných mikroténových vrecúšok s hmotnosťou asi 0,5 kg. Vykonali sme 6 sérií vyšetrení.

Technologické parametre pri sušení mlieka v závode A

Pasterizácia mlieka:	72 °C 15 s
Uperizácia:	105 °C okamžite
Zahusťovanie pred sušením:	trojstupňová odparka s klesajúcim filmom s termokompresiou
	I.st. 74 - 76 °C
	II.st. 58 - 60 °C
	III.st. 39 - 42 °C
Koncentrát zahustený na:	45 - 48 % sušiny
Teplota koncentráту:	40 ± 2 °C
Objem zásobnej nádrže na koncentrát:	700 l
Sušiareň:	fy Alfa Laval (Švédsko)
Teplota sušiacého vzduchu:	vstupná 175 °C
	výstupná 80 °C
Vlhosť prášku:	3,5 - 4 %
Výkon:	40 000 l / 3-4 h

Stanovenie celkového počtu baktérií (CPB)

1 ml vzorky príslušného riedenia zaliatej "Živným agarom č. 2" sa kultivovalo v termostate 48 - 72 h pri $t = 30\text{ °C}$ [2].

Stanovenie počtu aeróbných spór baktérií (AES)

1 ml inaktivovanej vzorky (15 min pri 80 °C) príslušného riedenia zaliatej "Živným agarom č. 2" sa kultivovalo 48 h pri 30 °C [2].

Výsledky a diskusia

Celkový počet baktérií (CPB)

V tab.1. sú zhrnuté výsledky stanovenia CPB v odstredenom sušenom mlieku v závislosti od času sušenia pre šesť pokusných sérií. Na začiatku sušenia, t.j. asi o pol hodiny po nabehnutí celého procesu, bol stanovený priemerný počet CPB 5 100 KTJ CPB/g a rozptyl jednotlivých hodnôt bol v intervale 3 700 až 6 400 KTJ CPB/g. Tieto, vzhľadom na presnosť metódy stanovenia, ktorá za daných podmienok bola $\pm 30 \%$ [3], sa môžu považovať za zhodné. Namerané hodnoty potvrdili skutočnosť, že východzie mlieko na sušenie malo rovnaký pôvod a pred samotným sušením bolo rovnako technologicky ošetrované.

Počas ďalších hodín sušenia sa rozptyl výsledkov v jednotlivých pokusných sériách významne zvýšil. V čase druhej hodiny sušenia bol stanovený CPB v sušenom mlieku 2900 až 12 000 KTJ/g, štvrtej hodiny sušenia 4 200 až 24 000 KTJ/h, počas siedmej hodiny sušenia 7 000 až 32 000 KTJ/g a v jednom prípade, počas jedenástej hodiny sušenia vystúpil CPB v jednej sérii až na hodnotu 63 000 KTJ/g.

Pri všetkých šiestich sériách zahusťovania a sušenia mlieka boli parametre teploty rovnaké, a počiatočný počet baktérií bol taktiež zhodný. Preto musel na CPB vplývať ešte ďalší faktor. Z pozorovania prevádzky zahusťovania a sušenia mlieka v závode bolo zistené, že dochádzalo k zastaveniu procesu z dôvodu prerušenia dodávky elektrickej energie. Vtedy ostávalo mlieko v aparátúrach dlhší čas a baktérie sa mohli rozmnožovať. Teoreticky by sa v takýchto prípadoch mala prevádzka prerušiť a aparatúry by sa mali vyčistiť a dekontaminovať. Toto však vyžaduje primeraný čas a pri pravidelnej dodávke mlieka do mliekarenského závodu znamená jeho hromadenie. Preto sa po opätovnej dodávke elektrickej energie spravidla v prevádzke pokračuje bez čistenia.

Tento dôvod dol hlavnou príčinou zvýšeného CPB v druhej a piatej pokusnej sérii.

Odhladiac od extrémnych hodnôt CPB v odstredenom sušenom mlieku, ktoré vznikli z vyššie uvedených dôvodov, sme zistili, že s časom sušenia CPB v sušenom mlieku vo všeobecnosti stúpal. Túto skutočnosť dokumentujú v tab.1. priemerné hodnoty vypočítané s vynechaním extrémnych hodnôt vzniklých z dôvodov prerušenia prevádzky. V závislosti od času sušenia boli priemerné hodnoty CPB 5 100 KJT/g, 4 100, 5 700, 7 500 a 63 000 KJT/g. Tento nárast CPB počas sušenia mlieka bol najpravdepodobnejšie spôsobený rozmnožovaním baktérií v aparáturách, v mliečnych zrazeninách na plochách stykajúcich sa s pretekajúcim mliekom tekutým alebo už sušeným. Množením vzniklé baktérie sa s pretekajúcim mliekom čiastočne strhávajú a zväčšujú ich počet v produkte. Z tohto stúpajúceho radu CPB sa vymyká najnižšia priemerná hodnota nameraná počas druhej hodiny sušenia - 4 100 KJT/g. Tento jav nie je náhoda, ale súvisí s intenzívnejším vyplachovaním baktérií z aparatury v pomere k ich rozmnožovaniu na začiatku procesu zahusťovania a sušenia. Po vyčistení a dekontaminácii aparatury sú na jej stenách ulpelé baktérie v latentnom stave, potom prekonávajú lag fázu a až po určitom čase sa započnú intenzívne rozmnožovať a prechádzajú do logaritmickú fázu rozmnožovania [4].

Z dosiaľ prezentovaných výsledkov sa môže dedukovať, že limit CPB v sušenom odstredenom mlieku 50 000 KJT/g sa pri normálnej prevádzke sušenia mlieka dá bezpečne dodržať. Jeho prekročenie znamená významnejšie narušenie správnej technologickej praxe, ktoré by sa nemalo vyskytovať.

Aeróbne spóry (AES)

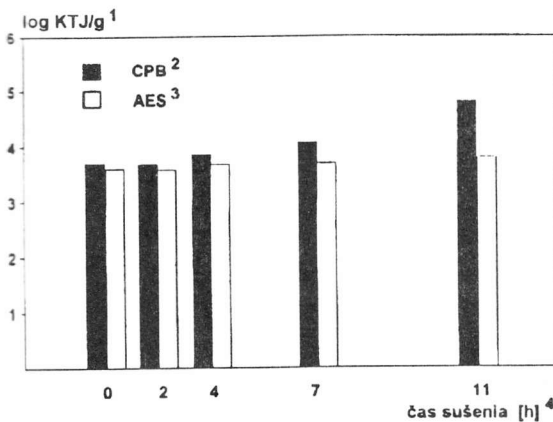
Pri každej tepelnej úprave mlieka, s výnimkou sterilizácie, prežívajú termorezistentné spóry sporulujúcich baktérií. Tepelnou úpravou mlieka, včítane sušenia sa preto pomerný počet spór zvyšuje, eliminujú sa v mlieku baktérie mliečneho kysnutia, ktoré sú antagonistami aeróbných sporulujúcich baktérií. Podľa Stadhoudersa [5] sa v mlieku najčastejšie vyskytujú rody: *Bacillus circulans*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. subtilis* a niekedy aj *B. cereus*. U posledného sa vyskytujú aj psychrot-

Tabuľka 1. Celkový počet baktérií (CPB) a aeróbne spóry (AES) v sušenom mlieku v priebehu sušenia v závode A v závislosti od času sušenia.

Table 1. Total number of bacteria (CPB) and aerobic spores (AES) in dried milk during drying in plant A depending on drying time.

čas suš. ¹ [h]	CPB [KTJ/g].10 ³					AES [KTJ/g].10 ³				
séria ²	0	2	4	7	11	0	2	4	7	11
1	5,5	4,6	5,6	7,0		4,1	4,3	5,8	5,5	
2	6,4	11,7	24,3			3,7	3,3	3,8		
3	6,0	2,9	4,2	7,5		6,1	3,6	4,3	6,1	
4	4,3	3,8	6,7	7,9		3,7	3,5	6,6	6,7	
5	5,4	4,5	7,4	32,0	63,3	3,0	7,0	6,7	6,3	6,0
6	3,7	4,5	4,7	18,0		3,5	2,6	2,9	2,1	
\bar{x}_g	5,1	4,8	7,1	11,9	63,3	3,9	3,85	4,8	4,95	6,0
\bar{x}_g^*	5,1	4,1	5,7	7,5	63,3					
a)						76,0	80,2	67,6	41,6	9,48
b)						76,0	93,9	84,2	66,0	9,48

KTJ - kolóniu tvoriaca jednotka, \bar{x}_g - geometrický priemer, \bar{x}_g^* - geometrický priemer bez extrémnych hodnôt, a - podiel AES v CPB [%], b - podiel AES v CPB bez extrémnych hodnôt [%].
 KTJ - colony forming unit, \bar{x}_g - geometrical mean, \bar{x}_g^* - geometrical mean without extreme values, a - AES share in CPB [%], b - AES share in CPB without extreme values [%], 1 - drying time, 2 - series.



Obr.1. Celkový počet baktérií (CPB) a aeróbne spóry (AES) v sušenom odstredenom mlieku v priebehu sušenia.

Fig.1. Total number of bacteria (CPB) and aerobic spores (AES) in dried centrifuged milk during drying.

1 - log CFU.g⁻¹, 2 - total number of bacteria, 3 - aerobic spores, 4 - drying time [h].

rófnе kmene a niektoré kmene produkujú za vhodných okolností toxíny [6].

Z uvedených dôvodov bol záujem sledovať v sušenom mlieku vedľa CPB aj počet spór aeróbných sporulujúcich baktérií. Z hodnôt ich počtov (tab.1.) v jednotlivých vzorkách šiestich pokusných sérií, ako aj z ich priemerných hodnôt 3 900 KTJ AES/g, 3 850, 4 800, 4 950 a 6 000 KTJ AES/g, je predovšetkým vidno, že nárast ich počtu v závislosti od času procesu zahusťovania a sušenia bol miernejší ako u CPB. Priemerný CPB vzrástol za sedem hodín sušenia o 6,8 log poriadkov a priemerný počet AES za rovnaký čas iba o 1,05 log poriadkov. Tento rozdiel je pochopiteľný, lebo intenzívne zvyšovanie CPB, najmä pri uvedených havarijných prípadoch sa uskutočňuje na konto vegetatívnych foriem baktérií, tvorba spór sporulujúcich baktérií tu pokračuje pomalšie, lebo nie sú k tomu vhodné podmienky. Z tejto skutočnosti vyplýva, že obsah spór v sušených mliekach závisí predovšetkým od jeho obsahu vo východzom mlieku. Už Kwee a kol. [7] zistili vysokú koreláciu $r = 0,97$ medzi obsahom spór v surovom a v sušenom mlieku z neho vyrobenom. Preto sa pri získavaní mlieka na mliečnych hospodárstvach musí zabrániť množeniu termorezistentných a sporulujúcich baktérií účinným chladením na 8 až 6 °C. Podľa Crossleya a Johnsona [8] dvojhodinové nechladenie práve nadojeného mlieka spôsobuje významné množenie termorezistentných baktérií.

Podiel AES v CPB

Z výsledkov prezentovaných v práci vyplýva, že štandardami požadovaný maximálny celkový počet baktérií - 50 000 KTJ/g - sa v sušiarenskej praxi, pri zachovaní požiadaviek správnej technologickej praxe, môže bez väčších problémov dodržať.

V stanovenom CPB sú baktérie, ktorým vyhovuje použité štandardné médium, kultivačná teplota a kultivačný čas. Jednou zložkou tejto zmesi baktérií sú aj aeróbne sporulujúce baktérie (ich vegetatívne formy) a ich spóry. Pri stanovení spór aeróbných sporulujúcich baktérií sa v metóde predpísaným postupom vegetatívne formy devitalizujú a stanovujú sa iba aeróbne spóry.

Pomerné hodnoty obsahu AES v CPB v priemerných počtoch šiestich

sérií meraní sú zhrnuté v tab.1. Tu sú rozdelené do dvoch skupín: a) v CPB včítane mimoriadne zvýšených - 70,0 %, 80,2, 67,6, 41,6 a 9,48 %. V skupine b) bez mimoriadne zvýšených CPB - 76,0 %, 93,9, 84,2, 66,0 a 9,48 %. V obidvoch skupinách sa javí tendencia, že po asi štvrtú hodinu zahusťovania a sušenia mlieka bol podiel AES v CPB vysoký. S mimoriadne zvýšenými počtami CPB 67,6 % až 80,2 % a bez mimoriadne zvýšených CPB 76,0 % až 93,9 %. Počas neskorších hodín zahusťovania a sušenia sa podiel AES v CPB znižoval, pri siedmej hodine bol podiel iba 41,6 % a 66,0 % a pri jedenástej hodine bol len 9,48 %.

Z týchto výsledkov sa môže odvodiť, že ak sa pri stanovení CPB v sušenom mlieku na médiu vyskytuje zvýšený podiel kolónií nesporulujúcich baktérií, znamená to zvýšenú rekontamináciu mlieka z dôvodu neeliminovaných následkov zastavenia procesov alebo, že vyšetrovaná vzorka sušeného mlieka pochádzala z neskoršie sušeného mlieka, prípadne že čisteniu a dekontaminácií sušiarenskej linky nebola venovaná náležitá pozornosť.

Otvorenou ostáva otázka, ktoré skupiny, rody a druhy baktérií tvoria zvýšený počet nesporulujúcich baktérií v sušenom mlieku.

Literatúra

1. ČSN 57 0803. Sušené mlieko. Technické požiadavky. 1981.
2. ČSN 56 0100. Mikrobiologické zkoušení poživatín, předmětu běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. 1968.
3. VALLUŠOVÁ, M. - GÖRNER, F.: Bull. PV, 26, 1987, s. 77-83.
4. GREIFOVÁ, M. - GÖRNER, F.: Bull. PV, V tlači 1994.
5. STADHOUDERS, J.- HUP, G. - HASSING, F.: Dairy J., 36, 1982, s. 231-260.
6. MEČIAROVÁ, M.: Diplomová práca. Bratislava 1989. ČHTF SVŠT, 112 s.
7. KWEE, W. S. a kol.: Aust. J. Dairy Technol., 41, 1986, s. 3-9.
8. CROSSLEY, E.L. - JOHNSON, W.A.: J.Dairy Res., 13, 1942, s. 5-44.

Do redakcie došlo 10.10.1994.

Spores share of aerobic sporulating bacteria in total number of bacteria in centrifuged dried milk

Summary

Total number of bacteria and number of aerobic sporulating bacteria were observed in samples of dried centrifuged milk during its production to obtain share of aerobic spores in total number of bacteria. The total number of bacteria during seven hour drying has grown up of $6,8 \cdot 10^3$ KTJ/g. The spores share of the aerobic sporulating bacteria in total number of bacteria. The share of aerobic spores had increased during the same time of drying of $1,05 \cdot 10^3$ KTJ/g. The spore number of aerobic sporulating bacteria in the total number of bacteria with the time of drying had decrease as the number of nonsporulating bacteria was growing. It points out at higher recontamination of milk caused by breakdown or insufficient decontamination of drying-house.