

Mikrobiologická kvalita syrového mléka z mléčných automatů

Bc. Marta Koutská

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Marta KOUTSKÁ**
Osobní číslo: **T09547**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Mikrobiologická kvalita syrového mléka z mléčných automatů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Syrové mléko a jeho složení.
2. Mikrobiologie syrového mléka.
3. Konzumace syrového mléka.
4. Mléčný automat a jeho princip.

II. Praktická část

1. Průzkum úpravy syrového mléka spotřebitelem.
2. Mikrobiologický rozbor syrového mléka.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] ADAMS, M. R., MOTARJEMI, Y. Emerging foodborne pathogens [online], Cambridge: Woodhead Publishing, [cit. 2010-11-14]. 634 s. Dostupné z WWW: http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1363. ISBN 9781855739635.

[2] GAJDŮŠEK, S. Laktologie, 1. vydání, Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, 78 s. ISBN 80-7157-657-3.

[3] JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J. Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích, 1. vydání, Praha: ÚZPI, 1995, 106 s. ISBN 80-85120-47-X.

[4] FOX, P., MCSWEENEY, P. Dairy chemistry and biochemistry [online]. London: Blackie Academic & Professional, [cit. 2010-11-07]. 478 s. Dostupné z WWW: <http://www.knovel.com/knovel2/Toc.jsp?BookID=937>. ISBN 0-412-72000-0

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Zuzana Míšková, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Obor:

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce popisuje složení kravského mléka. Zabývá se mikrobiologií syrového mléka, patogenními a podmíněně patogenními mikroorganismy vyskytujícími se v syrovém mléce. Další část je zaměřena na pozitiva a negativa mléka a princip mléčného automatu.

V praktické části se zaměřuje na průzkum úpravy syrového mléka spotřebitelem a mikrobiologickým rozbořem syrového mléka.

Klíčová slova:

Složení mléka, mikrobiologie syrového mléka, mléčný automat

ABSTRACT

This diploma thesis describes a cow's milk consistency. The thesis deals with raw milk microbiology, pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms occurring in raw milk. Another part is focused on positives and negatives of milk and milk vending machine principle.

The practical part aims at research of raw milk modification by a consumer and a microbiological analysis of raw milk from a vending machine.

Keywords:

Milk consistency, raw milk mikrobiology, milk vending machine

Chtěla bych poděkovat své vedoucí diplomové práce, paní Ing. Zuzaně Míškové, Ph.D. za odbornou pomoc a cenné rady a dále všem, kteří mi svými připomínkami, materiály a podporou pomohli zpracovat dané téma.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická, nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 SLOŽENÍ MLÉKA	12
1.1 PROTEINY	12
1.2 SACHARIDY	13
1.3 LIPIDY	14
1.4 VITAMINY	15
1.5 ENZYMY	17
1.6 MINERÁLNÍ LÁTKY	17
2 MIKROBIOLOGIE SYROVÉHO MLÉKA	19
2.1 OBSAH INHIBIČNÍCH LÁTEK	19
2.2 OBSAH SOMATICKÝCH BUNĚK	20
2.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MLÉKA OVLIVNĚNÉ METABOLIZMEM A ZDRAVOTNÍM STAVEM DOJNICE	21
2.4 MIKROFLÓRA SYROVÉHO MLÉKA.....	22
2.4.1 Primární mikroflóra.....	22
2.4.2 Sekundární mikroflóra.....	24
2.4.3 Patogenní a podmíněně patogenní mikroorganismy	26
3 KONZUMACE SYROVÉHO KRAVSKÉHO MLÉKA	39
3.1 POZITIVA	39
3.2 NEGATIVA	40
4 FUNKCE MLÉČNÉHO AUTOMATU	43
II PRAKTICKÁ ČÁST	46
5 MATERIÁL A METODY	47
5.1 PRŮZKUM ÚPRAVY SYROVÉHO MLÉKA SPOTŘEBITELEM	47
5.2 MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR MLÉKA Z AUTOMATU	50
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	62
6.1 PRŮZKUM ÚPRAVY SYROVÉHO MLÉKA SPOTŘEBITELEM	62
6.2 MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR MLÉKA Z AUTOMATU	66
6.2.1 První rozbor mléka z automatu	66
6.2.2 Druhý rozbor mléka z automatu.....	72
6.2.3 Třetí rozbor mléka z automatu	80
ZÁVĚR	91
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	92
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	97

SEZNAM OBRÁZKŮ	98
SEZNAM TABULEK.....	99
SEZNAM GRAFŮ	101

ÚVOD

Hovězí dobytek pochází, podobně jako jiné druhy hospodářských zvířat, z druhů divokých, které člověk choval už v dávných dobách. Nejstarší doklady o chovu dobytka jsou staré asi 9000 let. Hovězí dobytek je tedy, mimo psa, jeden z nejstarších druhů domácích zvířat, asi stejně starý jako ovce, či koza. Zdomácnění hovězího dobytka tedy probíhalo v mladší době kamenné [46].

Důvodem pro chov hovězího dobytka byla především potřeba stálé zásoby masa pro člověka, aby v případě neúspěšného lovu nehladověl. Později byl chov spojen i s náboženskými obřady, a to především v Egyptě, kde uctívali posvátného býka Apise [46].

Domněnka, že lidé chovali dobytek kvůli užitku, je nesprávná, protože divoký dobytek dával jen velmi málo mléka a dal se těžko ovládat [46].

Používání dobytka do spřežení při hospodářských pracích je pravděpodobně prvním užitekem, který zdomácněný dobytek mimo masa poskytoval. Pro mléko začal člověk chovat dobytek až později. Některé obrazy dobytka svědčí o tom, že vemena krav byly velmi malé a na dojení museli krávy svazovat [46].

Rozvoj cenných užitkových vlastností u hovězího dobytka je tedy už důsledkem záměrné činnosti člověka, který svými zásahy vytvořil stovky značně odchylných plemen, dávajících vysoký užitek pro uspokojení potřeb společnosti [46].

Na produkci mléka začali dobytek používat jako první Egypťané ve starověku a po nich národy žijící ve Střední Asii, Indii a Římané [46].

V evropských státech došlo k intenzivnímu rozvoji chovu až v 19. století. Nastal rozvoj průmyslu a tím se zvýšila i spotřeba potravin, především mléka a masa. V té době začíná první zušlechťování plemen dobytka [46].

Před nedávnou dobou začala zemědělská družstva ve větší míře instalovat automaty na syrové mléko, což se setkalo se zájmem lidí o konzumaci tohoto mléka. Jak dalece toto mléko splňuje mikrobiologická kritéria je předmětem této práce.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SLOŽENÍ MLÉKA

Mléko a mléčné výrobky jsou součástí potravy člověka již několik tisíc let. Nejvíce je využíváno mléko kravské, které tvoří v rozvinutých zemích 98% podíl, v rozvojových zemích pouze 66%, zbývající část tvoří mléka jiného původu – buvolí, ovčí, kozí nebo velbloudí [8].

Mléko je přirozený koloidní systém dvou fází – tuku a vody. Součástí tohoto systému jsou bílkoviny s 8 esenciálními aminokyselinami, mléčný cukr laktóza, minerální látky a vitamíny [29].

1.1 Proteiny

Normální kravské mléko obsahuje asi 3,5 % bílkovin. Koncentrace se výrazně mění během laktace, a to zejména během prvních několika dnů po porodu (Obr. 1) [7].

Základní rozdělení dusíkatých látek: [8, 15]

- Kasein – komplex fosfolipidů, které jsou syntetizovány mléčnou žlázou, tvoří v mléce přežvýkavců převážnou část bílkovin. Jedná se o 4 základní druhy fosfoproteinů (α_s -kaseiny, β -kaseiny, κ -kaseiny, γ -kaseiny).
- Syrovátkové bílkoviny – globulární bílkoviny, které se v mléce vyskytují ve formě koloidního roztoku. Tyto bílkoviny jsou rozpustné při pH 4,6, některé z nich jsou syntetizovány mléčnou žlázou. Tvoří asi 1/5 z obsahu čistých bílkovin. Patří sem β -laktoglobulin, α -laktalbumin, imunoglobuliny sérum albumin a proteoso-peptony.
- Ostatní bílkoviny mléka – řada minoritních látek bílkovinné povahy (enzymy, lipoproteiny)
- Nebílkovinné dusíkaté látky – velký počet látek (močovina, jednoduché peptidy, volné aminokyseliny, kreatin, amoniak a další) obsahujících dusík, který odpovídá 250 – 300 mg dusíku v litru mléka.

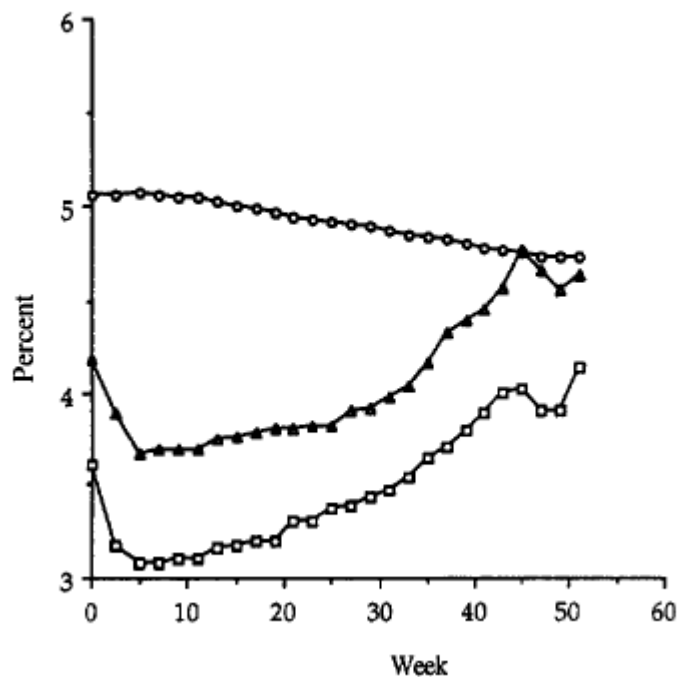
Bílkoviny mléka obsahují všechny esenciální aminokyseliny, které lidský organismus nedokáže syntetizovat, a proto je musí přijímat potravou. Mléčné bílkoviny nejenom že poskytují aminokyseliny, ale také vytváří bioaktivní peptidy se silnou biologickou aktivitou, např. specifické bioaktivní peptidy, odvozené od kaseinů a syrovátkových bílkovin, vykazují atributy (vlastnosti) poskytující zvýšenou pohyblivost střeva, podporují růst a opravy

buněk, snižují vysoký krevní tlak, jsou prevencí rakoviny, stimulují a regulují imunitní systém. Bioaktivní peptidy jsou vytvářeny během trávicího procesu v lidském těle. Tyto peptidy jsou v nativních bílkovinách neaktivní, ale předpokládá se jejich aktivita poté, co se z nich uvolní. Obsahují 3 – 64 aminokyselin, mají hydrofóbní charakter a jsou odolné vůči hydrolýze v zažívacím traktu [11].

1.2 Sacharidy

Hlavním zástupcem sacharidů v mléce savců je laktóza. Kravské mléko obsahuje v průměru 4,6 % laktózy. Ostatní cukry se ve mléce vyskytují pouze ve stopovém množství, patří sem glukóza, fruktóza, N-acetyl-D-glukózamin, N-acetyl-D-galaktózamin, N-acetylneuraminová kyselina [7, 15].

Obsah laktózy v kravském mléce se mění podle plemene krávy, individuálních faktorů, infekce vemene a stupně laktace. Koncentrace laktózy klesá postupně a výrazně během laktace (Obr. 1), naopak koncentrace lipidů a proteinů, které jsou na začátku laktace nižší, v průběhu druhé poloviny výrazně stoupají [7].



Obr. 1. Změna koncentrace lipidů (Δ), proteinů (\square) a laktózy (\circ) během laktace

Laktóza je redukující disacharid tvořený D-glukózou a D-galaktózou spojenými β -glykozidovou vazbou (4-O-p-D-galaktozyl-F-D-glukopyranóza). Při tepelném ošetření reaguje s volnými aminoskupinami (především lyzinu) bílkovin za vzniku Maillardových reakcí, jejichž produkty způsobují změnu chuti a hnědnutí sterilovaného mléka [15].

Laktóza je tvořena v mléčné žláze z krevní glukózy, galaktóza je tvořena až v mléčné žláze biochemickými procesy také z glukózy. Mléčná žláza může částečně u přežvýkavců syntetizovat laktózu také z těkavých mastných kyselin. Laktóza je rozpuštěna v přítomné vodě, dodává mléku nasládlou chuť a s ostatními rozpustnými složkami působí osmotický tlak v mléce [7, 8].

Laktóza má ve výživě obdobnou funkci jako jiné sacharidy. Tvoří převážně zdroj energie, je rychle a snadno využitelná. Laktóza se v žaludku a tenkém střevě hydrolyzuje na monosacharidy glukózu a galaktózu působením enzymu β -galaktosidáza. V případě, že tento enzym schází, je laktóza v tenkém střevě trávena nedostatečně a část nestrávené laktózy se dostane až do tlustého střeva, kde způsobí bouřlivý rozvoj střevní mikroflóry s následnou plynatostí a průjmy. Tato metabolická porucha (laktózová intolerance) se vyskytuje asi u 10–15 % dospělé populace. Řešením tohoto problému je konzumace zakysaných mléčných výrobků, sýrů, tvarohů, kde je část laktózy přeměněna na kyselinu mléčnou [20].

1.3 Lipidy

Kravné mléko obsahuje kolem 4 % tuku, jeho koncentrace záleží na mnoha faktorech: plemeno zvířete, individualita zvířete, fáze laktace, roční období, stav výživy, druh krmiva, zdraví a věk zvířete, dojení [7].

Tuk je v mléce dispergován ve formě tukových kuliček, napolární triacylglyceroly (99 % mléčného tuku) jsou obklopeny vrstvou povrchově aktivních látek, především fosfolipidů a membránových lipoproteinů. Počet tukových kuliček v 1 ml mléka se pohybuje kolem hodnoty $1,5$ až $6 \cdot 10^{10}$ při tučnosti 3,7 – 4,1 %, jejich průměr se může pohybovat od 0,1 do 22 μm . Zbytek tuku je tvořen mono- a diacylglyceroly, volnými mastnými kyselinami, fosfolipidy, steroly, estery sterolů, uhlovodíky a vitamíny rozpustnými v tucích [7, 8, 15].

V triacylglycerolech mléčného tuku je zastoupeno široké spektrum mastných kyselin s různorodými fyzikálními vlastnostmi. Důsledkem je široké rozmezí teploty tuhnutí (19 –

26 °C) a teploty tání (28 – 35 °C) mléčného tuku, který je tvořen směsí tuhého a tekutého podílu [15].

Mléčný tuk snadno podléhá autooxidaci za vzniku chuťových vad (lojovitá, kovová, rybí a další). Při zpracování mléka se musí proto minimalizovat faktory iniciující autooxidaci: kontaminace Cu^{2+} , obsah kyslíku a působení světla [15].

Mléčný tuk je zdrojem vitaminů rozpustných v tucích a esenciálních mastných kyselin, které musí být přijímány potravou [11].

Tab. 1. Shrnutí zdravotních účinků některých složek mléčného tuku [11]

Složka	Fyziologický účinek
Kyselina máselná	Snížení rizika rakoviny tlustého střeva
Konjugovaná kyselina linolová	Upravuje imunitní funkci, snižuje riziko vzniku rakoviny (žaludku, tlustého střeva, prsu a prostaty)
Sfingolipidy	Mohou snížit riziko rakoviny tlustého střeva
Kyselina stearová	Může upravovat hladinu lipidů v krvi a tím snížit riziko kardiovaskulárních a srdečních onemocnění
Triacylglyceroly	Pomáhají vstřebávání vápníku

1.4 Vitaminy

Vitaminy jsou organické sloučeniny, které tělo potřebuje ve stopovém množství, ale které nemohou být v těle syntetizovány. V mléce jsou přítomny veškeré vitaminy, i když koncentrace některých je pouze minimální (Tab. 2). Významný vliv na obsah vitaminů má roční doba v souvislosti s výživou dojnic. V letním období obsahuje mléko více karotenů a vitaminů A, D a E [7, 8].

Vitamin D pomáhá při vstřebávání vápníku. Pomáhá tvořit a udržovat pevné kosti. Je důležitý pro prevenci křivice. Nedávné výzkumy ukazují, že vitamin D snižuje výskyt několika typů rakoviny a zlepšuje imunitní funkce [11].

Vitamin B₂ se podílí na oxidačních reakcích glukózy, mastných kyselin, aminokyselin. Niacin usnadňuje využití sacharidů, syntézu tuků a tkáňové dýchání. Kyselina listová se působí jako růstový faktor a podílí se na syntéze DNA. Korinoidy jsou potřebné pro růst, tvorbu krve a činnost nervové tkáně [11].

Tab. 2. Průměrné obsahy vitaminů v mléce [8]

Vitamin	Obsah vitaminů v mléce [mg·kg ⁻¹]
A	0,3 – 1,0
Provitamin A	0,1 – 0,6
Thiamin	0,3 – 0,7
Riboflavin	0,2 – 3,0
Pyridoxin	0,2 – 2,0
Korinoidy	0,003 – 0,038
Niacin	0,8 – 5,0
Folacin	0,03 – 0,28
Kyselina pantothenová	0,4 – 4,0
C	5 – 20
D	0,001
E	0,2 – 1,2
K	0,01 – 0,03
Biotin	0,01 – 0,09

1.5 Enzymy

Mléko obsahuje široké spektrum nativních enzymů, které pocházejí z mléčné žlázy. Řada z nich se podílí na přirozeném antibakteriálním systému mléka, některé však mohou katalyzovat též biochemické reakce, které vedou ke vzniku sensorických vad mléčných výrobků, případně i ke změně technologických vlastností [15].

Kromě nativních enzymů obsahuje nadojené mléko i mikrobiální enzymy z kontaminující mikroflóry. Některé enzymy jsou v mléce koncentrovány v povrchových vrstvách tukových kuliček a přecházejí do smetany, jiné naopak vázány na bílkoviny mléka a společně s nimi se sráží. Výrazné zvýšení aktivity je u většiny enzymů zjišťováno v mlezivu. Záhřevem mléka dochází k denaturaci a inaktivaci enzymů [8].

Hlavní zdroje enzymů: [7]

- z krve přes porušené membrány buněk mléčné žlázy;
- syntéza v mléčné žláze;
- mikrobiální enzymy z kontaminující mikroflóry.

Mezi základní enzymy zjišťované v mléce patří laktoperoxidáza, xantinoxidáza, kataláza, lipáza, fosfatáza, plazmin, proteáza, lysozym, amyláza [8].

Nutriční role mléčných enzymů je diskutabilní, protože jsou zničeny vysokou teplotou [11].

1.6 Minerální látky

Minerální látky jsou v mléce přítomny v různé formě. Jednak jsou v mléčném séru v roztoku nebo koloidní formě a jednak jsou vázány na některé organické součásti mléka [8].

Soli mléka jsou hlavně fosfáty, citráty, sírany, chloridy, uhličitany a hydrogenuhličitany vápníku, draslíku a hořčíku. Přibližně dalších dvacet prvků je v mléce ve stopovém množství, včetně mědi, železa, křemíku, zinku a jódu. Hlavní prvky jsou důležité ve výživě, při přípravě, zpracování a skladování mléčných výrobků mají podstatný vliv na konformaci a stabilitu mléčných bílkovin, zejména kaseinů, v menší míře na stabilitu lipidů a aktivitu některých původních enzymů. Minerální látky jsou do mléka přenášeny z krve [7, 8].

Obsah minerálních látek v mléce je ovlivněn řadou faktorů, jako je plemeno zvířete, individualita zvířete, stádium laktace, krmivo, zdravotní stav a roční období [7].

Mléko je výborným zdrojem vápníku. Jednou z hlavních funkcí vápníku je poskytovat pevnost a strukturní vlastnosti zubů a kostí. Vápník se dále podílí na svalových kontrakcích, srážení krve, enzymových reakcích, stimuluje hormonální činnost [11].

Železo je nezbytné k tvorbě hemoglobinu. Jeho nedostatek způsobuje chudokrevnost. Hořčík je součástí kostní hmoty, je zapojen do mnoha metabolických pochodů. Zinek je složka několika metabolických enzymů a DNA. Podílí se na funkci imunitního systému. Jód je nezbytný pro tvorbu hormonů štítné žlázy. Draslík je významný elektrolyt v krvi a tkáních a se sodíkem pomáhá regulovat krevní tlak [11].

2 MIKROBIOLOGIE SYROVÉHO MLÉKA

Mléko jako živočišný produkt je proměnlivé. Vystavíme-li mléko nepříznivým podmínkám, dochází v relativně krátké době k jeho znehodnocení především v důsledku pomnožení mikroorganismů, které se do mléka dostávají při jeho získávání [5].

Mléko ze zdravé mléčné žlázy by mělo být prosté mikroorganismů, alespoň po odstříknutí prvního množství z konce strukových kanálků, které mohou být zvenku infikovány [19].

2.1 Obsah inhibičních látek

Největší rizika nejen technologická, ale i zdravotní, představují cizorodé (kontaminující) látky. Inhibicí se v mikrobiologii rozumí omezení nebo zastavení růstu mikroorganismů. Inhibiční látky v mléce jsou takové sloučeniny, které částečně nebo úplně zastavují růst čistých mlékařských kultur. Takových látek může být v mléce celá řada. Podle původu se rozdělují na přirozené a cizorodé [8, 34].

Přirozené inhibiční látky

Přirozené inhibiční látky vznikají přímo v těle dojnice a jsou součástí ochranných imunitních systémů zvířete, které je chrání před patogenní a podmíněně patogenní mikroflórou. Množství těchto látek v mléce bývá různé v závislosti na mnoha faktorech, jako např. na zdravotním stavu, plemeni, krmení atd. Vyšší koncentrace se vyskytují zejména v mlezivu a mléce dojnic trpících zánětem mléčné žlázy. I když jsou přirozené inhibiční látky převážně termolabilní, šetrná pasterace je poškozují jen málo a ani vysoká pasterace je vždy úplně nezničí [34].

Cizorodé inhibiční látky

Cizorodé inhibiční látky kontaminují mléko ještě ve vemeni nebo po nadojení. V prvním případě se jedná hlavně o léčiva a různé chemické látky obsažené v krmivech. Po nadojení může být mléko kontaminováno mycími a dezinfekčními prostředky [34].

Z léčiv se nejvýrazněji projevuje přítomnost antibiotik. Používají se ve velkém rozsahu při léčení mastitid, ale i jiných onemocnění. V těle zvířat se většinou nerozkládají, ale jsou vylučovány močí, výkaly a mlékem. Mlékem bývá vyloučeno 50 – 60 % i více z celkového množství použitého k léčbě. Mléko obsahující antibiotika je pro výrobu nepoužitelné, ne-

boť zde neprobíhají potřebné zrací pochody, naopak se zde mohou rozmnožovat organizmy na dané antibiotikum necitlivé [34].

Do nadojeného mléka se mohou dostat také mycí, čistící a dezinfekční prostředky. Nejčastěji se jedná o zbytky roztoků z nedokonale vypláchnutých dojících zařízení, potrubí a nádrží. [34]

Přítomnost reziduí v mléce může mít různé nežádoucí účinky: [35]

- vliv na mikrobiologické metody pro stanovení mikrobiologické kvality mléka;
- dopad na fermentaci a výrobu fermentovaných mléčných výrobků;
- potencionální problémy související se zdravím obyvatel.

2.2 Obsah somatických buněk

Buněčné elementy nebo také somatické buňky jsou buňky živočišné. Jedná se jednak o buňky z krve a jednak o buňky a útvary pocházející z mléčné žlázy. Z buněk krve se v mléce nejčastěji vyskytují leukocyty, lymfocyty a monocyty. Neutrofilní granulocyty se objevují ve zvýšeném množství v mlezivu a v mléce před zaprahnutím, ale hlavně při onemocnění mléčné žlázy. Vzácně, při poranění nebo prudkém zánětu, se mohou dostat do mléka i červené krvinky [8, 34].

Počet somatických buněk v mléce je především zdravotním ukazatelem vemene, neboť se zvyšuje s výskytem a vzrůstem intenzity především infekčního zánětlivého procesu (mastitidy). V mléce zdravé dojnice kolísá v průběhu laktace mezi 20 až 30 tisíci v 1 m³. Počet 400 – 500 tisíc bývá považován za podezřelý a 500 tisíc za chorobně zvýšený [8, 34].

Mastitidy skotu jsou jednou z hlavních příčin snižování jakosti mléka. Dochází ke snížení biologické a nutriční hodnoty mléka a snížení jeho technologické zpracovatelnosti. V neposlední řadě jsou tato onemocnění provázána pomnožováním patogenní a podmíněně patogenní mikroflóry, která může ohrozit zdraví člověka přímo nebo prostřednictvím toxických bakteriálních produktů. Syrové mléko proto může být potencionálním zdrojem nebezpečí, avšak účinné tepelné ošetření (pasterace) destruuje tyto mikroorganismy. Nelze ani opomenout ohrožení člověka rezidui antibiotik v mléce, která se široce používají při terapii mastitid [22].

Mléko nemocné dojnice je chemicky, fyzikálně, případně i smyslově pozmeněné. Mléko má nižší sušinu, klesá obsah kaseinu, laktózy, vápníku, fosforu, draslíku. Zvyšuje se obsah chloridů, sodíku, sérového albuminu. Změny mléčného tuku nastávají až při těžkých zánětech. Aktuální kyselost se zvyšuje nad pH 6,6, mléko může mít i alkalickou reakci. Titrační kyselost klesá pod 6,2. Mění se aktivity enzymů. Snižuje se kysací schopnost mléka. Při zjevném onemocnění je mléko nápadně smyslově pozmeněno. V mléce se objevují vločky, někdy i hnis, krev, má změněnou barvu a konzistenci. Má slanou příchut' [34].

2.3 Chemické složení mléka ovlivněné metabolizmem a zdravotním stavem dojnice

Na rozvoj mikroflóry v mléce působí významně poruchy látkové výměny (metabolické poruchy) dojnice. Jsou způsobeny špatnou kvalitou krmiva, nesprávným složením nebo náhlými změnami ve složení krmných dávek. Dochází k porušení adaptační schopnosti, odolnosti organismu, zdraví, produkce a reprodukce. Metabolické poruchy se u dojnice nejčastěji vyskytují v období po porodu a v prvních třech týdnech laktace a ve stádě způsobují značné ekonomické ztráty [17, 34].

Metabolické poruchy se dělí na acidózy, alkalózy a ketózy. Jejich důsledkem jsou změny ve složení mléka. Dochází ke zhoršení prokysávání čistými kulturami při výrobě sýrů, tvarohů a zakysaných výrobků [34].

Acidóza je nečastější metabolická porucha. Příčinou je zkrmování velmi kyselých siláží, velkého množství lehce stravitelných sacharidů (obilné šroty, cukerná krmiva, řepa, kukuřice atd.) [36].

Alkalóza je typická vznikem alkalického prostředí bachoru, kdy pH dosahuje hodnot až 9. Onemocnění vzniká v chovech přežvýkavců, kde se zkrmuje nadbytek bílkovinných krmiv s vysokým obsahem N-látek a v nedostatečném množství jsou zkrmována krmiva glycidová (sacharidová – zejména obiloviny v podobě šrotů a směsí) [36].

Ketózy bývají vyvolány krmivy s vysokým obsahem stravitelných bílkovin a nízkým obsahem energetických zdrojů (cukrů). Vyskytují se často na jaře při zkrmování mladých porostů zelené píče, při překrmování bílkovinnými koncentráty a objevují se v důsledku nedostatečného pohybu dojnic [34].

Přehled změn základních složek a vlastností mléka při některých produkčních chorobách je patrný z Tab. 3 [8].

Tab. 3. Vliv některých produkčních onemocnění na složení a vlastnosti mléka [8]

Porucha	Produkce [l]	Tuk [%]	Bílkoviny [%]	Kasein [%]	Laktóza [%]	Titrační kyselost [°SH]	Somatické buňky	Keto látky	Močovina [mmol/l]
Normál	–	3,2–4,2	2,8–3,4	2,4–2,8	4,6–5,2	6,2–7,8	–	–	2,6–5,0
Acidóza	↑↓	↓↓	↓	↓	↓	↑↓	↑	↑	↑
Alkalóza	↓	↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓	↑	↑	↑↑
Ketóza	↓↓	↑	↓	↓	↓↓	↓	↑	↑↑	↑
Mastitida	↓	↑	↑	↓	↓↓	↓	↑↑	–	–
Stres	↓	↓	↓	–	↓	↓	↑	–	–

↑ zvýšení, ↓ snížení, ↓↓ prudké snížení, ↑↑ prudké zvýšení

2.4 Mikroflóra syrového mléka

2.4.1 Primární mikroflóra

Mléko ze zdravé mléčné žlázy by mělo být prosté mikroorganismů, alespoň po odstříknutí prvního množství z konce strukových kanálků, které mohou být zvenku infikované. Mléko ze zdravé mléčné žlázy může být infikováno vnější cestou nebo může být infikováno mikroorganismy již v mléčné žláze, tj. vnitřní cestou (krevním oběhem). Osidlování mléka vnitřní cestou je vzácné, přichází v úvahu jen u nemocných nebo jinak oslabených dojníc. Krev zdravých zvířat je sterilní a obranné imunitní systémy nedovolují pronikání mikroorganismů do vnitřních tkání a orgánů. Infikování mléka vnější cestou je častější. Mikroorganismy se nacházejí na těle dojnice, v krmivu, stelivu, v ovzduší dojírny, odkud snadno vnikají do vývodu ze strukovodu, popřípadě dále do mlékojemu i mlékovodů. Největší

počet mikroorganismů je v mléce na počátku dojení – v prvních střících, postupem dojení počet mikroorganismů klesá [19, 34].

Ve vemeni zdravé dojnice se nacházejí v mléce jen ojediněle grampozitivní bakterie, většinou stafylokoky, mikrokoky a konformní bakterie. V mléce dojnic trpících zánětem mléčné žlázy tvoří primární mikroflóru původci onemocnění [34].

Mikroorganismy způsobující mastitidu jsou důležité z mnoha důvodů: [35]

- změní se složení mléka;
- mohou být patogenní pro člověka;
- v mléce se mohou objevit zbytky antibiotik užívaných k léčbě mastitid.

Mastitidu nejčastěji způsobují pyogenní streptokoky *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* a *Staphylococcus aureus*. Dále se mohou uplatňovat také některé gramnegativní bakterie, hlavně klebsiely, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*. Původce zánětu proniká strukovým kanálkem do mlékojemu a pak mlékovody do alveol. Napadené sekreční buňky ztrácejí schopnost tvořit mléko, uvolňují se ze svého místa a přecházejí do mléka. Rovněž poškozené epiteliální buňky z výstelky mlékojemu a mlékovodů postižených zánětem se odlučují do mléka. Patogenní primární mikroflóra má hygienický význam, protože by mohla vyvolat alimentární onemocnění lidí. Kontaminace syrového mléka těmito patogeny představuje reálné nebezpečí pro člověka, zvláště konzumují-li syrové mléko a mléčné výrobky, které nebyly vyrobeny z pasterizovaného mléka [4, 22, 34].

Alimentární onemocnění člověka způsobovaná původci přenosnými ze zvířat na člověka řadíme k zoonózám. Zoonózou jsou onemocnění nebo infekce, které jsou přirozeně přenosné přímo nebo nepřímo mezi zvířaty a lidmi. Z původců zoonóz lze reálně v syrovém mléce detekovat: *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*. Všechny uvedené patogeny mohou vyvolat mastitidu u dojnic. Přirozená infekce mléčných žláz je pravděpodobně velmi vzácná a nemá praktický význam ani z hlediska onemocnění zvířat, ani jako zdroj onemocnění člověka. Z uvedených bakteriálních druhů jsou velmi závažnými a široce rozšířenými původci mastitid *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Lze proto konstatovat, že infikovaná mléčná žláza se uplatňuje jako zdroj bakteriálních původců alimentárních onemocnění člověka velmi málo. Je však třeba brát na zřetel, že řada původců mastitid dojnic se

vyskytuje v prostředí (environmentální původci). Tyto zdroje kontaminace syrového mléka jsou pro člověka mnohem rizikovější. Dojnice jsou jako zdroj kontaminace závažné i tím, že někteří původci alimentárních onemocnění člověka kolonizují jejich zažívací trakt (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* a *Yersinia enterocolitica*). Fekální kontaminace syrového mléka je tak často příčinou onemocnění konzumenta [22].

Patogenní mikroflóra vylučovaná infikovanými dojnicemi ovlivňuje trvale celkový počet mikroorganismů v syrovém mléce. Uvádí se, že mléčná žláza stížená klinickou mastitidou (pozorujeme zjevné klinické příznaky zánětu tj. zarudnutí, bolestivost, zvýšená teplota vemene, změny v mléce – vločky, mléku nepodobný sekret) vylučuje až 10^8 mikrobů v 1 ml sekretu. U subklinických mastitid (chybí zjevné klinické příznaky zánětu vemene. Jediným signálem postižení mléčné žlázy je zvýšený počet buněčných elementů v mléce) 10^4 až 10^5 mikrobů v 1 ml [22].

Úrovně a složení původní mikroflóry můžou být přímo ovlivněné přirozenými baktericidními systémy v mléce a inhibičními látkami (veterinární léčiva) používanými pro léčbu nemocných zvířat. Čerstvě nadojené mléko má vlivem přítomných lakteninů slabě baktericidní vlastnosti. Tato baktericidní fáze je nejúčinnější při 38 °C a trvá 2 – 3 hodiny. Když se mléko hned neochladí, začnou se rozvíjet přítomné mikroby. To už je fáze sekundární mikroflóry. (Při ochlazení a uskladnění mléka při teplotě pod 10 °C trvá tato fáze 12 i více hodin) [29, 35].

2.4.2 Sekundární mikroflóra

Převážná část mikroorganismů syrového mléka patří k tzv. sekundární mikroflóře. Pochází z mnoha různých zdrojů, jejichž význam závisí na způsobu ustájení a ošetření dojnic, na způsobu dojení a na režimu práce ve chlévě a v dojárně. Mezi hlavní zdroje patří povrch vemene a struků, dojící zařízení, potrubí na mléko, skladovací nádrže, vzduch, voda, pracovníci [34, 35].

Sekundární mikroflóra se obvykle rozděluje podle teplotního rozmezí (Tab. 4), ve kterém je schopna růst, na mezofilní a psychrotrofní. Jestliže zůstane mléko nevychlazeno nebo je-li zchlazeno nedostatečně, začnou se v něm rozmnožovat mezofilní mikroorganismy, které mají teplotní optimum při 30 – 37 °C. K hlavním představitelům mezofilní mikroflóry pat-

ří: zástupci rodů *Lactococcus*, *Enterococcus*, čeledi *Enterobacteriaceae*, rodu *Lactobacillus*, sporulujících a koryneformních bakterií [34].

Při uchovávání mléka v chladovém režimu se mohou pomnožovat psychrotrofní bakterie. Častějším zdrojem kontaminace syrového mléka psychrotrofními bakteriemi než mléčná žláza, je však vnější prostředí (voda, nedostatečně čištěné zařízení, půda). Tato skupina obsahuje převážně gramnegativní bakterie. Jejich představiteli jsou bakterie rodu *Pseudomonas*, *Flavobacterium* aj [22].

Psychrotrofní bakterie produkují termostabilní enzymy způsobující proteolýzu a lipolýzu mléka. Tak dochází k závažným změnám ve složení mléka, které se manifestují organoleptickým změnami mléka a mléčných výrobků. Dochází zejména k porušení chuti a vůně, k tvorbě sedimentu [22].

Tab. 4. Teplotně odolné a psychrotrofní mikroorganismy v syrovém mléce [21]

Teplotně odolné mikroorganismy		Psychrotrofní mikroorganismy	
Grampozitivní	Gramnegativní	Grampozitivní	Gramnegativní
<i>Bacillus</i> (spory)	<i>Alcaligenes</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Achromobacter</i>
<i>Clostridium</i> (spory)		<i>Bacillus</i>	<i>Alcaligenes</i>
<i>Microbacterium</i>		<i>Clostridium</i>	<i>Citrobacter</i>
<i>Micrococcus</i>		<i>Corynebacterium</i>	<i>Enterobacter</i>
		<i>Lactobacillus</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Microbacterium</i>	<i>Flavobacterium</i>
		<i>Micrococcus</i>	<i>Chromobacterium</i>
		<i>Sarcina</i>	<i>Klebsiella</i>
		<i>Staphylococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>
		<i>Streptococcus</i>	<i>Serratia</i>

2.4.3 Patogenní a podmíněně patogenní mikroorganismy

Vlastnosti patogenních a podmíněně patogenních bakterií, které se mohou vyskytovat v syrovém mléce, jsou shrnuty v Tab. 5.

Tab. 5. Patogeny a potenciální patogeny nacházející se v syrovém mléku [21]

Bakterie	Růst při < 6 °C	Přežití pasteurace ^a
<i>Bacillus cereus</i>	Ano ^b	Ano (spory)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Ne	Ne
<i>Clostridium</i> spp.	(Ne) ^c	Ano (spory)
<i>Escherichia coli</i>	?	Ne
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ano	Ne
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	?	Ano (omezeně)
<i>Salmonella</i> sp.	Ne	Ne
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ne	Ne
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ano	Ne

^a Záhřev při 72 °C po dobu 15 s

^b Pouze některé druhy

^c Některé proteolytické druhy mohou růst při nízké teplotě

Bacillus cereus

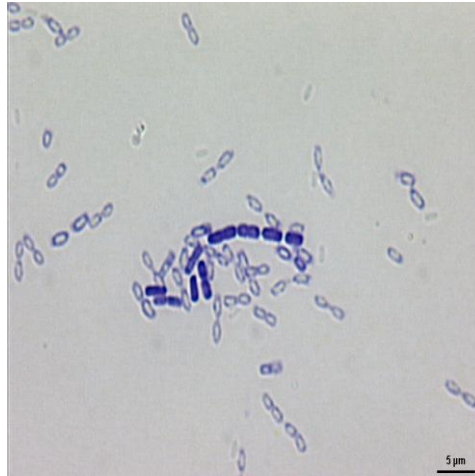
Bacillus cereus (Obr. 2) je velká (1,0 – 1,2 µm x 3,0 – 5,0 µm), pohyblivá grampozitivní fakultativně anaerobní tyčinkovitá bakterie, buňky jsou často uspořádány ve dvojicích nebo řetězcích se zakulacenými nebo čtvercovitými konci, snadno sporulující v přítomnosti kyslíku. Bakterie netvoří pouzdro a roste ve velkých plstnatých koloniích, na krevním agaru obklopených zónou úplné hemolýzy. *Bacillus cereus* je mezofilní organismus, s optimální teplotou růstu 30 – 35 °C, i když některé kmeny jsou psychrotrofní a rostou při teplotách až do 5 °C. Tyto kmeny jsou většinou spojeny s mlékem a mléčnými výrobky. Spory dobře

odolávají teple i chladu, vyschnutí, různým formám elektromagnetického záření a většině dezinfekčních činidel. Bakterie disponuje řadou toxinů a faktorů virulence, produkuje fosfolipázu, hemolyziny a enterotoxiny. *Bacillus cereus* se běžně vyskytuje v okolním prostředí, v půdě, prachu a je též častou součástí fyziologické střevní mikroflóry [2, 14, 24].

Syrové mléko může být kontaminováno bakterií *Bacillus cereus* před, během a po dojení. Bakterie určuje trvanlivost pasterovaného mléka a mléčných výrobků. Z toho důvodu, je obsah spor bezprostředně před pasterací důležitý. Kontaminace mléka spory *Bacillus cereus* byla známa po celá desetiletí. Bylo prokázáno sezónní kolísání spor bakterie *Bacillus cereus*. Nejvyšší počty *Bacillus cereus* byly pozorovány v pozdním létě a na podzim. Ke kontaminaci syrového mléka dochází nejčastěji při dojení ze znečištěných vemen řetězcem postupných kontaminací – kontaminace prostřednictvím půdy, dále přes krmivo, zařizovací trakt dojnice, hnůj, vemeno, dojení a do mléka. Méně běžná příčina přímé kontaminace jsou cereové mastitidy. I spory v prachových částicích v atmosféře v důsledku sklizňových operací v létě mohou kontaminovat mléko, pokud se dojení neprovádí v dojárně, ale v chlévě, kde dochází k manipulaci s krmivem. *Bacillus cereus* se může dostat do mléka i po pasteraci, pokud se v mléce vyskytují spory nebo dojde ke kontaktu mléka s nedostatečně očištěnými povrchy zařízení. Rozlišit tyto dva druhy postpasterační kontaminace je nesnadné. Kmeny z vnějšího prostředí jsou většinou mezofilní a lze je odlišit od psychrotrofních kmenů adaptovaných na mléko a mlékárenské prostředí na základě minimální teploty růstu [13, 27].

Bacillus cereus produkuje při růstu na polysacharidových substrátech toxiny, které mohou být příčinnou otrav. K otravám dochází při pomnožení této bakterie v potravine na koncentraci 10^7 buněk/g potraviny (u dětí stačí již koncentrace 10^5 buněk/g). Otrava se projevuje za 12 až 13 hodin po požití potraviny a k jejím příznakům patří nevolnost, břišní křeče, průjemy nebo zvracení [28].

Prevenčí je zcela nezbytné dodržování dobrého sanitačního režimu v prvovýrobě i ve zpracovatelských závodech [13].



Obr. 2. *Bacillus cereus* obarvený podle Grama

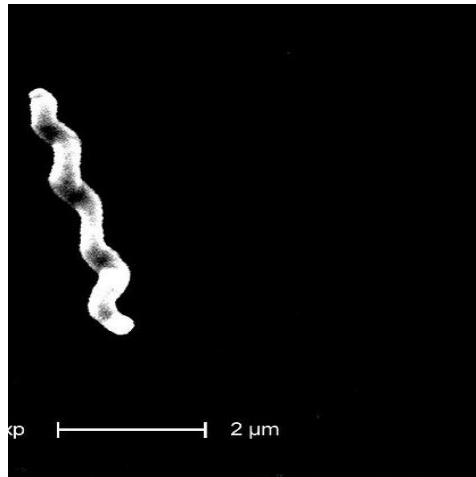
Campylobacter jejuni

Bakterie byla poprvé izolována v roce 1957 z krve lidí, kteří trpěli průjmý [21].

Campylobacter jejuni (Obr. 3) je gramnegativní pohyblivá tyčinka, produkující oxidázu. Buňky mají typický vzhled, jsou zahnuté, stočené do tvaru S nebo zprohýbané. Charakteristický je rotační pohyb na způsob vývrtky. Optimální teplota růstu je 30 – 45 °C. *Campylobacter jejuni* je citlivý na různé vlivy okolního prostředí, včetně kyslíku, světla, tepla, vysychání, vysoké koncentrace soli a nízké hodnoty pH (3,0 – 4,5). Kampylobaktery se v přírodě vyskytují hlavně ve střevech různých zvířat a ptáků [14, 16, 21, 25, 24].

Vážnými riziky pro vznik kampylobakteriózy je konzumace nedovařené drůbeže, nepasterovaného mléka a také kontaminované pitné vody. Po požití infekční dávky kolem 10^4 bakterií se kampylobaktery množí v tenkém střevě, adorují k buňkám epitelu, pronikají do nich a vyvolávají zánět. Typickými projevy onemocnění jsou průjem, často s příměsí krve, horečka, bolesti břicha a hlavy, které obvykle trvají několik dní. Jsou však také možné jak lehké gastrointestinální obtíže trvající jen několik hodin, tak i těžké kolitidy připomínající ulcerativní kolitidu nebo Crohnovu nemoc. Prevencí těchto onemocnění je důkladná tepelná úprava potravin, zdrojem infekce často bývají podniky rychlého občerstvení nebo potraviny nedostatečně ohřáté [14, 16].

Ke kontaminaci syrového mléka dochází při dojení fekálním znečištěním z prostředí nebo z kampylobakteriových zánětů vemene. Prevencí výskytu bakterie je dobrá úroveň sanitace a především nezávadná provozní voda [13].



Obr. 3. Skenovací elektronová mikrofotografie *Campylobacter jejuni*

Clostridium perfringens

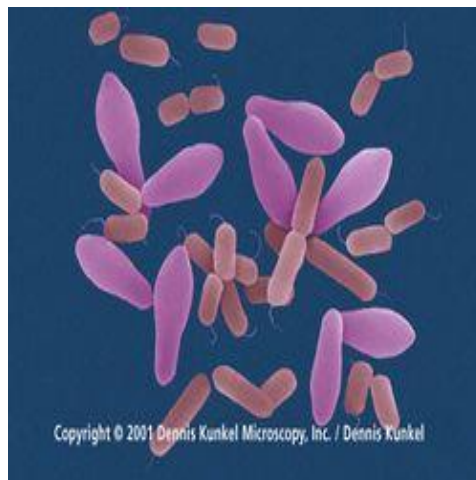
Clostridium perfringens (Obr. 4) je grampozitivní relativně silná (1 μ) a dlouhá (5 – 12 μ) tyčinka s tupými konci a subterminálními sporami, které se za laboratorních podmínek tvoří zřídka a za velmi dlouhou dobu. Bakterie je aerotolerantní. Optimální teplota růstu je 43 – 45 °C, může růst i při teplotě 50 °C, růst se výrazně zpomalí pod 15 °C a přestává při teplotě 6 °C. Produkuje řadu toxinů, hlavním toxinem je lecitináza. U člověka je příčinou otravy alimentárních intoxikací enterotoxin. Leukotoxin, kolagenóza, hyaluronidáza a další toxické enzymy působí také při infekci domácích zvířat. Toxiny jsou produkovány, v závislosti na fázi růstu, během saprofytického růstu bakterie v přírodním prostředí, případně potraviny. Ve většině potravin nepředstavuje přítomnost samotných spor klostridií hygienické riziko, pokud spory nemají možnost vyklíčit a zahájit vegetativní růst, spojený s tvorbou a vylučováním toxinů do prostředí [2, 13, 25].

Bakterie se vyskytuje v půdě, ve vodě, nachází se ve střevním traktu člověka a zvířat, vyskytuje se tedy i ve stolici a hnoji. *Clostridium perfringens* nevykazuje přilnavost a invazivní vlastnosti směrem ke zdravé střevní sliznici [10, 13, 23].

Bakterie *Clostridium perfringens* je zodpovědná za široký rozsah nemocí u lidí i zvířat. Příznaky otravy se objevují přibližně mezi 8 až 22 hodinami po požití kontaminované potraviny obsahující 10^6 až 10^7 bakterií v g. Otrava se projevuje silnými bolestmi břicha, nadýmáním, průjmy, nevolností, zvracením, horečky jsou vzácné, obvykle odezní bez následků. Někdy se infekce může rozvinout v nekrotizující enteritidu, vedoucí až k perforaci střeva. Nemoci způsobené tímto organismem jsou v mnoha případech život ohrožující nebo smrtelné [10, 23, 25].

Mléko je kontaminováno bakterií *Clostridium perfringens* stolicí, hnojem. Pomalu prokysávající siláže jsou vydatným zdrojem kontaminace mléka spory. Silážní rostliny se kontaminují z půdy při sklizni a silážování, klostridie se pomnoží v pomalu prokysávaných silážích, dojde ke sporulaci, spory se dostanou do zažívacího traktu dojnice, kontaminace vemene hnojem a přenos spor do mléka při dojení [13].

Kontaminaci lze předejít správným tepelným režimem při manipulaci s výrobky a pokrmy, v prvovýrobě zlepšením mikrobiologické jakosti siláží, zlepšení sanitačního režimu při dojení [13].



Obr. 4. *Clostridium perfringens*

Escherichia coli

Před sto lety Theodor von Escherich poprvé izoloval gramnegativní bakterie převládající ve stolici zdravých novorozenců, tyto bakterie nazval *Bacterium coli*. V roce 1919 bylo označení těchto bakteriálních druhů přejmenováno na *Escherichia coli*. Od svého objevu byla *Escherichia coli* (Obr. 5) identifikována jako nejrozšířenější druh fakultativně anaerobní bakterie.

robní flóry lidského střevního traktu. Nicméně, *Escherichia coli* také představuje jeden z nejvýznamnějších bakteriálních patogenů v lékařské bakteriologii, je identifikována jako původce střevních nebo extraintestinálních infekcí (infekce močových cest, meningitida, sepse) [9].

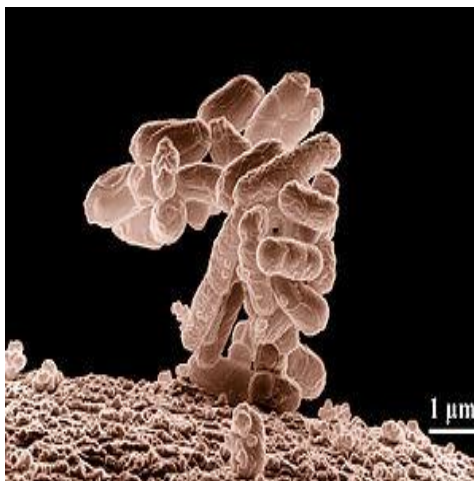
Escherichia coli jsou gramnegativní fakultativně anaerobní nesporulující tyčinky, patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Tyčinky mají zaoblené konce, vyskytují se jednotlivě, ve dvojicích nebo krátkých řetězcích. Optimální teplota růstu je 30 – 37 °C, roste v rozmezí teplot 10 – 45 °C, avšak v mléce se vyskytují psychrotrofní kmeny, které rostou i při nižších teplotách. Nepřežívá záhřev 16 – 17 s při teplotách vyšších než 64,5 °C. Optimální pH 6,8 – 7,2 [1, 13].

Ačkoli většina kmenů *Escherichia coli* jsou neškodné komenzální organizmy, existuje mnoho patogenních kmenů, které způsobují řadu onemocnění u člověka a zvířat. Existuje šest uznaných patogenních kmenů *Escherichia coli*, každá skupina má odlišné znaky virulence a mechanismy patogenity, z nichž mnohé mají specifické hostitele [1].

Nejběžnější je enteropatogenní *Escherichia coli* (EPEC), způsobující průjemy u dětí, často s krví, bez horečky. Enteroinvazivní *Escherichia coli* (EIEC) přilne na sliznici pravděpodobně bílkovinou vnější membrány, proniká do sliznice a zde se pomnožuje. Způsobuje onemocnění s klasickými příznaky invazivní bacilární úplavice, jako bakterie rodu *Shigella*. Počátek nemoci se vyskytne asi 24 hodin od požití potravy a klinické projevy zahrnují horečku, těžké bolesti břicha a vodnatý průjem s krví. Enterotoxická *Escherichia coli* (ETEC) způsobuje onemocnění u cestovatelů (konzumace kontaminované vody nebo potravy), které se obvykle vyskytuje mezi 12 až 36 hodinami od požití, je doprovázena průjmy, zvracením a těžkými bolestmi břicha. Příznaky obvykle trvají dva až tři dny. Enterotoxická *Escherichia coli* produkuje dva toxiny, termolabilní a termostabilní. Enterohemoragická *Escherichia coli* (EHEC), nejčastěji sérotyp O157:H7, je nejnebezpečnější. Vyvolává hemoragickou kolitidu, z níž se může vyvinout smrtelný hemoragicko-uremický syndrom. Enteroadherentní *Escherichia coli* (EAEC) adoruje k sliznici, infekce je celkem mírná. Posledním patogenním kmenem je nekrotoxigenní *Escherichia coli* (NTEC) [1, 9, 25].

Escherichia coli je součástí normální střevní mikroflóry člověka a teplokrevných zvířat. Syrové mléko je kontaminováno patogeny z výkalů, které kontaminují vemeno a struky a odtud se dostanou do mléka během dojení. Mikroorganismy se mohou dále šířit, pokud

není mléko správně vychlazeno nebo se šíří přes dojící zařízení, které není správně čištěno a dezinfikováno. Čištěním a dezinfekcí vemene a struků, spolu s čištěním a sanitací dojícího zařízení a následným skladováním mléka se účinně snižuje zavedení patogenů do mléka [2, 13].



Obr. 5. Kolonie Escherichia coli při 10 000násobném zvětšení elektronovým mikroskopem

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes (Obr. 6) byla identifikována poprvé u zvířat, kde byla zodpovědná za onemocnění, v roce 1925 [1].

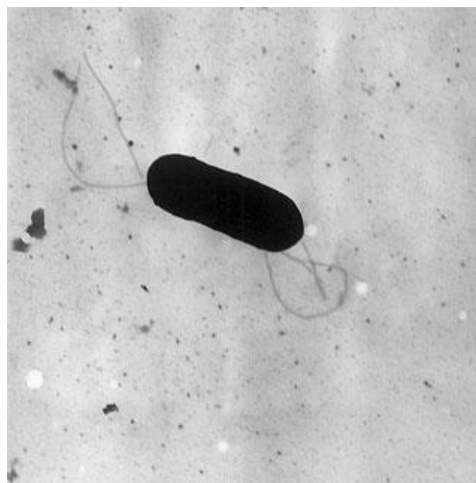
Listeria monocytogenes je grampozitivní intracelulární bakterie vyskytující se v rozmanitém prostředí. Jedná se o krátké tyčinky se zakulacenými konci, vyskytují se jednotlivě nebo v krátkých řetězcích, aerobní až fakultativně anaerobní, pohyblivé s bičíky, mohou tvořit shluky nebo řetězky. Netvoří spory ani pouzdra [6, 14, 24].

Vzhledem ke své schopnosti vydržet široký rozsah pH, osmolarity a teplotních podmínek, se *Listeria monocytogenes* ukázala jako významný patogen přenášený potravou. Pro listerie je charakteristické široké teplotní rozmezí množení – od 4 – 45 °C. Listerie proto přežívají v nedbale ohřátých potravinách a pomnožují se v kontaminovaných potravinách i v chladničce [6, 25].

Bakterie je považována za významný alimentární patogen, kdy onemocnění (listeriíza) způsobené touto bakterií je závažné povahy s mimořádně vysokou mírou úmrtnosti, zejmé-

na u skupin obyvatel, jako jsou nenarozené děti, starší lidé a lidé se sníženou imunitou. *Listeria monocytogenes* je oportunistický vnitrobuněčný parazit, který napadá buňky imunitního systému a rozmnožuje se v nich. Hlavní virulenní faktor, listeriolysin je nutný pro vnitrobuněčné přežití. K infekci dochází obvykle zažívacím traktem po konzumaci kontaminovaných potravin. Prevencí listeriózy je kontrola potravin, zejména pasterizace mléka. Hlavně u ošetřovatelů domácích zvířat a veterinářů jsou významné též infekce kontaktem se zvířaty [2, 13, 14].

V prostředí je patogen nejčastěji izolován z půdy a siláží, dále se může vyskytnout, jak v syrových, tak i zpracovaných potravinách, včetně mléčných výrobků, masa, zeleniny a mořských plodů. Nedostatečně prokysané siláže jsou vhodným médiem pro pomnožení listerií a jsou považovány za nejdůležitější zdroj infekce hospodářských zvířat a s tím spojené kontaminace mléka. Méně časté je vylučování listerií do mléka při chronických mastitidách. Listeriovou kontaminaci v prvovýrobě lze efektivně kontrolovat dobrým sanitačním režimem – mytím a dezinfekcí vemen, chlazením mléka hned po nadojení a až po pasteraci na nízkou teplotu a zkrmováním kvalitních siláží [12, 13].



Obr. 6. Elektronová mikrofotografie
Listeria monocytogenes

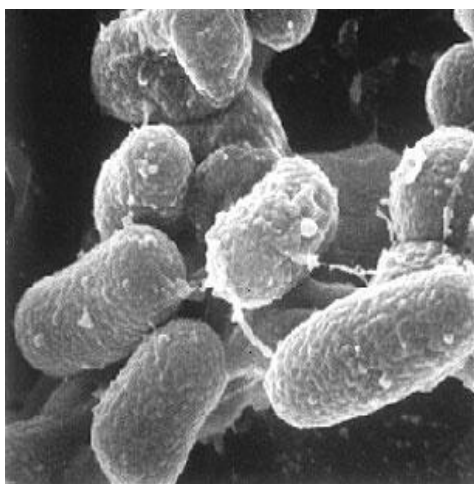
Mycobacterium paratuberculosis

Bakterie *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Obr. 7) byla poprvé izolována v roce 1895 při vyšetřování příčiny chronického průjmu u skotu [2].

Bakterie jsou grampozitivní, striktně aerobní, nepohyblivé tyčinky, náročné na kultivaci. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* roste v rozmezí teplot 25 – 45 °C, optimální teplota je 39 °C. Bakterie jsou charakteristické svým pomalým růstem a odolností vůči kyselinám a alkoholu. Tato odolnost je způsobena silnou buněčnou stěnou obsahující vysoké koncentrace lipidů [1, 2].

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* je původcem paratuberkulózy, nevléčitel-
né chronické granulomatózní enteritidy skotu. Kromě skotu se vztahuje i na řadu dalších
druhů zvířat, jako jsou ovce, kozy, jeleni, losi, antilopy, bizoni, králíci, lasice, lišky
a primáti. Nemoc je charakterizována průjmy, ztrátou hmotnosti a nakonec i smrtí. Telata
mohou být infikována *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* už na počátku svého
života. Bakterie mohou přežít po dlouhé časové období v rámci střevních makrofágů bez
vyvolávající nepřátelské imunitní odpovědi [2, 26, 33].

Možné cesty přenosu *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* na člověka jsou
z mléka, nedostatečně tepelně upraveného hovězího masa, vody a při kontaktu se zvířetem
[1].



Obr. 7. Skenovací elektronová mikro-
fotografie *Mycobacterium avium* sub-
sp. *paratuberculosis*

***Salmonella* sp.**

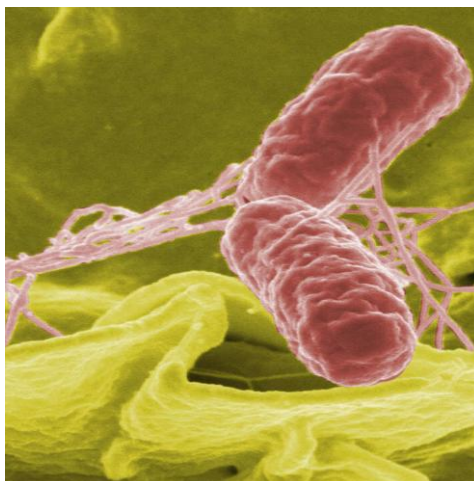
Už před sto lety byly různé kmeny salmonel uznány za příčiny nemocí od mírné až po těž-
kou otravu jídlem (gastroenteritida), dále tyfus, paratyfus, septikémii a řadu souvisejících

následků. První salmonelu izoloval v roce 1884 americký veterinář Theobald Smith, pojmenována byla podle D. E. Salmona, vedoucího ústavu veterinární mikrobiologie [2, 14].

Salmonella sp. (Obr. 8) je gramnegativní, nesporulující, fakultativně anaerobní, má rovné, malé (0,7 – 1,5 x 2,0 – 5,0 μm) tyčinky, které jsou pohyblivé pomocí peritrichálních bičíků. Vyskytují se jednotlivě, ve dvojicích nebo krátkých řetězcích. Jejich výskyt a přežívání v přírodě se u různých sérovarů liší, jako patogeny se vyskytují ve střevech lidí. Často se nachází v půdě a vodě, kde mohou přežít i několik let, ze živočichů i prostředí přecházejí jako kontaminace do potravin. Vyskytuje se u lidí, zvířat i v okolním prostředí. Mají složitou antigenní strukturu, podle níž se rozlišuje velké množství sérovarů významně se lišících patogenitou. Dobře přežívají chlad i zmrazení, většinou jsou však inaktivovány při teplotě nad 65 °C. Z biochemických vlastností je významná produkce H₂S, zkvašují glukózu, mannitol a sorbitol s tvorbou plynu, jsou laktózanegativní. Optimální teplota růstu těchto bakterií je 35 – 37 °C, tepelné maximum a minimum závisí na kmenu. Růst salmonel je možný od 5 °C do 47 °C. Optimální pH je v rozmezí 6,5 – 7,5, minimální pH pro růst závisí na typu kyseliny, která acidifikuje prostředí [2, 13, 14].

Salmonella je zodpovědná za největší počet otrav z potravin na celém světě. V souvislosti s výskytem otrav se vyvinuly rychlejší detekční metody pro zjištění *Salmonella* a tím se i zvýšila prevence kontaminace potravin salmonelami [30].

Mléko se může kontaminovat bakterií rodu *Salmonella* v důsledku kontaktu se stolicí zvířete, přes znečištěné struky nebo vemeno. Taková kontaminace může přecházet do mléka během dojení, pokud není dojící zařízení dostatečně čištěno a dezinfikováno, bakterie se může snadno množit a šířit. Základními prvky v prevenci šíření tohoto mikroorganismu jsou čištění a dezinfekce vemene a struků, čištění a sanitace dojícího zařízení, následné skladování. K přímému vylučování salmonel do mléka může docházet i při (nepříliš častých) salmonelových mastitidách [2, 13].



Obr. 8. *Salmonella* sp.

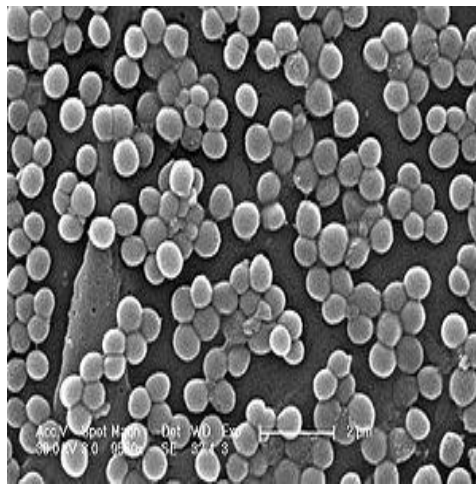
Staphylococcus aureus

Rod *Staphylococcus* zahrnuje fakultativně anaerobní grampozitivní, katalázapozitivní, nepohyblivé, nesporulující, většinou neopouzdržené bakterie. Buňky jsou malé (v průměru 1 μm) a často tvoří charakteristické shluky připomínající hrozny. Stafylokoky jsou poměrně růstově nenáročné, rostou dobře na živném a krevní agaru. V zevním prostředí poměrně dobře přežívají, zvláště za přítomnosti bílkovin odolávají vyschnutí, zahřátí až na 55 °C, a tolerují poměrně vysoké koncentrace solí až do obsahu 10 % NaCl [2, 14].

Ke kontaminaci syrového mléka bakterií *Staphylococcus aureus* dochází při dojení z povrchu vemene, také z lidských rukou nebo kapénkovou infekcí. Nejčastějším zdrojem *Staphylococcus aureus* v syrovém mléce jsou subklinické mastitidy u skotu, zejména pokud byla provedena špatná pasterace. Mezi preventivní opatření proti výskytu stafylokoků v syrovém mléce v prvovýrobě patří především dodržování antimastitidních programů, sanitčního režimu, hygieny při dojení a chlazení nadojeného mléka na teplotu 8 °C, respektive 6 °C, a jeho uchování při této teplotě [4, 13, 18].

Zdrojem bakterie *Staphylococcus aureus* jsou infikované prostory, nejčastěji se vyskytuje na kůži a mukózních membránách teplokrevných zvířat a člověka, např. nosní dutině. Patogenní *Staphylococcus aureus* způsobuje anginu, hnisavé onemocnění kůže, hnisání ran a hnisavé onemocnění poraněných kostí. Toxigenní kmeny *Staphylococcus aureus* produkují stafylokokové enterotoxiny, které jsou příčinou intoxikace. Enterotoxiny jsou termostabilní a jsou rezistentní k proteolytickým enzymům zažívacího traktu. *Staphylococcus*

aureus v potravinách produkuje velké množství enterotoxinů bílkovinné povahy, které mohou způsobit vážné až smrtelné otravy. Některé z těchto toxinů se inaktivují delším varem, a proto hrozí nebezpečí otrav hlavně u tepelně neopracovaných potravin. Do těchto potravin se bakterie může dostat z hnisajících ložisek na ruku lidí nebo kýcháním a kašláním. Příznaky otravy se projevují 1 až 6 hodin po požití potravin a vyznačují se žaludeční nevolností až křečemi, zvracením, průjmy, bolestí hlavy a někdy i pocením a poklesem teploty. K otravě dochází obvykle tehdy, je-li koncentrace buněk *Staphylococcus aureus* v potravine řádu $10^5 - 10^7/g$. Původcem otravy však nejsou živé buňky, ale jimi vytvořené enterotoxiny [4, 18, 28].



Obr. 9. *Staphylococcus aureus*

Yersinia enterocolitica

Rod *Yersinia* patří do čeledi *Enterobacteriaceae* a zahrnuje tři prokázané patogeny – *Yersinia pestis* (původce moru), *Yersinia pseudotuberculosis* a *Yersinia enterocolitica* a několik nepatogenů [1].

Yersinia enterocolitica (Obr. 10) je gramnegativní fakultativně anaerobní pleomorfni tyčinka, která se vyskytuje od malých kokobacilů se zaoblenými konci až po více protáhlé bacily. Tyčinky jsou pohyblivé, dobře rostou na běžných kultivačních půdách podobně jako ostatní enterobakterie, jsou schopny množeni i při teplotě 4 °C v chladničce. Jsou citlivé na teplo a běžné dezinfekční prostředky, během 15 minut hynou zahřátím na 60 °C nebo působením 0,5% fenolu. Bakterie je oxidázanegativní, katalázapozitivní, nitrátreduktázapozitivní. Velikost tyčinek je 0,5 – 0,8 x 1 – 3 μm. Netvoří pouzdra ani spory [1, 3, 14].

Nejběžnější infekce způsobené touto bakterií jsou gastrointestinální nemoci projevující se během 2 – 3 dnů, jsou charakterizovány bolestmi břicha a průjmy, obvykle dochází ke zvýšení teploty a druhotným příznakem může být zvracení. Závažnost symptomů se může značně lišit, některé bolesti mohou být velmi silné připomínající až zánět slepého stěva, pro tento pseudoapendikální syndrom bylo už mnoho pacientů operováno. Dále způsobuje lymfadenitidu mezenterických uzlin. Většina lidí se nakazí požitím kontaminovaných potravin, především vepřového masa, mléka a vody. Patogenní kmeny *Yersinia enterocolitica* pro člověka se často nachází v dutině ústní a zažívacím traktu prasat. Prevencí je tepelná úprava potravin, převařování podezřelé vody, pasterizace mléka, tepelná úprava masa [2, 14, 25, 32].



Obr. 10. Transmisní elektronová mikrofotografie *Yersinia enterocolitica*

3 KONZUMACE SYROVÉHO KRAVSKÉHO MLÉKA

3.1 Pozitiva

Mléko je téměř dokonalá potravinu pro lidi všech věkových kategorií, je zdrojem energie a poskytuje důležité živiny ve vyváženém poměru, jako jsou bílkoviny, esenciální mastné kyseliny, minerální látky a laktóza. Mléko a mléčné výrobky jsou důležité složky vyvážené a plnohodnotné stravy [11].

Mléko a mléčné výrobky představují významný zdroj vitaminů, zejména vitaminů B₂ a B₁₂, v menší míře kyseliny pantothenové, vitaminu A, D, B₁, K, kyseliny listové a biotinu [42].

Konzumace mléka a mléčných výrobků má zásadní roli v prevenci osteoporózy, zubního kazu a obezity. Mléko poskytuje i cenné bioaktivní látky, které u lidí s hypertenzí snižují krevní tlak, a látky, které pravděpodobně u lidí konzumujících mléko, regulují hladinu cholesterolu a mají antitrombotický a antikarcinogenní efekt [42].

Osteoporózou rozumíme progresivní systémové onemocnění skeletu charakterizované úbytkem anorganické i organické složky kosti, poruchou její mikrostruktury a zvýšenou lomivostí [44].

Osteoporóza je nejčastějším metabolickým kostním onemocněním, které postihuje převážně ženy po menopauze a muže a ženy v pokročilých věkových kategoriích. Klíčové prvky k rozvíjení osteoporózy jsou genetické faktory, věk, hormonální změny, nedostatek vápníku a nedostatek fyzické zátěže. Klinický význam osteoporózy spočívá především ve zlomeninách. Typickými osteoporotickými zlomeninami jsou zlomeniny obratlů, distálního předloktí a zlomenina proximální části stehenní kosti [11, 43, 44].

U pacientů s osteoporózou dochází často k bolesti zad, zmenšování tělesné výšky, zmenšená pohyblivost hrudního koše a páteře [43].

Pro optimální růst kostí je potřeba dostatečné množství bílkovin, vitaminů A, D, C, K a minerální látky, jako jsou fosfor, hořčík, měď, mangan, zinek a fluorid a zejména vápník. Dospělý člověk by měl mít denní příjem asi 800 mg vápníku denně, u nemocných je tato dávka vyšší. Mléko obsahuje asi 120 mg Ca/100 g a jogurty průměrně 140 mg Ca/100 g. Vápník obsažený v mléce a mléčných výrobcích je využitelný asi ze 30 %, u ostatních

zdrojů vápníku je jeho vstřebávání snižováno přítomností kyseliny fytové, šťavelové a vlákniny [11].

Mléko a mléčné výrobky jsou dobrým zdrojem nejen vápníku, ale i draslíku. Regulují krevní tlak, a proto jsou považovány za potraviny, které vyvolávají antihypertenzní účinek. Různé studie ukázaly, že při příjmu 1000 mg/denně a více, se výskyt hypertenze sníží o 40 – 50 %. Snížení krevního tlaku nesouvisí pouze s obsahem vápníku a draslíku, ale vztahuje se i na vitaminy, bílkoviny a esenciální mastné kyseliny. Na snižování krevního tlaku se podílejí i bioaktivní peptidy [11].

Vitamin D a vápník jsou považovány za prospěšné proti rakovině tlustého střeva. Studie prokázaly, že zvýšená spotřeba mléčných výrobků, které jsou bohaté na vápník a vitamin D snižují riziko rakoviny tlustého střeva [11].

3.2 Negativa

Mléko je velmi vhodnou půdou pro rozvoj nejrůznějších druhů mikroorganismů, které svou činností přispívají k rychlému kažení potravin a mohou být i zdrojem přenosu onemocnění z dojnice na člověka [5].

Mezi mikroorganismy, které způsobují kažení mléka patří gramnegativní bakterie (např. *Pseudomonas* spp., koliformní bakterie), grampozitivní sporulující bakterie (*Bacillus* spp., *Clostridium* spp.), bakterie produkující kyselinu mléčnou (*Lactococcus* spp.), kvasinky a plísně [31].

Hlavním zdravotním rizikem nepasterovaného mléka je možnost přenosu bakteriálních a virových původců infekčních onemocnění (Tab 6). Zejména se jedná o přenos bakterie *Listeria monocytogenes* – původce listeriózy, která může být především nebezpečná i smrtelná pro osoby s oslabeným imunitním systémem nebo těhotné ženy, u kterých vyvolává potraty nebo postižení plodu. Dalším rizikem je výskyt bakterie *Coxiella burnetti*, která vyvolává Q-horečku. Ta se může podle dosavadních odborných diskuzí podílet na následném rozvoji Crohnovy nemoci. Nepasterovaným mlékem se může rovněž přenášet virus klíšťové encefalidity. V syrovém mléce se mohou vyskytovat i další bakterie vyvolávající především průjemová onemocnění, z nichž na prvních místech figurují kamylobakteriíza, salmonelóza a yersiniíza [40].

Aby se tato zdravotní rizika minimalizovala, syrové mléko se před použitím musí převařit a poté vychladit. Důležité je také, aby provozovatelé mléčných automatů zajistili jejich údržbu, pravidelné čištění a sanitaci [40].

Tepelným ošetřením mléka (pasterace 72 °C, 15 s) se zabezpečí zdravotní nezávadnost, prodlouží se trvanlivost a inaktivuje se část přítomných enzymů [7].

Pasterace způsobí nepatrné změny barvy, chuti a vzhledu mléka, nedochází k významnému snížení nutriční hodnoty, minimální denaturace sérových bílkovin (5 – 15 %), obsah vitaminů a minerálních látek se sníží asi o 10 % [31, 41].

Tab. 6. Nemoci přenášené prostřednictvím mléka a jejich nejvýznamnější zdroje [35]

Původce onemocnění	Onemocnění	Zdroje původců onemocnění		
		Člověk	Dojení	Prostředí
<i>Bacillus anthracis</i>	Anthrax		×	×
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulismus			×
<i>Brucella abortus</i> , <i>Brucella melitensis</i>	Brucelóza		×	
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kampylobakteriíza		×	×
<i>Vibrio cholerae</i>	Cholera	×		×
<i>Escherichia coli</i>	Infekce způsobené patogenní <i>E. coli</i>	×	×	×
<i>Clostridium perfringens</i>	Infekce způsobené <i>Cl. perfringens</i>			×
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Záškrt	×		
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriíza		×	×

<i>togenes</i>				
<i>Salmonella Paratyphi</i>	Paratyfus	×	×	×
<i>Shigella</i> spp.	Shigelóza	×		×
<i>Staphylococcus aureus</i>	Intoxikace		×	
<i>Streptococcus</i> spp.	Infekce	×	×	×
<i>Mycobacterium bovis, Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberkulóza	×	×	
Adenovirus	Adenovirusové infekce	×		
Různé střevní viry	Enterovirusové infekce	×		
Hepatitida typu A	Hepatitida	×? ¹		
Virus klíšťové encefalidity	Klíšťová encefalitida		×	
<i>Coxiella burnetti</i>	Q-horečka		×	
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amébiáza	×		×
<i>Cryptosporidiae</i> spp.	Cryptosporidiosis	×	×	×
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplazmóza	×		×

¹ Není zcela prokázáno

4 FUNKCE MLÉČNÉHO AUTOMATU

Zemědělci nesmějí přes mlékomaty prodávat všechno mléko, které jejich krávy vyprodukují, ale pouze 35 % z celkové produkce [37].



Obr. 11. Mléčný automat

Mléko pro automat se přečerpá do speciálního nerezového tanku o objemu několika set litrů, naloží do auta a doveze k automatu. Tank je vyroben z vysoce kvalitní nerezové, elektrolyticky leštěné oceli a splňuje veškeré hygienické normy. Tank je srdcem automatu, jelikož obsahuje pumpu na mléko, míchadlo s motorem, teplotní sondu a řídicí jednotku. Mléko je tak neustále součástí tanku a s automatem nepřichází vůbec do styku. Použitá technika zaručuje, že nedojde k významné změně teploty mléka během transportu. Mléčný automat by totiž při teplotě mléka vyšší než 8 °C nemohl prodávat, má vestavěnou blokadu (k ochraně spotřebitele). Teplota se trvale sleduje a eviduje [38, 39].



Obr. 12. Tank na mléko



Obr. 13. Vnitřek tanku, je vidět míchadlo, výpustný ventil a teploměr

V automatu je tank s mlékem uložen do chladicího boxu, kde je udržována teplota okolo 4 °C a je tak zajištěna optimální péče o cennou kvalitní surovinu. Mléko může být v automatu prodáváno maximálně 24 hodin, potom se musí zásobní tank vyměnit za nový s čerstvým mlékem. Pokud není mléko prodáno do 24 hodin, mlékomat se automaticky zablokuje a do provozu je uveden až po důkladném vyčištění a naplnění čerstvým produktem. Každé zařízení musí být před zahájením provozu zkontrolováno hygieniky a veterinárními kontrolory. Navíc jsou z něj pravidelně odebírány vzorky, které procházejí laboratorními testy. Automat na mléko musí být napojen na odpad, vodu a elektřinu [37, 38].

Tank je přímo hadičkou spojen s výdejním okénkem a po zaplacení požadované ceny je mléko automaticky načerpáno do skleněné či plastové láhve. Důležitá je čistota láhve a rychlé uložení láhve s mlékem do chlazeného prostoru, aby se udržela teplota okolo 4 °C [38].



*Obr. 14. PET lahev a skleněná
lahev na mléko*

Po každém výdeji mléka je okénko automaticky očištěno horkou párou a trubička, která vydává mléko, se schová do chlazeného prostoru. Automat hlídá teplotu a její nadlimitní změnu hlásí na telefon obsluhy nebo samočinně zablokuje výdej mléka [38].

Nejenom dodržení teplotního řetězce, ale i důsledná a předpisová sanitace tanků a celého automatu je podmínkou pro provozování automatu [38].

Sanitace tanků probíhá po každém použití podle schváleného postupu. Může se provést ručním postupem anebo automaticky po napojení na systémy pro sanitaci dojícího zařízení v dojárně [38].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Průzkum úpravy syrového mléka spotřebitelem

Průzkum trhu byl vypracován v podobě ankety, která byla podána 40 lidem nakupujícím syrové mléko v mléčném automatu v Přerově. Vlastníkem a provozovatelem zmíněného automatu je AGRODRUŽSTVO ROŠTĚNÍ.

Cílem ankety bylo zjistit, co vede lidi k nákupu syrového mléka, zda dodržují návod na úpravu syrového mléka, jak dlouho trvá než syrové mléko spotřebují a zda ho používají k výrobě mléčných výrobků.

Otázky položené lidem byly následující:

1. Věk

- a) 20 let a méně
- b) do 35 let
- c) do 45 let
- d) do 55 let
- e) nad 56 let

2. Proč kupujete mléko z automatu?

- a) myslím si, že je zdravější než pasterované či UHT mléko
- b) je to moderní
- c) chci tímto podpořit naše zemědělce
- d) dříve jsem ho běžně konzumoval/a
- e) toto mléko má podle mého názoru lepší chuť, než pasterované či UHT mléko
- f) syrové mléko z automatu je cenově dostupnější než mléko z obchodu (čerstvé, pasterované, UHT)
- g) jiný důvod, uveďte jaký:

3. Jak často syrové mléko kupujete?

- a) 1x týdně
- b) více jak 1x týdně
- c) 1x za měsíc
- d) 2x–3x měsíčně
- e) jinak, uveďte jak:

4. Pro koho je Vámi koupené syrové mléko z automatu určeno?

- a) mléko piji pouze já
- b) mléko piji v rodině pouze dospělé osoby (18 let a více)
- c) mléko pije celá rodina, včetně dětí; prosím uveďte věk vašich dětí:

5. Četli jste návod na automatu, jak ošetřit syrové mléko před vlastní konzumací?

- a) ano
- b) ne

6. Převařujete syrové mléko koupené v automatu před jeho konzumací?

- a) ano
- b) ne
- c) někdy

6.1 Pokud b) či c). Měli jste vy nebo člen vaší rodiny někdy nějaké zdravotní problémy související s nepřevařeným syrovým mlékem?

- a) ano, uveďte jaké:
- b) ne

7. Jakým způsobem syrové mléko koupené v automatu převarujete?

- a) po částech těsně před konzumací
- b) všechno ihned po příchodu domů
- c) všechno po několika hodinách po příchodu domů

7.1 Pokud a). Jak dlouho Vám trvá, než spotřebujete všechno množství mléka zakoupené v automatu?

- a) 2 dny
- b) 3–4 dny
- c) 5–7 dní
- d) více jak 7 dní

7.2 Pokud b) i c). Jak dlouhá doba uplyne od jeho zakoupení k převaření?

- a) do 1 hod.
- b) 2–3 hod.
- c) 4–5 hod.
- d) 5–7 hod.
- e) více jak 7 hodin, uveďte přibližně kolik hodin:

8. Zchladíte mléko po převaření?

- a) ano
- b) ne

9. Používáte toto mléko pro výrobu dalších mléčných výrobků?

- a) ano, uveďte jakých:
- b) ne

5.2 Mikrobiologický rozbor mléka z automatu

Pro stanovení mikroorganismů v mléce byly použity tyto živné půdy: XLD agar, PCA agar, VRBL agar, BP agar, Oxford Listeria agar. Složení těchto půd je rozepsáno níže.

XLD agar (Agar s xylózou, lyzinem a deoxycholátem)

Selektivní agar pro izolaci mikrobiálních patogenů *Shigella* a *Salmonella*.

Složení výrobku:

Kvasničný autolyzát	3,0 g/l
L-lyzin hydrochlorid	5,0 g/l
Laktóza	7,5 g/l
Sacharóza	7,5 g/l
Xylóza	3,5 g/l
Dezoxycholan sodný	2,5 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Thiosíran sodný	6,8 g/l
Citronan železito-amonný	0,8 g/l
Fenolová červeň	0,08 g/l
Agar	15,0 g/l

PCA agar (Plate-Count-Agar)

Médium pro stanovení počtu mikroorganismů v potravinách a vodě.

Složení výrobku:

Enzymatický kaseinový hydrolyzát	5,0 g/l
Kvasničný extrakt	2,5 g/l
Dextróza	1,0 g/l
Agar	15,0 g/l

VRBL agar (Violet Red Bile Agar with Lactose)

Médium pro selektivní izolaci a stanovení počtů koliformních bakterií v potravinách a vodě.

Složení výrobku:

Masový pepton	7,0 g/l
Kvasničný extrakt	3,0 g/l
Žlučové soli	1,5 g/l
Laktóza	10,0 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Neutrální červeň	0,03 g/l
Krystalová violet	0,002 g/l
Agar	12,0 g/l

BP agar (Baird Parker agar)

Selektivní půda pro izolaci a stanovení počtu koaguláza pozitivních stafylokoků z potravin a ostatních materiálů.

Složení výrobku:

Enzymatický hydrolyzát kaseinu	10,0 g/l
Hovězí extrakt	5,0 g/l
Kvasničný extrakt	1,0 g/l
Glycin	12,0 g/l
Pyrohroznan sodný	10,0 g/l
Chlorid lithný	5,0 g/l
Agar	20,0 g/l

Oxford Listeria agar

Médium pro stanovení bakterie rodu *Listeria*.

Složení výrobku:

Pepton speciál	23,0 g/l
Chlorid lithný	15,0 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Škrob	1,0 g/l
Eskulin	1,0 g/l
Citran železito-amonný	0,5 g/l
Agar	10,0 g/l

Tlumivá peptonová voda

Roztok pro úpravu vzorků, přípravu výchozích suspenzí a ředění vzorků.

Složení výrobku:

Enzymaticky natrávená živočišná tkáň	10,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát	9,0 g
Dihydrogenfosforečnan draselný	1,5 g

Navážené množství dehydratované půdy bylo zalito stanoveným množstvím destilované vody, rozmícháno a sterilováno v autoklávu při 121 °C po dobu 20 min. Živná půda XLD byla nalita na sterilní Petriho misky a ponechána ztuhnout. Půda BP se po sterilaci ochladila vodou na 45 – 50 °C a přidalo se předepsané množství žlutkové emulze a 3,5% roztok teluričitanu draselného. Poté byla půda nalita na Petriho misky, kde se ponechala ztuhnout. Půda Oxford Listeria agar se zchladila na 45 – 50 °C a následně se přidalo vypočítané množství Oxford Listeria Supplement a půda se rozlila na Petriho misky, kde zatuhla. Část média PCA se rozlila na sterilní Petriho misky, nechala ztuhnout a zbytek půdy PCA

a půda VRBL po vyjmutí z autoklávu zatuhly a před stanovením se nechaly rozvařit ve vodní lázni.

Na půdě PCA se stanovoval celkový počet mikroorganismů a sporuláty. U celkového počtu mikroorganismů byly počítány všechny narostlé kolonie na miskách. Bakterie rodu *Bacillus* na půdě PCA tvoří nepigmentující, větší rozlézavé kolonie. Na půdě BP se stanovovala bakterie *Staphylococcus aureus*. Lesklé kolonie *Staphylococcus aureus* při růstu na BP agaru vykazují specifické znaky: černé zbarvení kolonií způsobené redukcí telluričitanu na telluran, dále charakteristické jasné zóny okolo kolonií tvořené proteolýzou žloutku. Na půdě XLD se stanovovala bakterie *Salmonella* sp., která na tomto médiu tvoří kolonie s černým středem. Na VRBL agaru se stanovovala bakterie *Escherichia coli*. *Escherichia coli* tvoří tmavě růžové kolonie s precipitační zónou. Na půdě OLA se stanovovala bakterie *Listeria monocytogenes*, kde tvoří hnědozelené kolonie s černým „halo“.

Doplňkové testy

Stanovení přítomnosti antibiotika v mléce

Antibiotest I zčervená, pokud mléko neobsahuje žádné inhibiční látky, nebo nejsou v množství, které svým účinkem odpovídá 0,01 jednotek penicilinu v 1 ml mléka, což je množství, které ještě nemá nežádoucí inhibiční účinek na bakterie mléčného kvašení. V případě, že je papírek lehce narůžovělý, obsahuje mléko inhibiční látky v množství odpovídajícím svým účinkem koncentraci penicilinu 0,03 jednotek v 1 ml mléka. Vyšší obsah inhibičních látek má za následek, že papírek zůstane bílý.

V případě, že Antibiotest I zůstane bílý nebo lehce růžový, znamená to, že mléko obsahuje inhibiční látky. Jedná-li se o penicilin, pak Antibiotest II zčervená a naopak, jestliže je tento bílý nebo lehce růžový, jedná se o přítomnost jiné inhibiční látky v mléce.

Sterilní antibiotesty se ponoří pomocí sterilní pinzety do mléka, inaktivovaného dvou minutovým záhřevem při 85 °C. Testy se kultivují při 37 °C 12 – 14 hodin.

Stanovení pH mléka

U čerstvě nadojeného mléka je pH 6,4 – 6,8, obvykle se hodnota pohybuje v rozmezí 6,5 – 6,7. Vyšší pH může znamenat zředění mléka vodou, proteolýzu nebo, že mléko pochází od nemocné krávy, při pH až 7,5 se jedná o mastitidní mléko.

Kalibrace pH metru

Kalibraci pH metru provedeme pomocí dvou pufřů. Nejprve ponoříme elektrodu do pufru o pH = 7. Po ustálení podmínek nastavíme hodnotu pH na 7. Totéž provedeme s pufrům, který má pH = 4. Elektrodu při změně roztoku důkladně oplachujeme destilovanou vodou.

Vlastní měření

Před měřením vzorek důkladně promícháme. Elektrodu důkladně opláchneme destilovanou vodou a ponoříme do vzorku. Měřenou hodnotu pH odečteme z displeje po ustálení hodnot.

Barvení podle Grama

Barvení podle Grama je jednou z nejdůležitějších a nejpoužívanějších diagnostických metod při určování bakterií. V podstatě jde o barvení fixovaného preparátu krystalovou violetí a následně roztokem jodu (Lugolovým roztokem). Vzniklý komplex jodu s krystalovou violetí je vázán na peptidoglykan, vyskytující se v bakteriálních buněčných stěnách. Tento komplex lze z buněčných stěn některých rodů bakterií poměrně snadno vymýt etanolem nebo acetonem, takže se buňky působením těchto rozpouštědel odbarví. Takové bakterie označujeme jako gramnegativní (G^-), na rozdíl od těch, jejichž buňky si ponechávají modré zbarvení i po působení rozpouštědel a jež jsou označovány jako grampozitivní (G^+). Gramnegativní bakterie dobarvujeme v závěru Gramova barvení pro lepší viditelnost červenými barvivy, čímž vzniká barevný rozdíl mezi oběma skupinami. Podstatou rozdílného výsledku G^+ a G^- bakterií jsou při tomto barvení rozdíly ve složení a molekulární struktuře buněčné stěny obou skupin bakterií.

Fixovaný preparát je převrstven krystalovou violetí. Po 60 s je nahnutím podložního sklíčka barvivo slito. Převrstvení Lugolovým roztokem po dobu 30 – 60 s. Poté je roztok slit a preparát se odbarví acetonem po dobu 20 – 30 s. Preparát se opláchně vodou. Dobarvo-

vání safraninem po dobu 60 s. Preparát se opláchne vodou, usuší a mikroskopuje imerzním objektivem.

Hodnocení mléka z automatu

Syrové mléko z automatu bylo hodnoceno podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 190/2003 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty (Tab. 7) – až na stanovení bakterie *Yersinia enterocolitica* –, bakterie *Listeria monocytogenes*, která se stanovovala v mléku laboratorně pasterovaném i syrovém, se hodnotila podle Kritéria bezpečnosti potravin z Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny (Tab. 8), syrové mléko, u kterého se provedla pasterace, se hodnotilo částí Vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení (z čeledi *Enterobacteriaceae* se hodnotily pouze kolidformní bakterie) a částí Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 190/2003 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty (Tab. 9), dalšími mikroorganismy, stanovujícími v syrovém i pasterovaném mléce, byly bakterie rodu *Bacillus*, které by se v mléce neměly vyskytovat.

Tab. 7. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 190/2003 Sb. ze dne 18. června 2003, kterou se mění vyhláška č. 287/1999 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty, ve znění pozdějších předpisů

Mezní mikrobiální hodnoty (I) a přípustné mikrobiální hodnoty (II) pro syrové mléko k přímé spotřebě

Mikroorganismus	I	II
Původci kažení a indikátorové mikroorganismy		
Aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy v 1 g (ml)	$5 \cdot 10^7$	10^5
Původci onemocnění z potravin		
<i>Staphylococcus aureus</i> v 1 g (ml)	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^2$

<i>Salmonella</i> sp. v 25 g (ml) popř. 50 g (ml)	0/25	0/25
<i>Escherichia coli</i> O 157 v 25 g (ml)	0	0

Tab. 8. Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny

Kategorie potravin	Mikroorganismus	Limit
Potraviny určené k přímé spotřebě, které podporují růst <i>L. monocytogenes</i> , jiné než pro kojence a pro zvláštní léčebné účely	<i>Listeria monocytogenes</i>	100 KTJ/g

Tab. 9. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení

	Přípustná hodnota
Celkový počet mikroorganismů	10 ⁵
<i>Enterobacteriaceae</i>	10

Vzorce pro výpočet výsledků [45]

Nárůst mikroorganismů na Petriho miskách byl vyjádřen podle následujících vzorců.

Vzorec (1) pro výpočet počtu kolonií ze dvou po sobě následujících ředění.

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d \cdot V} \quad (1)$$

kde

N počet mikroorganismů v 1 ml

$\sum C$ součet vybraných kolonií

n_1, n_2 počet Petriho misek podle ředění

d ředící faktor odpovídající prvnímu pro výpočet použitému ředění

V objem očkovaného inokula [ml]

Vzorec (2) pro výpočet nízkých počtů kolonií.

$$N = \frac{m}{d \cdot V} \quad (2)$$

kde

N počet mikroorganismů v 1 ml

m průměrný počet vybraných kolonií

d ředící faktor odpovídající prvnímu pro výpočet použitému ředění

V objem očkovaného inokula [ml]

Vzorec (3) pro výpočet, kdy nebyly zjištěny žádné kolonie.

$$\text{méně než } \frac{1}{d \cdot V} \quad (3)$$

kde

V objem inokula v mililitrech očkovaného na každou z ploten

d faktor ředění výchozí suspenze

Modely stanovení syrového mléka z automatu

První model

Při převozu se syrové mléko neskladovalo v chladicí tašce, v laboratoři se ve sterilní kádince provedl záhřev syrového mléka (75 °C po dobu 20 s), rozbor se provedl do 2 h od nákupu. Rozbor stanovení je rozepsán v Tab. 10.

Tab. 10. Rozbor stanovení – první model

Stanovované MO	Druh očkování	Množství inokula [ml]	Živná půda	Ředění	Teplota kultivace [°C]	Doba kultivace [hod]
CPM	přeliv	1	PCA	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	30	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	roztěr	0,1	BP	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	37	24
<i>Salmonella</i> sp.	roztěr	0,1	XLD	10^{-1}	37	24
Koliformní bakterie	přeliv	1	VRBL	10^{-1}	37	24

Druhý model

Při převozu se mléko přechovávalo v chladicí tašce, v laboratoři se ve sterilní kádince provedl záhřev syrového mléka (75 °C po dobu 20 s) Rozbor stanovení je rozepsán v Tab. 11.

Tab. 11. Rozbor stanovení – druhý model

Stanovované MO	Druh očkování	Množství inokula [ml]	Živná půda	Ředění	Teplota kultivace [°C]	Doba kultivace [hod]
CPM	přeliv	1	PCA	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	30	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	roztěr	0,1	BP	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	37	24
<i>Salmonella</i> sp.	roztěr	0,1	XLD	10^{-1}	37	24
Koliformní bakterie	přeliv	1	VRBL	10^{-1}	37	24
sporuláty	roztěr	0,1	PCA	10^{-1}	30	24
<i>Listeria monocytogenes</i>	sel. pomnožení	8,3 g	tekutá ŽP poloviční bujon		20	1
	roztěr	0,1	Oxford Listeria Agar	$10^{-1}, 10^{-2}$	37	48

Třetí model

Mléko se tepelně neupravovalo. Rozbor stanovení je rozepsán v Tab. 12.

Tab. 12. Rozbor stanovení – třetí model

Stanovované MO	Druh očkování	Množství inokula [ml]	Živná půda	Ředění	Teplota kultivace [°C]	Doba kultivace [hod]
CPM	přeliv	1	MPA	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}$	30	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	roztěr	0,1	BP	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$	37	24
<i>Salmonella</i> sp.	roztěr	0,1	XLD	$10^{-1}, 10^{-2}$	37	24
<i>Escherichia coli</i>	přeliv	1	VRBL	$10^{-1}, 10^{-2}$	37	24
sporuláty	roztěr	0,1	MPA	10^{-1}	30	24
<i>Listeria monocytogenes</i>	sel. po-množení	8,3 g	tekutá ŽP poloviční bujon		20	1
	roztěr	0,1	Oxford Listeria Agar	$10^{-1}, 10^{-2}$	37	48

Čtvrtý model

Část mléka se v den nákupu zpasteruje (75 °C po dobu 20 s) (0. den), udělá rozbor a zbytek mléka se uchová v lednici. Rozpis stanovení je popsán v Tab. 13. Další den (1. den) se část mléka zpasteruje (75 °C po dobu 20 s), udělá rozbor a zbytek mléka se uchová v lednici. Rozpis stanovení je popsán v Tab. 14. Další den (2. den) se zbytek mléka zpasteruje a udělá rozbor. Rozpis stanovení je popsán v Tab. 15.

Tab. 13. Rozbor stanovení – čtvrtý model, 0. den

Stanovované MO	Druh očkování	Množství inokula [ml]	Živná půda	Ředění	Teplota kultivace [°C]	Doba kultivace [hod]
CPM	přeliv	1	PCA	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	30	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	roztěr	0,1	BP	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	37	24
<i>Salmonella</i> sp.	roztěr	0,1	XLD	10^{-1}	37	24
Koliformní bakterie	přeliv	1	VRBL	10^{-1}	37	24

Tab. 14. Rozbor stanovení – čtvrtý model, 1. den

Stanovované MO	Druh očkování	Množství inokula [ml]	Živná půda	Ředění	Teplota kultivace [°C]	Doba kultivace [hod]
CPM	přeliv	1	PCA	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	30	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	roztěr	0,1	BP	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	37	24
<i>Salmonella</i> sp.	roztěr	0,1	XLD	10^{-1}	37	24
Koliformní bakterie	přeliv	1	VRBL	10^{-1}	37	24

Tab. 15. Rozbor stanovení – čtvrtý model, 2. den

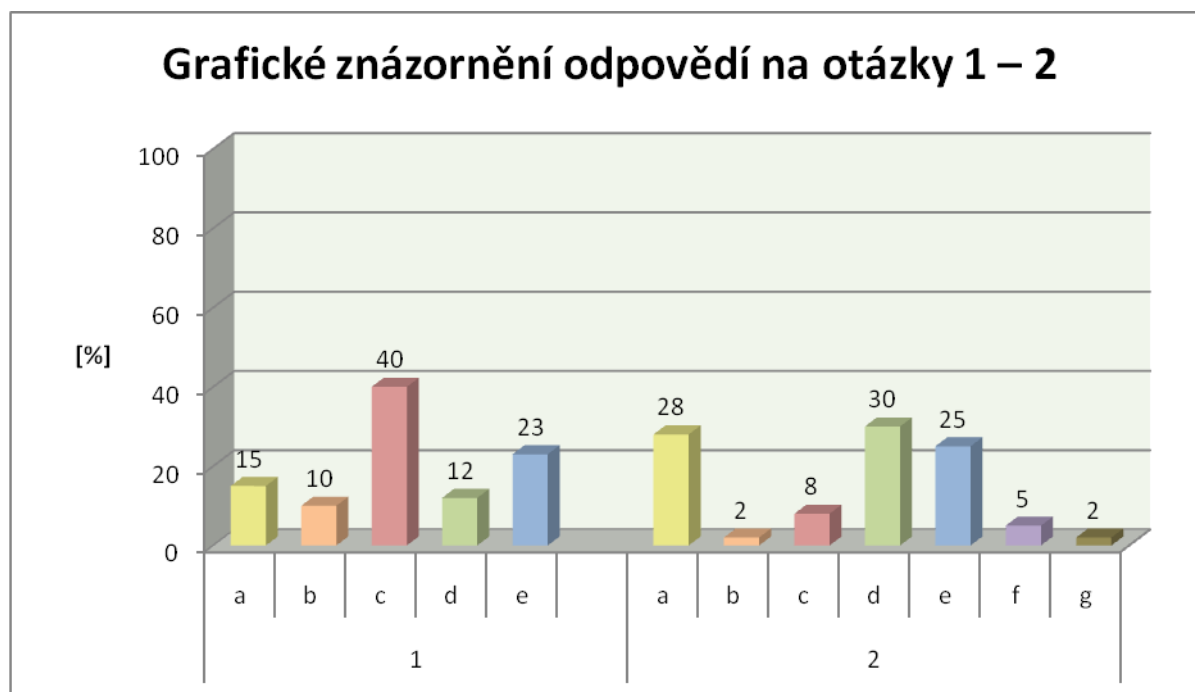
Stanovované MO	Druh očkování	Množství inokula [ml]	Živná půda	Ředění	Teplota kultivace [°C]	Doba kultivace [hod]
CPM	přeliv	1	PCA	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	30	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	roztěr	0,1	BP	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	37	24
<i>Salmonella</i> sp.	roztěr	0,1	XLD	10^{-1}	37	24

Koliformní bakterie	přeliv	1	VRBL	10^{-1}	37	24
---------------------	--------	---	------	-----------	----	----

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Průzkum úpravy syrového mléka spotřebitelem

Vzhledem k otázkám číslo 1 a 2 bylo zjištěno, že syrové mléko nejčastěji kupuje skupina obyvatel do 45 let, následně pak lidé nad 56 let., viz Graf 1. Výraznými konzumenty jsou i lidé ve věkové kategorii 20 let a méně. Dále je patrné, že většina dotázaných syrové mléko dříve běžně konzumovala nebo že podle nich má lepší chuť než pasterované či UHT mléko. Další významnou skupinu tvoří lidé, kteří si myslí, že toto mléko je zdravější, než pasterované či UHT mléko.



Graf 1. Znázornění odpovědí na otázky 1 – 2

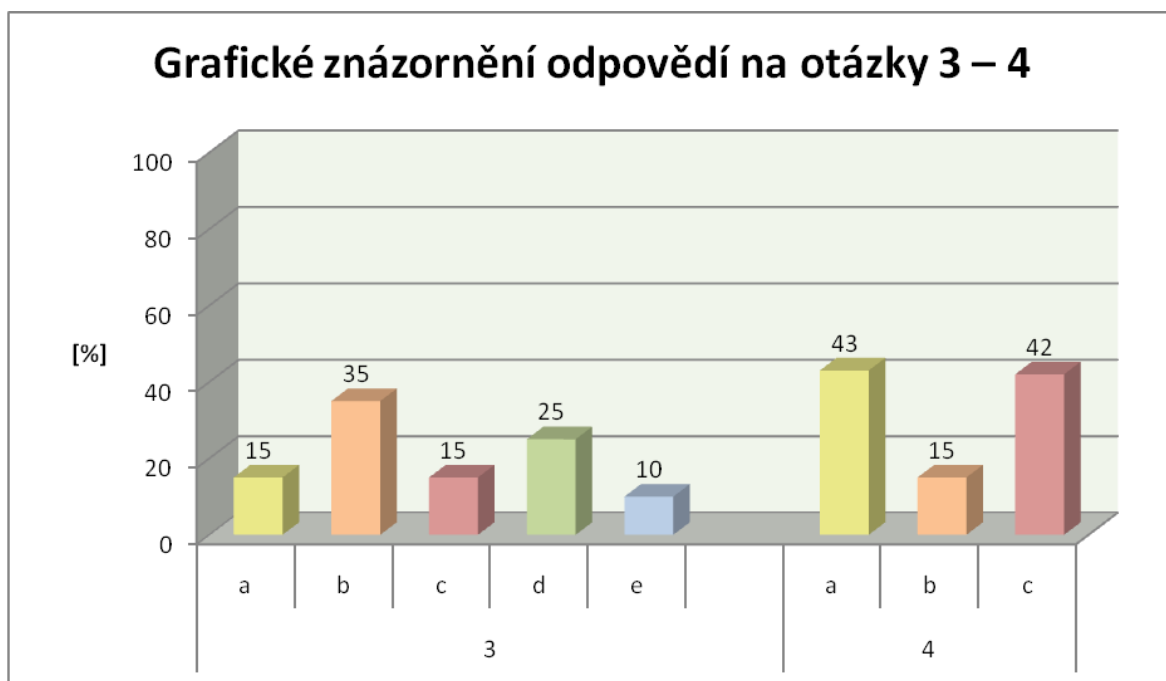
Otázka č. 1: Věk

- a) 20 let a méně
- b) do 35 let
- c) do 45 let
- d) do 55 let
- e) nad 56 let

Otázka č. 2: Proč kupujete mléko z automatu?

- a) myslím si, že je zdravější než pasterované či UHT mléko
- b) je to moderní
- c) chci tímto podpořit naše zemědělce
- d) dříve jsem ho běžně konzumoval/a
- e) toto mléko má podle mého názoru lepší chuť, než pasterované či UHT mléko
- f) syrové mléko z automatu je cenově dostupnější než mléko z obchodu (čerstvé, pasterované, UHT)
- g) jiný důvod

Největší skupinu tvoří lidé (35 %), kteří kupují syrové mléko vícekrát týdně (Graf 2). Početnou skupinou jsou také lidé (25 %), kteří syrové mléko kupují 2x – 3x měsíčně, minimálně však jedenkrát za měsíc. Dále byla odhalena skupina lidí (10 %), kteří si syrové mléko kupují jen když na něj mají chuť. Co se týče konzumace syrového mléka v rodinách, 43 % dotázaných si syrové mléko kupuje pouze pro sebe. Ze 42 % konzumuje toto mléko celá rodina, včetně dětí (průměrný věk 13 let). V 15 % syrové mléko konzumují pouze dospělé osoby v rodině.



Graf 2. Znázornění odpovědí na otázky 3 – 4

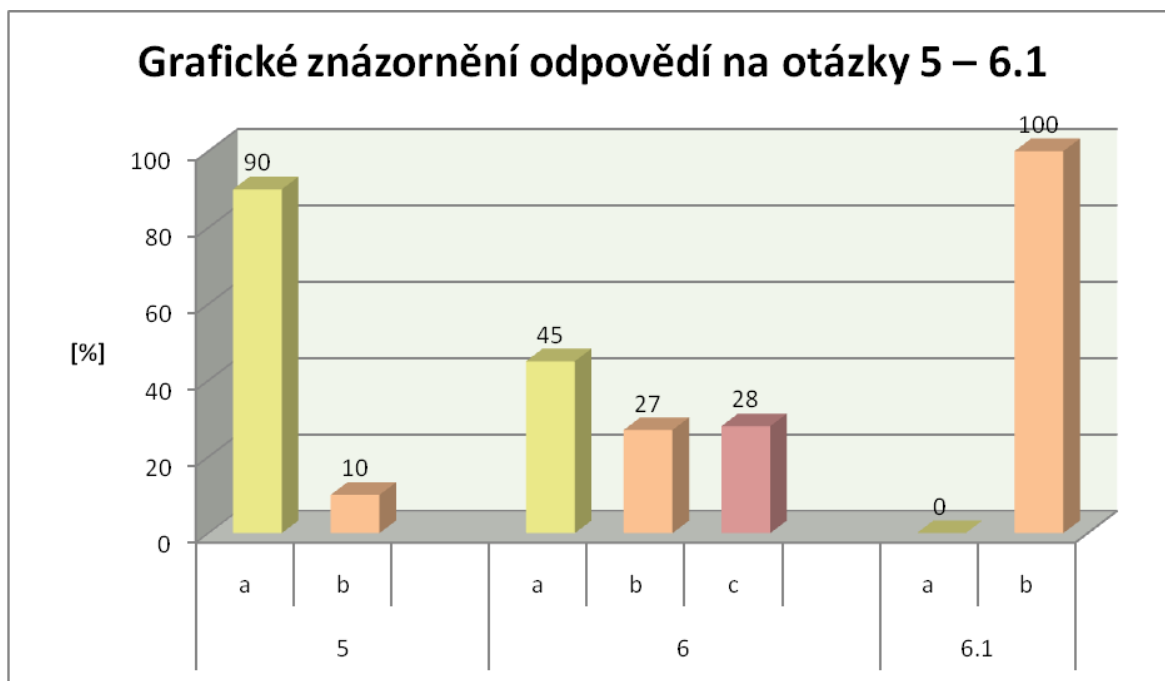
Otázka č. 3: Jak často syrové mléko kupujete?

- a) 1x týdně
- b) více jak 1x týdně
- c) 1x za měsíc
- d) 2x – 3x měsíčně
- e) jinak

Otázka č. 4: Pro koho je Vámi koupené syrové mléko z automatu určeno?

- a) mléko piji pouze já
- b) mléko piji v rodině pouze dospělé osoby (18 let a více)
- c) mléko pije celá rodina, včetně dětí

Většina spotřebitelů četla návod na automatu, jak toto mléko ošetřit před konzumací (Graf 3). Necelá polovina lidí převařuje mléko před jeho konzumací. Zajímavé je, že skupiny lidí, které mléko převařují (27 %) pouze někdy nebo nepřevařují vůbec (28 %), jsou vcelku vyrovnané. 100 % dotázaných odpovědělo, že neměli žádný zdravotní problém z nepřevařeného syrového mléka. Je však možné, že si případné zdravotní problémy nespojili s nepřevařeným syrovým mlékem.



Graf 3. Znázornění odpovědí na otázky 5 – 6.1

Otázka č. 5: Četli jste návod na automatu, jak ošetřit syrové mléko před vlastní konzumací?

- a) ano
- b) ne

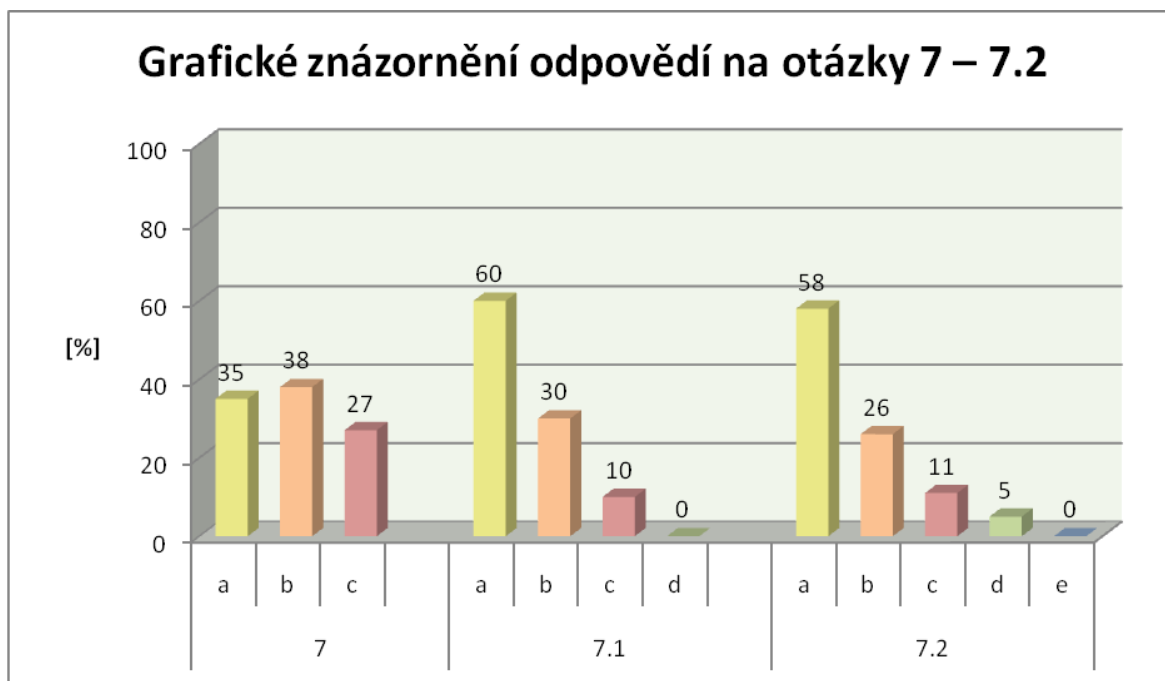
Otázka č. 6: Převařujete syrové mléko koupené v automatu před jeho konzumací?

- a) ano
- b) ne
- c) někdy

Otázka č. 6.1: Pokud b) či c). Měli jste vy nebo člen vaší rodiny někdy nějaké zdravotní problémy související s nepřevařeným syrovým mlékem?

- a) ano
- b) ne

Z odpovědí na otázku č. 7 (Graf 4) je patrné rozdělení dotázaných na tři skoro stejné skupiny, z nichž převažuje 38% skupina, kdy lidé převaří mléko ihned po příchodu domů. Dále následuje skupina lidí (35 %), které mléko převařuje těsně před konzumací, a z toho 60 % dotázaných toto mléko zkonsumuje do dvou dnů a 30 % dotázaných do 3 – 4 dnů. 27 % lidí převařují mléko až po několika hodinách po příchodu domů, z toho 58 % lidí syrové mléko převaří do 1 hodiny od zakoupení.



Graf 4. Znázornění odpovědí na otázky 7 – 7.2

Otázka č. 7: Jakým způsobem syrové mléko koupené v automatu převařujete?

- a) po částech těsně před konzumací
- b) všechno ihned po příchodu domů
- c) všechno po několika hodinách po příchodu domů

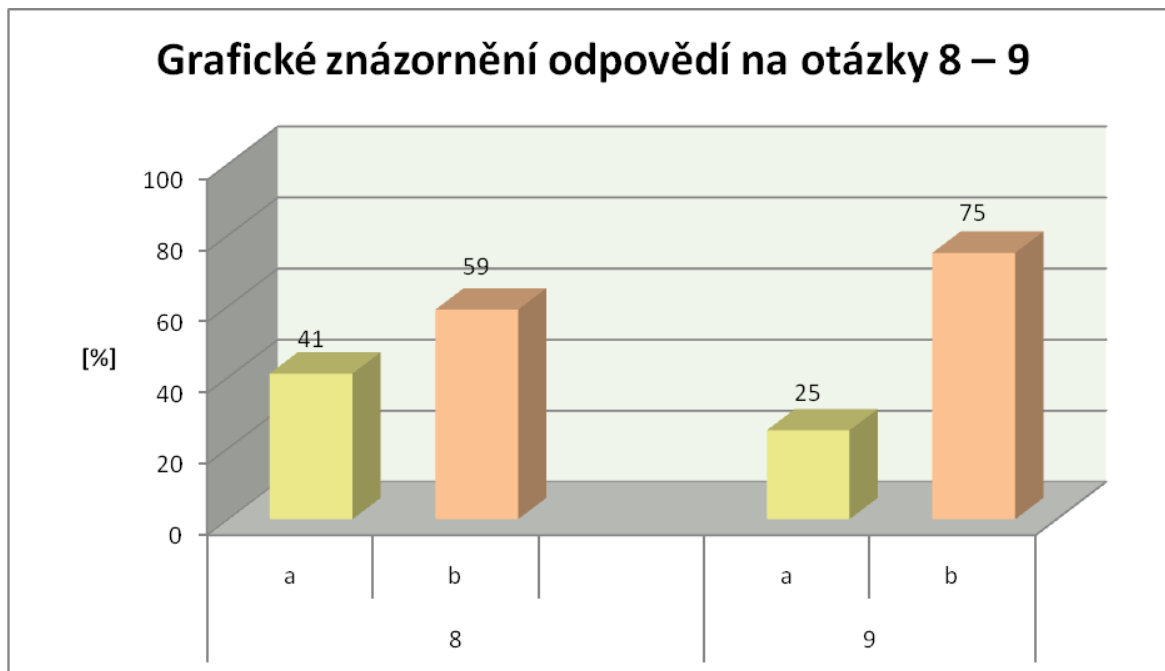
Otázka č. 7.1: Pokud a). Jak dlouho Vám trvá, než spotřebujete všechno množství mléka zakoupené v automatu?

- a) 2 dny
- b) 3 – 4 dny
- c) 5 – 7 dní
- d) více jak 7 dní

Otázka č. 7.2: Pokud b) i c). Jak dlouhá doba uplyne od jeho zakoupení k převaření?

- a) do 1 hod.
- b) 2 – 3 hod.
- c) 4 – 5 hod.
- d) 5 – 7 hod.
- e) více jak 7 hodin

Převažuje skupina lidí (59 %), které mléko po převaření prudce nezchladí, nechávají ho samovolně vychladnout. 75 % lidí mléko kupuje pouze pro přímou konzumaci a 25 % dotázaných z tohoto mléka vyrábí domácí tvaroh (Graf 5).



Graf 5. Znázornění odpovědí na otázky 8 – 9

Otázka č. 8: Zchladíte mléko po převaření?

- a) ano
- b) ne

Otázka č. 9: Používáte toto mléko pro výrobu dalších mléčných výrobků?

- a) ano
- b) ne

6.2 Mikrobiologický rozbor mléka z automatu

6.2.1 První rozbor mléka z automatu

První rozbor syrového mléka z automatu byl proveden v listopadu 2010. Syrové mléko bylo odebráno do sterilních lahví a za stanovených podmínek pro jednotlivé modely přepraveno a zpracováno. Výsledky jednotlivých stanovení jsou zapsány v Tab. 16 – 21.

Tab. 16. První model

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	15	7	0	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	0	0	0	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{11}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,1 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 17. Druhý model

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	51	59	3	4	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	0	0	0	0	0	0
Živná půda OLA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}		
počet kolonií	0	0	0	0		
Živná půda PCA – sporuláty						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Živná půda VRBL		
ředění	10^{-1}	10^{-1}
počet kolonií	0	0

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{55}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{5,5 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda OLA} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda PCA – sporuláty} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 18. Třetí model

Živná půda PCA												
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-6}
počet kolonií	308	340	251	237	123	115	56	39	17	15	2	6
Živná půda BP												
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}				
počet kolonií	14	11	4	3	2	2	0	3				
Živná půda OLA												
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}								
počet kolonií	0	0	0	0								
Živná půda PCA – sporuláty												
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}								
počet kolonií	0	0	0	0								
Živná půda XLD												
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}								
počet kolonií	0	0	0	0								
Živná půda VRBL												
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}								
počet kolonií	20	13	2	0								

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{244}{10^{-2} \cdot 1} = \underline{\underline{2,4 \cdot 10^4 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{12,5}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,3 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda OLA } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda PCA – sporuláty } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{16,5}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,7 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 19. Čtvrtý model – 0. den

Živná půda PCA						
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³
počet kolonií	135	129	28	19	3	5
Živná půda BP						
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³
počet kolonií	3	0	0	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{\sum C}{\underbrace{(n_1 + 0,1 \cdot n_2)}_{= 10^{-1} \cdot 2}} \cdot d \cdot V = \frac{135 + 129 + 28 + 19}{10^{-1} \cdot 2} = \underline{\underline{1,4 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{3}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{3,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 20. Čtvrtý model – 1. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	4	5	1	2	1	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	0	0	0	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{4,5}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{4,5 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 21. Čtvrtý model – 2. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	4	3	1	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	2	1	0	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				

počet kolonií	0	0
---------------	---	---

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{3,5}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{3,5 \cdot 10 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{1,5}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,5 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ / ml}}}$$

Hodnocení jednotlivých modelů

Všechny hodnocené ukazatele pro 1. model (Tab. 16) vyhovují normám.

Ve druhém modelu (Tab. 17) všechny stanovované ukazatele vyhovují normám, podle nichž se stanovovaly.

Ve třetím modelu (Tab. 18) hodnota pro bakterii *Staphylococcus aureus* překročila přípustnou mikrobiální hodnotu, přesto vyhovuje normě pro syrové mléko.

Norma pro bakterii *Escherichia coli* O157 byla překročena, vzhledem k tomu, že nebylo přistoupeno k dodatečným testům, nelze zcela potvrdit nárůst tohoto kmene.

Ostatní hodnoty překročeny nebyly.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 19) 0. den nebyly překročeny ukazatele stanovované dle vyhlášek.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 20) 1. den nebyly překročeny ukazatele stanovované dle vyhlášek. Mléko bylo skladováno syrové, i když po pasteraci vyhovovalo požadovaným mikrobiologickým limitům, mohlo dojít k senzorickým, fyzikálně-chemickým změnám, kdy už není mléko ke konzumaci vhodné.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 21) 2. den nebyly překročeny ukazatele stanovované dle vyhlášek. Mléko bylo skladováno syrové, i když po pasteraci vyhovovalo požadovaným mikro-

biologickým limitům, mohlo dojít k senzorickým, fyzikálně-chemickým změnám, kdy už není mléko ke konzumaci vhodné.

6.2.2 Druhý rozbor mléka z automatu

Druhý rozbor syrového mléka z automatu byl proveden v týdnu od 7. do 11. 2. 2011 a v týdnu od 14. do 18. 2. 2011. Tyto hodnoty byly zprůměrovány. Syrové mléko bylo odebráno do sterilních lahví a za stanovených podmínek pro jednotlivé modely přepraveno a zpracováno. Výsledky jednotlivých stanovení jsou zapsány v Tab. 22 – 27.

Tab. 22. První model

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	1,5	1	0	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	2,5	1,5	1	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{1,25}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,3 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{2}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{2,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \text{méně než } \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \text{méně než } \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 23. Druhý model

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	2,5	1,5	0	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	2,5	2,5	1	0,5	0,5	0
Živná půda OLA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}		
počet kolonií	0	0	0	0		
Živná půda PCA – sporuláty						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{2}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{2,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{2,5}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{2,5 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda OLA } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda PCA – sporuláty } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 24. Třetí model

Živná půda PCA												
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶
počet kolonií	N	N	116, 5	101, 5	51,5	55,5	13,5	16,5	0	0	0	0
Živná půda BP												
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴				
počet kolonií	21	31	4,5	5,5	2	3,5	0	0				
Živná půda OLA												
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²								
počet kolonií	0	0	0	0								
Živná půda PCA – sporuláty												
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²								
počet kolonií	0	0	0	0								
Živná půda XLD												
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²								
počet kolonií	0	0	0	0								
Živná půda VRBL												
ředění	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²								
počet kolonií	13	8,5	1,5	0								

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{109}{10^{-2} \cdot 1} = \underline{\underline{1,1 \cdot 10^4 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{26}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{2,6 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda OLA } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda PCA – sporuláty } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{10,75}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,1 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 25. Čtvrtý model – 0. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	2,5	2	0,5	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	3	1,5	1	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{2,25}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{2,3 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{2,25}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{2,3 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^1 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 26. Čtvrtý model – 1. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	3,5	3	1	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	3	1,5	0,5	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{3,25}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{3,3 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{2,25}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{2,3 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 27. Čtvrtý model – 2. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	7	2,5	0,5	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	1	0,5	0	0	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{4,75}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{4,8 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{0,75}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{7,5 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Rozbor syrového mléka, které bylo uchovááno v lednici 7 dní a poté byl udělán rozbor.

Tab. 28. Rozbor mléka ponechaného 7 dní v lednici

Živná půda PCA								
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}
počet kolonií	N	N	N	N	N	N	205	207
Živná půda VRBL								
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}				
počet kolonií	41	38	12	9				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{206}{10^{-4} \cdot 1} = \underline{\underline{2,1 \cdot 10^6 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{39,5}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{4,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

Hodnocení jednotlivých modelů

V prvním modelu (Tab. 22) nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů.

Ve druhém modelu (Tab. 23) nebyly překročeny povolené limity pro stanovované ukazatele.

Ve třetím modelu (Tab. 24) hodnota pro bakterii *Staphylococcus aureus* překročila přípustnou mikrobiální hodnotu, přesto vyhovuje normě pro syrové mléko.

Norma pro bakterii *Escherichia coli* O157 byla překročena, vzhledem k tomu, že nebylo přistoupeno k dodatečným testům, nelze zcela potvrdit nárůst tohoto kmene.

Ostatní hodnoty překročeny nebyly.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 25) 0. den nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 26) 1. den nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů. Mléko bylo skladováno syrové, i když po pasteraci vyhovovalo požadovaným mikrobiologickým limitům, mohlo dojít k senzoričným, fyzikálně-chemickým změnám, kdy už není mléko ke konzumaci vhodné.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 27) 2. den nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů. Mléko bylo skladováno syrové, i když po pasteraci vyhovovalo požadovaným mikrobiologickým limitům, mohlo dojít k sensorickým, fyzikálně-chemickým změnám, kdy už není mléko ke konzumaci vhodné.

U syrového mléka (Tab. 28), které bylo týden skladováno v lednici, došlo k překročení přípustné mikrobiální hodnoty pro celkový počet mikroorganismů. Při dlouhodobém skladování došlo k pomnožení psychrotrofních bakterií, přesto počet bakterií nepřekročil mezní mikrobiální hodnoty. Po stránce mikrobiologické bylo mléko ještě v pořádku, ale došlo ke změně fyzikálně-chemických, sensorických vlastností mléka, kdy se mléko už nedá použít.

Norma pro bakterii *Escherichia coli* O157 byla překročena, vzhledem k tomu, že nebylo přistoupeno k dodatečným testům, nelze zcela potvrdit nárůst tohoto kmene.

Stanovení antibiotika v mléce (v modelech 2, 3) – první týden druhého rozboru

2. model Antibiotest I – papírek zůstal bílý, Antibiotest II – papírek lehce zružověl

3. model Antibiotest I – papírek zůstal bílý, Antibiotest II – papírek lehce zružověl

Syrové mléko neobsahuje penicilin, ale jiné inhibiční látky. Antibiotest I zůstal bílý, mléko obsahuje vyšší obsah inhibičních látek, pravděpodobně zbytky čistících a dezinfekčních prostředků.

Měření pH (v modelech 2, 3) – první týden druhého rozboru

2. model 6,90; 6,90 Ø 6,90

3. model 6,92; 6,90 Ø 6,91

pH syrového mléka se pohybuje v rozmezí 6,5 – 6,7. Ve vzorcích mléka byla zjištěna mírně zvýšená hodnota pH.

Stanovení antibiotika v mléce (v modelech 2, 3) – druhý týden druhého rozboru

2. model Antibiotest I – papírek zůstal bílý, Antibiotest II – papírek lehce zružověl

3. model Antibiotest I – papírek zůstal bílý, Antibiotest II – papírek lehce zružověl

Syrové mléko neobsahuje penicilin, ale jiné inhibiční látky. Antibiotest I zůstal bílý, mléko obsahuje vyšší obsah inhibičních látek, pravděpodobně zbytky čisticích a dezinfekčních prostředků.

Měření pH (v modelech 2, 3) – druhý týden druhého rozboru

2. model 6,66; 6,70 Ø 6,68

3. model 6,67; 6,68 Ø 6,68

pH syrového mléka se pohybuje v rozmezí 6,5 – 6,7. Ve vzorcích mléka byla zjištěna hodnota pH, která tomuto rozmezí odpovídá.

Barvení podle Grama

Pro přibližnou identifikaci bakterií podle Grama byl použit 3. model (mléko syrové). Pro co nejpřesnější určení rodů bakterií v mléce se používají biochemické testy, které poskytují více informací o vlastnostech vyplývajících z rozdílné enzymové výbavy jednotlivých skupin mikroorganismů.

1) kolonie na Petriho misce bílooranžové, velké, lesklé s hladkým okrajem; preparát – grampozitivní koky. Podle morfologických a kultivačních vlastností by se mohlo jednat o bakterii rodu *Micrococcus*. V mléce se vyskytuje jako méně významná kontaminace.

2) kolonie na Petriho misce bílooranžové, velké, lesklé s hladkým okrajem; preparát – grampozitivní koky. Podle morfologických a kultivačních vlastností by se mohlo jednat o bakterii rodu *Micrococcus*.

3) kolonie na Petriho misce žluté, malé, lesklé s hladkým okrajem; preparát – grampozitivní shluky koků. Podle morfologických a kultivačních vlastností by se mohlo jednat o bakterii rodu *Staphylococcus*.

4) kolonie na Petriho misce světle žluté, malé, lesklé s hladkým okrajem; preparát – gramnegativní kokotýčinky. Podle morfologických a kultivačních vlastností by se mohlo jednat o bakterii rodu *Alcaligenes*, patřící mezi nežádoucí kontaminanty mléka.

6.2.3 Třetí rozbor mléka z automatu

Třetí rozbor syrového mléka z automatu byl proveden v týdnu od 28. 3. do 1. 4. 2011 a v týdnu od 4. 4. do 8. 4. 2011. Hodnoty byly zprůměrovány. Syrové mléko bylo odebráno do sterilních lahví a za stanovených podmínek pro jednotlivé modely přepraveno a zpracováno. Výsledky jednotlivých stanovení jsou zapsány v Tab. 29 – 34.

Tab. 29. První model

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	10,5	13,5	2,5	0	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	21	15	6,5	4,5	0,5	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{12}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,2 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{18}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,8 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 30. Druhý model

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	21	21,5	2,5	0	0,5	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}

počet kolonií	17	22	11,5	11,5	1	0
Živná půda OLA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}		
počet kolonií	0	0	0	0		
Živná půda PCA – sporuláty						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{21,25}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{2,1 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{19,5}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{2,0 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda OLA } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda PCA – sporuláty } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 31. Třetí model

Živná půda PCA								
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}
počet kolonií	N	N	N	N	N	N	2915	3669
Živná půda BP								
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-4}
počet kolonií	80	37	15	6	0,5	0	0	0
Živná půda OLA								
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}				
počet kolonií	0	0	0	0				

Živná půda PCA – sporuláty				
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}
počet kolonií	0	0	0	0
Živná půda XLD				
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}
počet kolonií	0	0	0	0
Živná půda VRBL				
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}
počet kolonií	28,5	43	3,5	1,5

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{3292}{10^{-4} \cdot 1} = \underline{\underline{3,3 \cdot 10^7 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{58,5}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{5,8 \cdot 10^3 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda OLA } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda PCA – sporuláty } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{35,75}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{3,6 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

Tab. 32. Čtvrtý model – 0. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	10	8,5	1,5	1,5	1	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	8,5	9,5	4	4,5	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{9,25}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{9,3 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{9}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{9,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 33. Čtvrtý model – 1. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	12,5	10,5	3	1	0,5	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	8	7	2	0,5	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{11,5}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,2 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP} \quad N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{15}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,5 \cdot 10^3 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL} \quad \text{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ} / \text{ml}}}$$

Tab. 34. Čtvrtý model – 2. den

Živná půda PCA						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	63	58,5	6	10	0	0
Živná půda BP						
ředění	10^{-1}	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-3}
počet kolonií	10	7,5	3	0,5	0	0
Živná půda XLD						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				
Živná půda VRBL						
ředění	10^{-1}	10^{-1}				
počet kolonií	0	0				

Vyjádření výsledků:

$$\text{- živná půda PCA } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{60,75}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{6,1 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda BP } N = \frac{m}{d \cdot V} = \frac{8,75}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{8,8 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda XLD } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 0,1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10^2 \text{ KTJ / ml}}}$$

$$\text{- živná půda VRBL } \textit{méně než} \frac{1}{d \cdot V} = \frac{1}{10^{-1} \cdot 1} = \underline{\underline{1,0 \cdot 10 \text{ KTJ / ml}}}$$

Hodnocení jednotlivých modelů

V prvním modelu (Tab. 29) nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů.

Ve druhém modelu (Tab. 30) nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů.

Ve třetím modelu (Tab. 31) hodnota pro bakterii *Staphylococcus aureus* překročila přípustnou mikrobiální hodnotu, přesto vyhovuje normě pro syrové mléko.

Norma pro bakterii *Escherichia coli* O157 byla překročena, vzhledem k tomu, že nebylo přistoupeno k dodatečným testům, nelze zcela potvrdit nárůst tohoto kmene.

Celkový počet mikroorganismů překročil přípustnou mikrobiální hodnotu, přesto syrové mléko vyhovuje normě.

Ostatní hodnoty překročeny nebyly.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 32) 0. den nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 33) 1. den nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů. Mléko bylo skladováno syrové, i když po pasteraci vyhovovalo požadovaným mikrobiologickým limitům, mohlo dojít k sensorickým, fyzikálně-chemickým změnám, kdy už není mléko ke konzumaci vhodné.

Ve čtvrtém modelu (Tab. 34) 2. den nedošlo k překročení stanovovaných ukazatelů. Mléko bylo skladováno syrové, i když po pasteraci vyhovovalo požadovaným mikrobiologickým limitům, mohlo dojít k sensorickým, fyzikálně-chemickým změnám, kdy už není mléko ke konzumaci vhodné.

Stanovení antibiotika v mléce (v modelech 2, 3) – první týden třetího rozboru

2. model Antibiotest I – papírek lehce zružověl, Antibiotest II – papírek lehce zružověl

3. model Antibiotest I – papírek lehce zružověl, Antibiotest II – papírek lehce zružověl

Syrové mléko neobsahuje penicilin, ale jiné inhibiční látky. Pravděpodobně se jedná o zbytky čistících a dezinfekčních prostředků.

Měření pH (v modelech 2, 3) – první týden třetího rozboru

2. model 6,75; 6,76 Ø 6,76

3. model 6,79; 6,78 Ø 6,79

pH syrového mléka se pohybuje v rozmezí 6,5 – 6,7. Ve vzorcích mléka byly zjištěny hodnoty pH 6,76 a 6,79.

Měření pH (v modelech 2, 3) – druhý týden třetího rozboru

2. model 6,76; 6,76 Ø 6,76

3. model 6,77; 6,76 Ø 6,77

pH syrového mléka se pohybuje v rozmezí 6,5 – 6,7. Ve vzorcích mléka byly zjištěny hodnoty pH 6,76 a 6,77.

Barvení podle Grama

Pro přibližnou identifikaci bakterií podle Grama byly použity tyto modely: 2. model (mléko zpastorované), 3. model (mléko syrové). Pro co nejpřesnější určení rodů bakterií v mléce se používají biochemické testy, které poskytují více informací o vlastnostech vyplývajících z rozdílné enzymové výbavy jednotlivých skupin mikroorganismů.

1) 3. model – kolonie na Petriho misce žluté, lesklé s hladkým okrajem; preparát – gramnegativní, většinou samostatně, středně velké tyčinky. Podle morfologických a kultivačních znaků by se mohlo jednat o bakterii rodu *Flavobacterium*, která často kontaminuje mléko.

2) 2. model – kolonie na Petriho misce žluté, lesklé s hladkým okrajem; preparát – gramnegativní, většinou samostatně, středně velké tyčinky. Podle morfologických a kultivačních znaků se s největší pravděpodobností jedná o stejnou bakterii, jako v případě 1) a to o bakterii rodu *Flavobacterium*.

3) 3. model – kolonie na Petriho misce bílé, lesklé s hladkým okrajem; gramnegativní drobné tyčinky. Podle morfologických a kultivačních vlastností se může jednat o bakterie rodu *Alcaligenes* nebo *Enterobacter*, kteří jsou nežádoucími kontaminanty mléka.

4) 2. model – kolonie na Petriho misce bílé, lesklé s hladkým okrajem; grampozitivní nepravidelné shluky koků. Podle morfologických a kultivačních vlastností by se mohlo jednat o bakterii rodu *Staphylococcus*.

5) 3. model – kolonie na Petriho misce bílé, lesklé s hladkým okrajem; gramnegativní drobné tyčinky. Podle morfologických a kultivačních znaků se může jednat o bakterie rodu *Alcaligenes* nebo *Enterobacter*, kteří jsou nežádoucími kontaminanty mléka.

6) 2. model – kolonie na Petriho misce bílé, lesklé s hladkým okrajem; grampozitivní nepravidelné shluky koků. Podle morfologických a kultivačních vlastností by se mohlo jednat o bakterii rodu *Staphylococcus*.

V období od listopadu 2010 do dubna 2011 bylo vyšetřeno celkem 5 vzorků syrového mléka. V mléku byl stanovován celkový počet mikroorganismů. Při stanovení celkového počtu mikroorganismů, není možné zjistit kultivačním rozbořem všechny mikroorganismy přítomné ve vzorku. Odlišné růstové podmínky nedovolují, aby na téže půdě za stejné teploty, pH a dalších podmínek bylo možno stanovit celkový počet mikroorganismů. V surovinách mají obvykle v úhrnu všech mikroorganismů kvantitativní převahu mikroorganismy mezofilní, tvořící kolonie na základních kolektivních půdách při aerobní kultivaci. Tato rozsáhlá skupina se nejvíc přibližuje absolutnímu celkovému počtu a nejlépe vystihuje stupeň mikrobiálního znečištění daného substrátu. Všechny vzorky syrového mléka, vyšetřené na celkový počet mikroorganismů, splnily limity stanové vyhláškou (Obr. 20). Laboratorní pasteurací došlo ke snížení celkového počtu mikroorganismů, u některých vzorků až o polovinu (Obr. 21). Hodnoty celkového počtu mikroorganismů v syrovém mléce se pohybovaly v rozmezí od $1,1 \cdot 10^4$ do $3,3 \cdot 10^7$ KTJ/ml. Získané hodnoty byly porovnány s hodnotami, které ve Sborníku přednášek a konferencí uvádí Ústav technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. Ústav provedl od ledna do prosince 2007 vyšetření na celkový počet mikroorganismů u 72 vzorků syrového mléka. Hodnoty těchto vzorků se pohybovaly od $7,0 \cdot 10^3$ do $8,3 \cdot 10^6$ KTJ/ml [48]. Hodnoty vzorků syrového mléka, u kterých jsem provedla vyšetření na celkový počet mikroorganismů se liší jen minimálně.

Listeria monocytogenes, kterou jsem vyšetřovala v 5-ti vzorcích syrového mléka se v mléce nevyskytovala. V porovnání s vyšetřením, které provedl Státní zdravotní ústav Praha v období od února do září roku 2009 potvrdil výskyt *Listeria monocytogenes* u 5-ti ze 167 vzorků. Porovnáme-li výsledky obdobných studií v USA a v některých zemích Evropské unie, je kontaminace syrového mléka v České republice nízká [49].

Mladá fronta DNES ve spolupráci se Státním veterinárním ústavem v Praze provedla 20. května 2010 odebrání 15 vzorků syrového mléka z automatů po celé České republice. Mléko bylo vyšetřeno syrové i po převaření. Rozsah analýzy byl stejný, jaký dělají veterináři při kontrolách mléka, včetně všech patogenních bakterií. Z vyhodnocení tohoto testu vyplynulo, že syrové mléko neobsahuje žádné patogenní mikroorganismy. Ve čtyřech vzorcích byl počet mikroorganismů vyšší, než kolik určuje limit, ale jednotlivé nálezy, které mírně překročily limit, jsou akceptovatelné, uvedl Josef Duben ze Státní veterinární správy [47].

V 5-ti vzorcích syrového mléka, které jsem vyšetřovala i na bakterii *Salmonella* sp. (Obr. 18 a 19) a bakterii rodu *Bacillus*, se tyto bakterie nevyskytovaly, což odpovídá i zjištění Státního veterinárního ústavu. Mléko bylo vyšetřeno i na *Escherichia coli*. Tato bakterie se v syrovém mléce vyskytovala (Obr. 16), nebyly však stanoveny kmeny této bakterie, nelze zcela uvést, zda to byly kmeny patogenní, tedy nebezpečné pro člověka. Záhřevem však došlo ke zničení všech koliformních bakterií (Obr. 17), mezi kterými by se mohla *Escherichia coli* O157 vyskytovat.

V 5-ti vzorcích syrového mléka vyšetřeného také na bakterii *Staphylococcus aureus* hodnoty vyhovují platné vyhlášce. V porovnání již výše zmíněného testu MF DNES a Státního veterinárního ústavu v Praze, jsou hodnoty obou vyšetření na tuto bakterii srovnatelná.

V období od listopadu 2010 do dubna 2011 byly vyšetřeny vzorky laboratorně pasterovaného mléka ve třech různých modelech.

Test MF DNES a Státního veterinárního ústavu v Praze, se kterým porovnávám svoje výsledky byl také zaměřen na vyhodnocování vzorků převařeného syrového mléka z automatů. Z výsledků rozborů, které uspořádali vyplynulo, že toto převařené mléko je pro konzumaci nezávadné. K tomuto zjištění jsem svými rozborů dospěla i já.

Mléko nesmí obsahovat inhibiční látky, jako jsou antibiotika nebo čistící a dezinfekční prostředky. Tento požadavek je důležitý jak z hlediska zdravotního, tak i technologického. Všechny vzorky mléka, které byly vyšetřeny na inhibiční látky, toto kritérium nesplnily.

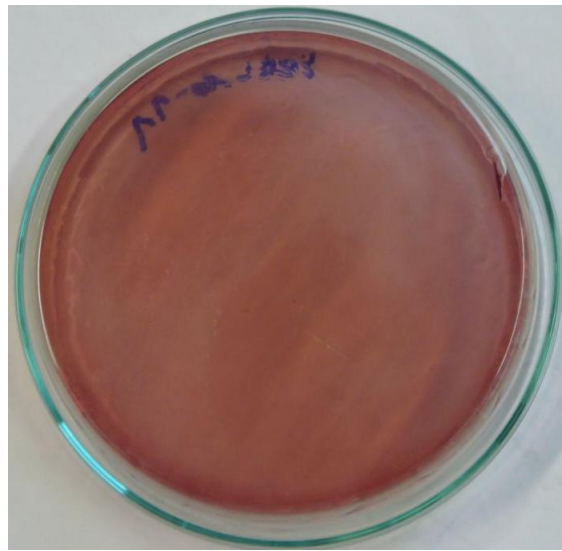
Každý vzorek mléka z automatu byl jiný – mikroorganismy ve vzorcích mléka vykazovaly nestejně hodnoty. Je to závislé na čistotě prostředí, zaměstnanců, složením krmiva i dalších faktorech. Z toho jsem nabyla dojmu, že prostředí, na kterém závisí množství mikroorganismů v mléce není stabilní.

U některých modelů byla provedena laboratorní pasterace. Toto mléko, které prošlo pasterací, není tak dokonale ošetřeno jako v mlékárnách. Z tohoto důvodu může být obsah mikroorganismů, které zůstaly po záhřevu, větší.

Při měření aktivní kyselosti se pH mléka se pohybovalo v obvyklém rozmezí, z toho lze usuzovat, že mléko bylo čerstvé, avšak prostřednictvím pH nedetekujeme první stadia rozkladu laktózy na kyselinu mléčnou. Titrační kyselost by byla vhodnějším ukazatelem čerstvosti mléka.



Obr. 15. Nárůst kolonií na půdě VRBL, syrové mléko



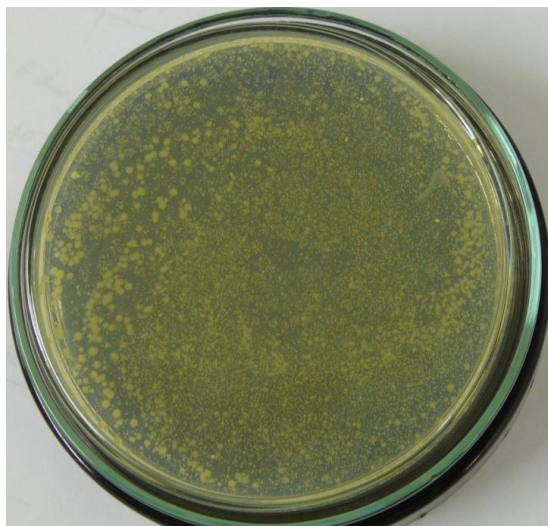
Obr. 16. Půda VRBL, laboratorně zpasterované mléko



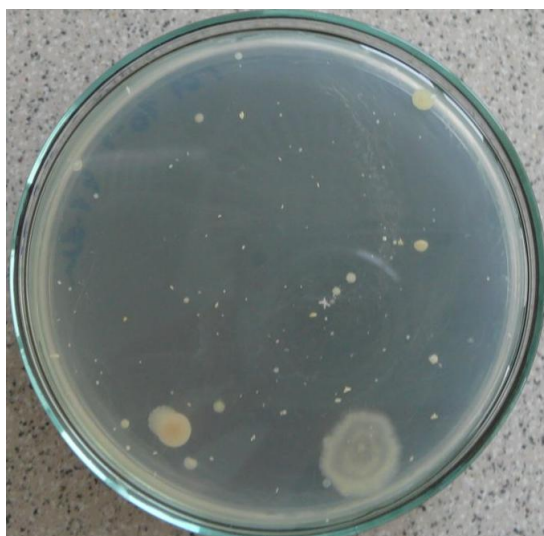
Obr. 17. Půda XLD, syrové mléko



Obr. 18. Půda XLD, laboratorně zpasterované mléko



*Obr. 19. Celkový počet mikroorganismů,
syrové mléko*



*Obr. 20. Celkový počet mikroorganismů,
laboratorně zpasteurované mléko*

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo z mikrobiálního hlediska zhodnotit syrové mléko z automatu podle stanovených modelů.

Teoretická část diplomové práce byla převážně zaměřena na mikrobiologii syrového mléka. Praktická část se zabývá dotazníkem, který byl směřován k laické veřejnosti, na jehož základě byly stanoveny modely úpravy syrového mléka.

Další část diplomové práce se zabývá mikrobiologickým rozбором vytvořených modelů. Hodnocení syrového mléka z automatů dopadlo dobře. Nelze však říci, že syrové mléko z automatu je bez rizika a že ho můžeme konzumovat bez převaření.

Z provedených rozborů vyplývá, že převařovat syrové mléko má své opodstatnění.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ADAMS, M. R., MOTARJEMI, Y. *Emerging foodborne pathogens*, Cambridge: Woodhead Publishing, 634 s. ISBN 9781855739635.
- [2] BLACKBURN, C. W., MCCLURE, P. J. *Foodborne Pathogens: Hazards, Risk Analysis and Control*, Boca Raton, Fla.: CRC Press, 521 s. ISBN 978-1-85573-454-8.
- [3] BOTTONE, E. J. *Yersinia enterocolitica: overview and epidemiologic correlates*, *Microbes and Infection*, 1999, roč. 1, č. 4, s. 223 – 333.
- [4] CUPÁKOVÁ, Š., JANŠTOVÁ, B., NAVRÁTILOVÁ, P., NECIDOVÁ, L. Rizika konzumace syrového kravského mléka, *Veterinářství*, 2001, roč. 51, s. 182 – 184.
- [5] DĚDEK, M., ČERNÁ E., MERGL, M., VINDYŠ, L. *Sanitace při výrobě mléka a mléčných výrobků*, 1. vydání, Praha: SNTL, 1984, 192 s.
- [6] DONGYOU, L. Preparation of *Listeria monocytogenes* specimens for molecular detection and identification, *International Journal of Food Microbiology*, 2008, roč. 122, č. 3, s. 229 – 242.
- [7] FOX, P., MCSWEENEY, P. *Dairy chemistry and biochemistry*. London: Blackie Academic & Professional, 478 s. ISBN 0-412-72000-0
- [8] GAJDŮŠEK, S. *Laktologie*, 1. vydání, Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, 78 s. ISBN 80-7157-657-3.
- [9] GARCIA, M.-I., BOUGUÉNEC LE, C. Role of adhesion in pathogenicity of human uropathogenic and diarrhoeogenic *Escherichia coli*, *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1996, roč. 94, č. 3, s. 201 – 236.
- [10] GURJAR, A. A., HEGDE, N. V., LOVE, B. C., JAYARAO, B. M. Real-time multiplex PCR assay for rapid detection and toxintyping of *Clostridium perfringens* toxin producing strains in feces of dairy cattle, *Molecular and Cellular Probes*, 2008, roč. 22, č. 2, s. 90 – 95.
- [11] CHANDAN, R. C., KILARA, A., SHAH, N. P. *Dairy Processing and Quality Assurance*, John Wiley & Sons, 2008, 613 s. ISBN 978-0-8138-2756-8

- [12] CHURCHILL, R. L. T., LEE, H., HALL, J. CH. Detection of *Listeria monocytogenes* and the toxin listeriolysin O in food, *International Journal of Food Microbiology*, 2008, roč. 122, č. 3, s. 229 – 234.
- [13] JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J. *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*, 1. vydání, Praha: ÚZPI, 1995, 106 s. ISBN 80-85120-47-X
- [14] JULÁK, J. *Úvod do lékařské bakteriologie*, 1. vydání, Univerzita Karlova v Praze, Praha: Karolinum, 2006, 404 s. ISBN 80-246-1270-4
- [15] KADLEC, P. a kolektiv *Technologie potravin 2*, 1. vydání, Praha: VŠCHT, 2002. ISBN 80-7080-510-2.
- [16] KÄRENLAMPI, R., HÄNNINEN, M.-L. Survival of *Campylobacter jejuni* on various fresh produce, *International Journal of Food Microbiology*, 2004, roč. 97, č. 2, s. 187 – 195.
- [17] LOUDA, F., RÁKOS, M., STÁDNÍK, L. *Jak zajistit optimální průběh laktace*, Katedra chovu skotu a mlékařství, [online], AF ČZU Praha [cit. 2010-11-07]. Dostupné z WWW: <www.agris.cz>.
- [18] MALAHAT, A., SAYED, M. R. R., NOOSHIN, A. Detection of *Staphylococcus aureus* in milk by PCR, *Comparative Clinical Pathology*, 2010, roč. 19, č. 1, s. 91 – 94.
- [19] MERGL, M., OBERMAIER, O. *Mikrobiologie mlékárenská pro 2. ročník SOU*, 1. vydání, Praha: SNTL, 1985, 157 s.
- [20] PAVELKA, A. *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*, 1. vydání, Brno: Littera, 1996, 105 s. ISBN 80-85763-09-5
- [21] ROBINSON, R. K. *Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1–3*, Elsevier, 2000, s. 2405. ISBN 978-0-12-227070-3
- [22] RYŠÁNEK, D. *Vliv mastitid na jakost a zdravotní nezávadnost mléka* [online], 2007. [cit. 2010-11-07]. Dostupné z WWW: <http://www.vri.cz/userfiles/image/pracovnici/Rysanek/kapit_predn/Vliv_mastitid_na_jakost_mleka.pdf>.
- [23] SAWIRES, Y. S., SONGER, J. G. *Clostridium perfringens*, Insight into virulence evolution and population structure, *Anaerobe*, 2006, roč. 12, č. 1. s. 23 – 43.

- [24] SEDLÁČEK, I. *Taxonomie prokaryot*, 1. vydání, Brno: Masarykova univerzita, 2006. ISBN 80-210-4207-9
- [25] SCHINDLER, J. *Mikrobiologie: Pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha: GRADA, 2010, 223 s. ISBN 978-80-247-3170-4.
- [26] SCHLEIG, P. M., BUERGELT, C. D., DAVIS, J. K., WILLIAMS, E., MONIF, G. R. G. Attachment of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* to bovine intestinal organ cultures: Method development and strain differences, *Veterinary Microbiology*, 2005, roč. 108, č. 3–4, s. 271 – 279.
- [27] SLAGHUIS, B. A., GIFFEL, M. C. T., BEUMER, R. R., et al. Effect of pasturing on the incidence of *Bacillus cereus* spores in raw milk, *International Dairy Journal*, 1997, roč. 7, č. 4, s. 201 – 205.
- [28] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*, 3. vydání, Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 978-80-200-1703-1
- [29] ŠROUBKOVÁ, E. *Technická mikrobiologie*, 1. vydání, Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1996, 149 s. ISBN 80-7157-226-8
- [30] TABAN, B. M., BEN, U., AYTAC, S. A. Rapid detection of *Salmonella* in milk by combined immunomagnetic separation-polymerase chain reaction assay, *Journal of Dairy Science*, 2009 roč. 92, č. 6, s. 2382 – 2388.
- [31] TAMIME, A. Y. *Milk Processing and Quality Management*, John Wiley & Sons, 2009, 350 s. ISBN 978-1-4051-4530-5
- [32] THIBODEAU, V., FROST, E. H., QUESSY, S. Development of an ELISA procedure to detect swine carriers of pathogenic *Yersinia enterocolitica*, *Veterinary Microbiology*, 2001, roč 82, č. 3, s. 249 – 259.
- [33] WOO, S.-R., HEINTZ, J. A., ALBRECHT, R., BARLETTA, R. G., CZUPRYNSKI, CH. J. Life and death in bovine monocytes: The fate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *Microbial Pathogenesis*, 2001, roč. 43, č. 2 – 3, s. 106 – 113.
- [34] ŽIŽKA, B., KORBELOVÁ, M. *Mikrobiologie pro SPŠ potravinářské*, 1. vydání, Praha, 1992.

- [35] Milk and dairy products, *Micro-Organisms in Foods 6*. Dostupné z WWW: <<http://www.springerlink.com/content/?k=microorganisms+in+milk>>.
- [36] *Metabolické poruchy u přežvýkavců*, [online]. [cit. 2010-11-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.zootechnika.cz/clanky/zoohygiena-a-choroby-hospodarskych-zvirat/choroby-prezvykavcu/metabolicke-poruchy-u-prezvykavcu.html>>.
- [37] *Mlékomaty: Pravé mléko z automatu je levné a dobré* [online]. [cit. 2010-11-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.nazeleno.cz/bio/biopotraviny-1/mlekomaty-prave-mleko-z-automatu-je-levne-a-dobre.aspx>>.
- [38] *Mléko plné života, energie, chuti, minerálů a vitamínů* [online]. [cit. 2010-11-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.agris.cz/detail.php?iSub=518&id=166876>>.
- [39] *Automat na mléko* [online], [cit. 2010-11-07]. Dostupné z WWW: <<http://www.tmleko.cz/automat-na-mleko/>>.
- [40] *Ministerstvo zdravotnictví ČR upozorňuje na možná zdravotní rizika způsobená konzumací mlékárensky neupraveného mléka* [online]. [cit. 2011-03-09]. Dostupné z WWW: <http://www.mzcr.cz/dokumenty/ministerstvo-zdravotnictvi-cr-upozornuje-na-mozna-zdravotni-rizika-zpusobena-konzumaci-mlekarensky-neupraveneho-mleka_2937_1.html>.
- [41] VÁCLAVÍKOVÁ, L. *Není mléko jako mléko*, Praha, Tisková zpráva, [online]. [cit. 2011-03-09]. Dostupné z WWW: <http://www.crestcom.cz/tiskove_stredisko/files/11/TZ_CM.doc>.
- [42] *Syrové mléko – chutně a bezpečně* [online]. [cit. 2011-03-09]. Dostupné z WWW: <<http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/syrove-mleko-chutne-a-bezpecne.html>>.
- [43] *Diagnostika a léčba osteoporózy* [online]. [cit. 2010-12-09]. Dostupné z WWW: <<http://www.lekari-online.cz/ortopedie/zakroky/diagnostika-a-lecba-osteoporozy>>.

- [44] BLAHOŠ, J., PALIČKA, V., BÝMA, S. Osteoporóza, doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře, *Společnost všeobecného lékařství*, 2006.
- [45] Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* Část 2: Metoda stanovení počtu (ISO 11290-2:1998)
- [46] *Jak se dojí kráva* [online]. [cit. 2011-04-29]. Dostupné z WWW: <<http://www.dobremleko.cz/jaksedojikrava/dojeni/index.html>>.
- [47] *Čerstvé mléko z automatu je bez škodlivých bakterií* [online]. [cit. 2011-05-14]. Dostupné z WWW: <<http://ekonomika.idnes.cz/>>.
- [48] HOFERKOVÁ, P., KOŠINOVÁ, M., BURDYCHOVÁ, R. Sledování výskytu psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce, *Sborník celostátních přehlídek sýrů*, Praha: VŠCHT, 2008, s. 115 – 118.
- [49] CUTÁKOVÁ, Z., GELBÍČOVÁ, T., KARPÍŠKOVÁ, R. Sledování výskytu *Listeria monocytogenes* v syrovém mléce, *II. Konference studentské vědecké a odborné činnosti, Sborník příspěvků*, Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2009, s. 6

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

N-látky Dusíkaté látky.

CPM Celkový počet mikroorganismů.

MO Mikroorganismus.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Změna koncentrace lipidů (Δ), proteinů (\square) a laktózy (\circ) během laktace.....</i>	13
<i>Obr. 2. Bacillus cereus obarvený podle Grama</i>	28
<i>Obr. 3. Skenovací elektronová mikrofotografie Campylobacter jejuni</i>	29
<i>Obr. 4. Clostridium perfringens</i>	30
<i>Obr. 5. Kolonie Escherichia coli při 10 000násobném zvětšení elektronovým mikroskopem.....</i>	32
<i>Obr. 6. Elektronová mikrofotografie Listeria monocytogenes</i>	33
<i>Obr. 7. Skenovací elektronová mikrofotografie Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis</i>	34
<i>Obr. 8. Salmonella sp.</i>	36
<i>Obr. 9. Staphylococcus aureus</i>	37
<i>Obr. 10. Transmisní elektronová mikrofotografie Yersinia enterocolitica</i>	38
<i>Obr. 11. Mléčný automat</i>	43
<i>Obr. 12. Tank na mléko</i>	43
<i>Obr. 13. Vnitřek tanku, je vidět míchadlo, výpustný ventil a teploměr.....</i>	44
<i>Obr. 14. PET lahev a skleněná lahev na mléko</i>	45
<i>Obr. 15. Nárůst kolonií na půdě VRBL, Obr. 16. Půda VRBL, laboratorně</i>	89
<i>Obr. 17. Půda XLD, syrové mléko Obr. 18. Půda XLD, laboratorně.....</i>	89
<i>Obr. 19. Celkový počet mikroorganismů, Obr. 20. Celkový počet mikroorganismů,</i>	90

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Shrnutí zdravotních účinků některých složek mléčného tuku [11].....</i>	15
<i>Tab. 2. Průměrné obsahy vitaminů v mléce [8]</i>	16
<i>Tab. 3. Vliv některých produkčních onemocnění na složení a vlastnosti mléka [8]</i>	22
<i>Tab. 4. Teplotně odolné a psychrotrofní mikroorganismy v syrovém mléce [21].....</i>	25
<i>Tab. 5. Patogeny a potenciální patogeny nacházející se v syrovém mléku [21].....</i>	26
<i>Tab. 6. Nemoci přenášené prostřednictvím mléka a jejich nejvýznamnější zdroje [35].....</i>	41
<i>Tab. 7. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 190/2003 Sb. ze dne 18. června 2003, kterou se mění vyhláška č. 287/1999 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty, ve znění pozdějších předpisů</i>	55
<i>Tab. 8. Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.....</i>	56
<i>Tab. 9. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.....</i>	56
<i>Tab. 10. Rozbor stanovení – první model</i>	58
<i>Tab. 11. Rozbor stanovení – druhý model</i>	58
<i>Tab. 12. Rozbor stanovení – třetí model</i>	59
<i>Tab. 13. Rozbor stanovení – čtvrtý model, 0. den.....</i>	60
<i>Tab. 14. Rozbor stanovení – čtvrtý model, 1. den.....</i>	60
<i>Tab. 15. Rozbor stanovení – čtvrtý model, 2. den.....</i>	60
<i>Tab. 16. První model.....</i>	67
<i>Tab. 17. Druhý model</i>	67
<i>Tab. 18. Třetí model.....</i>	68
<i>Tab. 19. Čtvrtý model – 0. den</i>	69
<i>Tab. 20. Čtvrtý model – 1. den.....</i>	70
<i>Tab. 21. Čtvrtý model – 2. den.....</i>	70
<i>Tab. 22. První model.....</i>	72
<i>Tab. 23. Druhý model</i>	73
<i>Tab. 24. Třetí model.....</i>	74
<i>Tab. 25. Čtvrtý model – 0. den.....</i>	75
<i>Tab. 26. Čtvrtý model – 1. den.....</i>	75
<i>Tab. 27. Čtvrtý model – 2. den.....</i>	76

<i>Tab. 28. Rozbor mléka ponechaného 7 dní v lednici</i>	<i>77</i>
<i>Tab. 29. První model.....</i>	<i>80</i>
<i>Tab. 30. Druhý model</i>	<i>80</i>
<i>Tab. 31. Třetí model.....</i>	<i>81</i>
<i>Tab. 32. Čtvrtý model – 0. den.....</i>	<i>82</i>
<i>Tab. 33. Čtvrtý model – 1. den.....</i>	<i>83</i>
<i>Tab. 34. Čtvrtý model – 2. den.....</i>	<i>84</i>

SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf 1. Znázornění odpovědi na otázky 1 – 2</i>	62
<i>Graf 2. Znázornění odpovědi na otázky 3 – 4</i>	63
<i>Graf 3. Znázornění odpovědi na otázky 5 – 6.1</i>	64
<i>Graf 4. Znázornění odpovědi na otázky 7 – 7.2</i>	65
<i>Graf 5. Znázornění odpovědi na otázky 8 – 9</i>	66