



Potencjalne źródła skażenia mleka wpływające na jego jakość spożywczą

Ewa Czerwińska, Wojciech Piotrowski
Politechnika Koszalińska

1. Wstęp

Bezpieczeństwo żywności to ogół warunków, które muszą być spełnione oraz działań, które należy podjąć od momentu wyboru surowca poprzez wszystkie etapy produkcji, aż do osiągnięcia i zbycia w handlu produktu finalnego. Celem wszelkich działań związanych z produkcją żywności jest zapewnienie ochrony zdrowia i życia człowieka. Wytwarzanie produktów spożywczych bezpiecznych, czyli wolnych od zagrożeń biologicznych, chemicznych i fizycznych, jest konieczne dla utrzymania pożądanych cech jakościowych przez czas określony terminem przydatności do spożycia [2].

Występowanie czynników mikrobiologicznych, które mogą kolonizować żywność stanowi zagrożenie wywołujące negatywny wpływ na zdrowie człowieka, jednocześnie skład jakościowy tej mikroflory może znacząco przyspieszać termin obniżenia trwałości handlowej produktu.

Wśród żywności obecnej w codziennym jadłospisie każdego człowieka mleko i jego produkty zajmują pierwsze miejsce, są bowiem źródłem białka, wielu witamin i składników mineralnych. Aby jednak te

właściwości zdrowotne wpływały korzystnie na organizm człowieka, należy zachować warunki higieny zwracając uwagę na moment poboru mleka, jego dystrybucję do zakładów mleczarskich oraz metody utrwalania produktu przeznaczonego do konsumpcji [10].

Warunkiem trwałości mleka jest jego czystość mikrobiologiczna. Rozporządzenia UE określają, że liczba drobnoustrojów w mleku surowym nie może przekraczać 100 tysięcy w 1 cm³ (dawna klasa ekstra w Polsce), nie precyzują jednak jaki ma być skład jakościowy tej mikroflory, a jest to ważne dla trwałości i bezpieczeństwa produktu [11]. Przepisy dotyczące higieny w przedsiębiorstwach zajmujących się pozyskiwaniem i przetwórstwem mleka ustanowione zostały przede wszystkim w rozporządzeniu (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. oraz w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 sierpnia 2004 r. w sprawie wymagań weterynaryjnych dla mleka oraz produktów mlecznych [7].

W mleku surowym liczba drobnoustrojów zależy od stanu zdrowotnego krów, warunków higienicznych gospodarstwa, higieny udoju oraz temperatury przechowywania mleka. Obecność mikroflory w mleku pasteryzowanym jest następstwem jego zanieczyszczenia po procesie obróbki cieplnej, nieskutecznej pasteryzacji bądź obecności w mleku surowym form bakterii przetrwałych lub ciepłopornych [11].

Celem niniejszej pracy była analiza jakości spożywczej mleka surowego pozyskiwanego prosto od krowy w gospodarstwie, a także technologicznych aspektów produkcji mleka pasteryzowanego w mleczarni.

2. Materiał i metody badań

Materiał badany stanowiły próbki mleka pochodzące z:

- gospodarstwa znajdującego się w pobliżu Koszalina, utrzymującego się głównie ze sprzedaży plonów rolnych na niewielką skalę. Chów bydła, trzody, drobiu pokrywał jedynie potrzeby własne rolnika i jego rodziny.
- mleczarni znajdującej się na terenie województwa zachodniopomorskiego. Zakład, w zależności od aktualnej liczby dostawców, skupuje mleko w ilości ok. 2000 litrów dziennie. Produkcja obejmuje szeroki zakres asortymentu mleczarskiego: mleko spożywcze pasteryzowane (2% i 3,2%), kefir, maślanekę, śmietanę (12 i 18%) i śmietankę 30%,

masło, sery twarogowe, sery podpuszczkowe dojrzewające. W celu podwyższenia jakości produktów mleczarnia modernizuje zaplecze techniczne i stosuje się do zaleceń Dobrej Praktyki Produkcyjnej.

Kontroli mikrobiologicznej poddano (w latach 2009/2010):

- Paszę – mieszankę pszenżyta i owsa, którą skarmiano krowy. Pasza przygotowywana była przez gospodarza za pomocą śrutownika. Badania oraz pobranie próbek przeprowadzono zgodnie z normą PE-EN-ISO-7278:2008. Oceniano ogólną liczbę bakterii, grzybów i drożdży w 1 g.
- Mleko surowe od krów będących w różnym wieku. Młoda krowa miała 2 lata (badania przez rok) a stara 14 lat (badania lato, jesień). Badania oraz pobranie próbek przeprowadzono wg normy PN-A-86003. Oceniano ogólną liczbę bakterii, grzybów i drożdży w 1 ml.
- Mleko surowe schłodzone, pobrane (zgodnie z normą PN-EN ISO) z tanku znajdującego się w hali produkcyjnej. Badania przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 8261. Oceniano ogólną liczbę bakterii, grzybów i drożdży w 1 ml.
- Mleko pasteryzowane, pobrane z pasteryzatora znajdującego się w hali produkcyjnej zgodnie z normą PN-EN ISO 707. Badania przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 8261. Oceniano ogólną liczbę bakterii, grzybów w 1 ml.
- Powietrze w pomieszczeniu, gdzie odbywa się odbiór surowca, hali produkcyjnej (przy pasteryzatorze i nalewarce), w magazynie i laboratorium. Próbkę pobrano wg zaleceń normy PN-89-Z-04008-08. Oceniano ogólną liczbę bakterii, grzybów i drożdży w 1 m³ powietrza.
- Wodę, pochodzącą z ujęcia własnego, z kranu znajdującego się w hali produkcyjnej. Próbkę pobrano zgodnie z normą PN-ISO 56675: 2003. Badania przeprowadzono zgodnie z normą PN-75 C-04615/05 oraz PN-75 C-04615/07. Oceniano ogólną liczbę bakterii, grzybów i drożdży w 1 cm³.

Ocenę czystości mikrobiologicznej badanych surowców i produktów wykonano stosując posiewy rozcieńczonych próbek metodą zalewową Kocha. Rodzaje podłoży i warunki inkubacji podano w tabeli 1. Identyfikację wyhodowanych bakterii wykonano za pomocą analizatora mini API firmy bioMerieux stosując testy API 50 CHB, ID 32 STAPH, ID 32

GN. Identyfikację grzybów pleśniowych do rodzaju wykonano na podstawie cech makro- i mikroskopowych uwzględniając takie struktury morfologiczne jak: budowa strzępek, zarodni i zarodników oraz trzonków konidialnych, zespołu konidialnego lub zarodników konidialnych. Przy identyfikacji wyhodowanych drożdży zastosowano test firmy bio-Merieux ID 32 C.

Tabela 1. Rodzaje zastosowanych podłoży i parametry hodowli

Table 1. The type of substrate used and breeding parameters

Lp.	Rodzaj podłoża	Parametry inkubacji	
1.	Agar odżywczy	30°C / 48 h	Mezofile
2.	Agar odżywczy	20°C / 72 h	Psychrofile
3.	Agar Palcam	30°C-35°C / 24-48 h	Przetrwalniki
4.	Podłoże Endo	44°C / 48 h	<i>Escherichia coli</i>
5.	Agar Sabourauda z chloramfenikolem	20°C / 5 dni	Grzyby i drożdże
6.	Podłoże McConkey'a	37°C / 24-48 h	<i>Enterobacteriaceae</i>
7.	Podłoże M17	37°C / 24h	Paciorkowce fermentacji mlekowej
8.	Podłoże Champana	37°C / 24-48 h	Gronkowce
9.	Podłoże z żółcią, zielenią brylantową i laktozą	37°C / 24-48 h	<i>Escherichia coli</i>

3. Wyniki badań

Najwyższą ogólną liczbę bakterii wyizolowano z paszy (tabela 2) w okresie jesiennym na agarze odżywczym (temp. 20°C) – $7,2 \cdot 10^5$ jtk/cm³, także na podłożu Mc Conkey'a – $5,2 \cdot 10^4$ jtk/cm³. Zidentyfikowano obecność bakterii: *Enterobacter cloacae*, *Pantoea* sp. oraz *Serratia marcescens*. Stwierdzono również obecność, zwłaszcza w okresie jesiennym ($8,0 \cdot 10^3$ jtk/cm³) bakterii *Escherichia coli*.

Obecność grzybów stwierdzano w paszy we wszystkich terminach badań, a szczególnie licznie wiosną ($5,0 \cdot 10^4$ jtk/cm³). Były to grzyby z rodzajów *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*.

Bakteryjne zanieczyszczenie mleka prosto od krowy (tabela 3, 4) oceniane na agarze odżywczym było najwyższe w okresie jesiennym z udoju wieczornego od krowy młodej ogólna liczba wyizolowanych bakterii wyniosła $1,1 \cdot 10^5$ jtk/cm³ oraz z udoju wieczornego w okresie

jesieni u krowy starej – $5,8 \cdot 10^4$ jtk/cm³. Hodowla próbek na agarze Mc Conkey'a wykazała największą liczbę bakterii w mleku z udoju rannego krowy młodej w okresie lata – $5,0 \cdot 10^3$ jtk/cm³ oraz w mleku z udoju rannego krowy starej w okresie jesieni – $1,8 \cdot 10^3$ jtk/cm³.

Tabela 2. Analiza ilościowa zanieczyszczeń mikrobiologicznych paszy
Table 2. Quantitative evaluation of microbiological contamination of fodder

Badany materiał	Podłoże hodowlane	Ogólna liczba drobnoustrojów			
		jesień	zima	wiosna	lato
Pasza	Agar 20°C	$7,2 \cdot 10^5$ [jtk/g]	$2,1 \cdot 10^4$ [jtk/g]	$3,1 \cdot 10^5$ [jtk/g]	$6,1 \cdot 10^4$ [jtk/g]
	Agar Mc Conkey	$5,2 \cdot 10^4$ [jtk/g]	$1,0 \cdot 10^4$ [jtk/g]	$1,2 \cdot 10^4$ [jtk/g ⁸]	$8,3 \cdot 10^3$ [jtk/g]
	PalCam	nieobecne	nieobecne	nieobecne	nieobecne
	Z żółcią i zielenią brylantową – obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-2}
	Endo	$8,0 \cdot 10^3$ [jtk/g]	$4,1 \cdot 10^3$ [jtk/g]	$5,0 \cdot 10^3$ [jtk/g]	$5,3 \cdot 10^3$ [jtk/g]
	Sabourauda z chloramfenikolem	$3,1 \cdot 10^4$ [jtk/g]	$2,8 \cdot 10^4$ [jtk/g]	$5,0 \cdot 10^4$ [jtk/g]	$8,0 \cdot 10^2$ [jtk/g]
Zidentyfikowane w paszy drobnoustroje	<i>Penicillium</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Pantoea</i> sp. <i>Escherichia coli</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp.	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Pantoea</i> sp. <i>Escherichia coli</i> <i>Cladosporium</i> sp.	<i>Serratia marcescens</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Rhizopus</i> sp.	

Na podłożu Chapmanna bakterie izolowano w każdej porze roku. Największą ich liczbę stwierdzono wiosną w mleku krowy młodej z udoju rannego ($1,1 \cdot 10^3$ jtk/cm³) i w okresie letnim w mleku z udoju rannego krowy starej ($3,6 \cdot 10^3$ jtk/ml). Liczba bakterii kwaszających na podłożu M17 była najwyższa w mleku krowy młodej i starej z udoju rannego jesienią i wynosiła odpowiednio $5,1 \cdot 10^4$ jtk/cm³ i $7,0 \cdot 10^3$ jtk/cm³.

Tabela 3. Analiza ilościowa zanieczyszczeń mikrobiologicznych
Table 3. Quantitative evaluation of microbiological contamination

Podłoża hodowlane	Ogólna liczba drobnoustrojów						
	Mleko od młodej krowy				Mleko od starej krowy		
		jesień	zima	wiosna	lato	jesień	lato
Agar 20°C [jtk/cm ³]	r	4,3 · 10 ⁴	3,6 · 10 ³	2,2 · 10 ⁴	4,9 · 10 ⁴	5,5 · 10 ⁴	3,5 · 10 ⁴
	w	1,1 · 10 ⁵	4,0 · 10 ⁴	1,8 · 10 ³	1,5 · 10 ⁴	5,8 · 10 ⁴	1,6 · 10 ⁴
Mac Conkey [jtk/cm ³]	r	5,0 · 10 ²	3,5 · 10 ²	1,0 · 10 ²	5,0 · 10 ³	1,8 · 10 ³	1,1 · 10 ³
	w	3,3 · 10 ¹	2,0 · 10 ²	5,0 · 10 ¹	1,0 · 10 ²	3,5 · 10 ²	1,0 · 10 ³
Chapmman [jtk/cm ³]	r	1,0 · 10 ³	4,9 · 10 ²	1,1 · 10 ³	8,4 · 10 ²	9,4 · 10 ²	3,6 · 10 ³
	w	8,3 · 10 ²	3,2 · 10 ²	6,3 · 10 ²	8,0 · 10 ¹	5,5 · 10 ²	5,4 · 10 ²
M17 [jtk/cm ³]	r	5,1 · 10 ⁴	3,6 · 10 ³	1,5 · 10 ³	3,5 · 10 ⁴	7,0 · 10 ³	3,5 · 10 ³
	w	1,8 · 10 ⁴	2,0 · 10 ³	2,0 · 10 ³	1,0 · 10 ⁴	5,5 · 10 ³	1,6 · 10 ³
Z żółcią i zielenią brylantową – obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu	r	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻³	0	10 ⁻²
	w	10 ⁻²	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹
Sabourauda z chloramfenikolem [jtk/cm ³]	r	0	0	0	1,0 · 10 ²	3,3 · 10 ¹	2,0 · 10 ¹
	w	0	0	0	3,3 · 10 ¹	3,3 · 10 ¹	2,0 · 10 ¹

r – rano, w – wieczór

W mleku krowy młodej zidentyfikowano w okresie jesieni bakterie: *Bacillus sp.*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus lentus*, *Lactobacillus casei* a w okresie lata *Klebsjella oxycota*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus warneri*. W każdej porze roku obserwowano na podłożu z żółcią i zielenią brylantową wzrost pałeczek *Escherichia coli*. Był on najwyższy przy rozcieńczeniu 10⁻³ dla mleka z udoju rannego krowy młodej w lecie. Ich identyfikację potwierdzono posiewem na podłożu Endo i testem API ID 32 GN. W okresie jesiennym w mleku od krowy starej zarówno z udoju rannego jak i wieczornego, występowały: *Bacillus sp.*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus lentus*, *Lactobacillus casei*. W okresie letnim były to *Klebsjella pneumoniae*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus ureus*. Również w tych okresach wykryto bakterie *Escherichia coli*.

Tabela 4. Analiza jakościowa dominującej mikroflory bakteryjnej i grzybowej
Table 4. Qualitative evaluation of prevailing bacteria and fungi flora

Badany materiał	Skład jakościowy wyizolowanych drobnoustrojów			
	jesień	zima	wiosna	lato
Mleko od krowy młodej pobrane rano	<i>Bacillus sp.</i> <i>Staphylococcus gallinarum</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Pantoea sp.</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Pantoea sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsjella oxycota</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Candida catenulata</i> ,
Mleko od krowy młodej pobrane wieczorem	<i>Bacillus sp.</i> <i>Staphylococcus gallinarum</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Enterobacter gergoviae</i> <i>Pantoea spp.</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Pantoea sp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus sp.</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Rhodotorula glutinis</i>
Mleko od krowy starej pobrane rano	<i>Bacillus sp.</i> <i>Staphylococcus gallinarum</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Rhodotorula glutinis</i>	nie badano	nie badano	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsjella pneumoniae</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Candida rugosa</i> <i>Rhodotorula glutinis</i>
Mleko od krowy starej pobrane wieczorem	<i>Staphylococcus gallinarum</i> <i>Staphylococcus lentus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Candida sake</i> <i>Rhodotorula glutinis</i>	nie badano	nie badano	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus sp.</i> <i>Candida rugosa</i>

Obecność grzybów stwierdzono w mleku krowy młodej jedynie w okresie letnim, ich liczba wyniosła $1,1 \cdot 10^2$ jtk/cm³ w porcji rannej (*Candida catenulata*) i $3,3 \cdot 10^1$ jtk/cm³ *Rhodotorula glutinis* w porcji z udoju wieczornego. Natomiast z mleka krowy starej rozwijały się zarówno latem jak i jesienią grzyby *Candida rugosa*, *Rhodotorula glutinis*

i *Candida sake*. Ich liczba kształtowała się w lecie na poziomie $2,0 \cdot 10^1$ jtk/cm³ a jesienią – $3,3 \cdot 10^1$ jtk/cm³.

Ocena mikrobiologiczna mleka schłodzonego surowego (tab. 5, 6) pobranego jesienią w mleczarni wykazała, że największą ogólną liczbę bakterii wyhodowano na agarze odżywczym w temperaturze 20°C jak i 30°C i wyniosła odpowiednio (odpowiednio $2,3 \cdot 10^4$ jtk/cm³ i $3,9 \cdot 10^3$ jtk/cm³). W okresie jesiennym występowały również najliczniej bakterie kwaszące ($9,4 \cdot 10^3$ jtk/cm³), natomiast zimą na podłożu z żółcią i zielenią brylantową (rozcieńczenie 10^3) dominowały bakterie *Escherichia coli*, co potwierdzono posiewami na podłożu Endo ($1,6 \cdot 10^3$ jtk/cm³) i testem API ID 32 GN. Drobnoustrojami, które wyizolowano były: *Leuconostoc* sp., *Lactococcus lactis*, *Aerococcus viridans*, *Globi sanquiuus*, *Escherichia coli*.

Grzyby występowały najliczniej w mleku schłodzonym surowym w okresie wiosennym ($5,4 \cdot 10^2$ jtk/cm³). Wśród nich zidentyfikowano: *Sacharomyces cerevisiae* i *Cladosporium* sp.

Ogólna liczba bakterii w mleku pasteryzowanym była najwyższa wiosną. Ich liczba w przypadku agaru odżywczego kształtowała się dla parametrów hodowli 20°C/72 godziny na poziomie $5,7 \cdot 10^3$ jtk/cm³, a dla 30°C/48 godziny – $9,1 \cdot 10^3$ jtk/cm³. W mleku pasteryzowanym zidentyfikowano obecność *Bacillus* sp., *Lactobacillus casei*. Również na podłożu M17 największa liczba bakterii wyrosła wiosną $1,9 \cdot 10^3$ jtk/cm³.

Obecność bakterii *Escherichia coli* (rozcieńczenie 10^{-1}) obserwowano na podłożu z żółcią i zielenią brylantową oraz na podłożu Endo zarówno podczas badania prób mleka pobranego zimą ($1,1 \cdot 10^1$ jtk/cm³) jak i wiosną ($1,3 \cdot 10^1$ jtk/cm³). W mleku nie stwierdzono obecności bakterii *Listeria monocytogenes*.

Grzyby występowały jedynie w próbach mleka w pobranych jesienią ($1,0 \cdot 10^1$ jtk/cm³). Były to *Sacharomyces cerevisiae*, *Cladosporium* sp.

Zanieczyszczenie powietrza bakteriami było w poszczególnych pomieszczeniach mleczarni dość duże, a skład gatunkowy zróżnicowany. Pomieszczenie w którym dokonywano odbioru surowca oraz hala produkcyjna w monitorowanej mleczarni stanowiły całość o różnych poziomach w stosunku do posadzki pomieszczeń. Największą liczbę bakterii ($1,5 \cdot 10^4$ jtk/m³) wykryto w tych pomieszczeniach w zimie.

Tabela 5. Analiza ilościowa zanieczyszczeń mikrobiologicznych
Table 5. Quantitative evaluation of microbiological contamination

Badany materiał	Podłoże hodowlane	Ogólna liczba drobnoustrojów			
		jesień	zima	wiosna	lato
Mleko surowe schłodzone	Agar 20°C	$2,3 \cdot 10^4$ [jtk/cm ³]	$1,3 \cdot 10^4$ [jtk/cm ³]	$2,7 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$2,1 \cdot 10^4$ [jtk/cm ³]
	Agar 30°C	$3,9 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$2,1 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$3,4 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$3,0 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]
	PalCam	nieobecne	nieobecne	nieobecne	nieobecne
	M-17	$9,4 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$8,3 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$1,2 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$6,9 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]
	Endo	$1,1 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$1,6 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$1,0 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$1,3 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]
	Z żółcią i zielenią brylantową – obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 10 ⁻¹	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 10 ⁻³	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 10 ⁻¹	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 10 ⁻¹
	Sabourauda z chloramfenikolem	$3,0 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$2,7 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$5,4 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$1,0 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]
Mleko pasteryzowane	Agar 20°C	nieobecne	$8,8 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$5,7 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	nieobecne
	Agar 30°C	$2,7 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]	$3,1 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$9,1 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$2,7 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]
	PalCam	nieobecne	nieobecne	nieobecne	nieobecne
	M-17	$1,3 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]	$5,1 \cdot 10^2$ [jtk/cm ³]	$1,9 \cdot 10^3$ [jtk/cm ³]	$1,0 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]
	Endo	nieobecne	$1,1 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]	$1,3 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]	nieobecne
	Z żółcią i zielenią brylantową – obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 0	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 10 ⁻¹	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 10 ⁻¹	Obecność <i>E. coli</i> w rozcieńczeniu 0
	Sabourauda z chloramfenikolem	$1,0 \cdot 10^1$ [jtk/cm ³]	0	0	0

Tabela 5. cd.
Table 5. cont.

Badany materiał	Podłoże hodowlane	Ogólna liczba drobnoustrojów			
		jesień	zima	wiosna	lato
Odbiór surowca Hala produkcyjna	Agar 20°C	$3,9 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$1,5 \cdot 10^4$ [jtk/m ³]	$1,5 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$4,5 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]
	Sabourauda z chloramfenikolem	$1,9 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$1,1 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$1,5 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$2,5 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]
Pakowalnia	Agar 20°C	$1,0 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$4,2 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]	$1,4 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$1,1 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]
	Sabourauda z chloramfenikolem	$2,1 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]	$2,8 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]	$1,4 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$1,9 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]
Magazyn	Agar 20°C	$2,1 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]	$5,0 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	$1,0 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]	$1,7 \cdot 10^2$ [jtk/m ³]
	Sabourauda z chloramfenikolem	0	$7,4 \cdot 10^3$ [jtk/m ³]	0	0

W pakowalni bakterie występowały najliczniej wiosną ($1,4 \cdot 10^3$ jtk/m³), a w magazynie w okresie zimowym ($5,0 \cdot 10^3$ jtk/m³). Przekroczone zatem zostały dopuszczalne wartości zanieczyszczeń powietrza pomieszczeń produkcyjnych, które wynoszą od $7,5 \cdot 10^2$ do $1,0 \cdot 10^7$ jtk/m³ (Górny 2004). Wśród mikroflory bakteryjnej dominowały *Micrococcus luteus*, *Bacillus sp.* (w pomieszczeniu do odbioru surowca i w hali produkcyjnej), *Aerococcus viridans* i *Micrococcus luteus* (w pakowalni) oraz *Aerococcus viridans*, *Micrococcus luteus* i *Bacillus sp.* w magazynie (tabela 6).

Zanieczyszczenie powietrza mikroflorą grzybową było najwyższe w magazynie w okresie zimy ($7,4 \cdot 10^3$ jtk/m³). W pomieszczeniu do odbioru surowca i w hali produkcyjnej skażenie powietrza kształtowało się w lecie na poziomie $2,5 \cdot 10^3$ jtk/m³. Było to grzyby z rodzaju *Botrytis sp.*, *Penicillium sp.* oraz *Cladosporium sp.* W pakowalni w okresie wiosny skażenie wynosiło $1,4 \cdot 10^3$ jtk/m³, a dominującą mikroflorę grzybową stanowiły *Penicillium sp.*, *Geotrichium sp.*, *Candida albicans*.

Tabela 6. Analiza jakościowa dominującej mikroflory bakteryjnej i grzybowej
Table 6. Qualitative evaluation of prevailing bacteria and fungi flora

Badany materiał	Skład jakościowy wyizolowanych drobnoustrojów			
	jesień	zima	wiosna	lato
Mleko surowe schłodzone	<i>Leuconostoc sp.</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Aerococcus viridians</i> <i>Streptococcus sanguinis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Cladosporium sp.</i>	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Cladosporium sp</i>	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Cladosporium sp</i>	<i>Leuconostoc sp.</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Aerococcus viridians</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Cladosporium sp.</i>
Mleko pasteryzowane	<i>Bacillus sp.</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Sacharomyces cerevisiae</i> <i>Cladosporium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus sp.</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus sp.</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Sacharomyces cerevisiae</i>
Odbiór surowca Hala produkcyjna	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Candida albicans</i> <i>Botrytis sp.</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Cladosporium sp.</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Penicillium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Cladosporium sp.</i>
Pakownia	<i>Aerococcus viridans</i> <i>Geotrichium sp.</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Geotrichium sp.</i> <i>Candida albicans</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Cladosporium sp.</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Geotrichium sp.</i> <i>Penicillium sp.</i>
Magazyn	<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Penicillium sp.</i>	<i>Bacillus sp..</i>	<i>Micrococcus luteus</i>

W powietrzu magazynu stwierdzono jedynie obecność *Penicillium sp.*, lecz w ilości przekraczającej poziom dopuszczalny dla pomieszczeń przemysłowych.

Badania wody czerpanej z ujęcia własnego monitorowanej mleczarni nie wykazały w badanych terminów zanieczyszczeń drobnoustrojami.

4. Dyskusja i wnioski

Wzrastająca świadomość klientów i konsumentów na temat bezpieczeństwa żywności sprawia, że priorytetem producentów jest skuteczne zapobieganie zagrożeniom i zachowanie jakości produkcji na jak najwyższym poziomie. Kontrola i ocena jakości handlowej artykułów mleczarskich ma istotne znaczenie nie tylko ze względu na dużą podaż i popyt tych produktów, których asortyment jest niezwykle bogaty, należy zwrócić uwagę również na to, że żywność ta stanowi idealne warunki do rozwoju mikroorganizmów, a zanieczyszczenie mleka może spowodować niekorzystne zmiany jakości jego produktów.

Otrzymywanie wartościowych produktów mlecznych o pożądanych właściwościach żywieniowych wiąże się z warunkami pozyskiwania oraz przetrzymywania surowca przed przerobem. Pierwszym etapem, który wpływa na jakość mleka jest jego udój. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że proces ten wpłynął w znacznym stopniu na jakość pobranego mleka. Najwyższe zanieczyszczenie mleka pobranego w gospodarstwie stwierdzono u krowy młodej w okresie jesiennym. Wartość ta była nieco wyższa od dopuszczalnej wartości cytowanych norm (100 tysięcy w 1 cm^3) wyniosła $1,1 \cdot 10^5$ jtk/ cm^3 . W pozostałych próbach badanego mleka ogólna liczba bakterii i grzybów była na poziomie dopuszczalnym. Jakość badanego mleka pomimo to była niezadawalająca, gdyż wśród zidentyfikowanych drobnoustrojów wystąpiły m.in. bakterie *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, których obecność jest niedopuszczalna w mleku surowym przeznaczonym do przerobu.

Gronkowce wytwarzają liczne zewnątrzkomórkowe toksyny i enzymy toksyczne odpowiedzialne za ich patogenność. Związkami odpowiedzialnymi za zatrucia pokarmowe są nukleaza (rozkłada kwasy nukleinowe), koagulaza (opłaszczając neutrofile fibryną chroni bakterie przed fagocytozą) oraz hemolizyna o właściwościach hemolitycznych. Źródłem obecności bakterii *Staphylococcus aureus* może być mleko od krów chorych na przewlekłe gronkowcowe zapalenie wymion – *mastitis*, a także niehigieniczny udój i zakażenie od osoby pobierającej. Biorąc pod uwagę fakt, iż enterotoksyny gronkowcowe wykazują wysoką ciepłooporność ich obecność w mleku może stać się przyczyną zanieczyszczenia mleka pasteryzowanego szczególnie w mleczarniach wykorzystujących proces pasteryzacji niskotemperaturowej [6]. W monitorowanym gospodarstwie

warunki higieny podczas poboru mleka nie były przestrzegane, co mogło być głównym powodem jego skażenia.

Ważnym czynnikiem, który decyduje o obecności mikroflory zanieczyszczającej w mleku są oprócz higieny udoju, stanu zdrowotnego krów, także sposób ich żywienia oraz warunki środowiskowe m.in. pora roku. W badanym mleku stwierdzono obecność bakterii *Escherichia coli*, najwyższą ich liczbę wykryto w okresie letnim w mleku krowy młodej. W paszy, którą skarmiano krowy w każdym z badanych terminów wykazano obecność *Escherichia coli* na poziomie 10^3 jtk/g, stąd można wnioskować, że na niską jakość mikrobiologiczną mleka (dopuszczalna liczba bakterii *Escherichia coli* w mleku wynosi $10 \div 100$ jtk/cm³) wpłynęła flora zanieczyszczająca paszę [11]. Bakterie te doskonale rozwijają się w mleku niedokładnie schłodzonym, a ponieważ mają zdolność rozkładania laktozy ich obecność może powodować gazowanie mleka.

Dane literaturowe podają, iż w mleku z okresu letniego zawartość tłuszczu jest najwyższa, co wpływa niekorzystnie na tempo namnażania się bakterii [9]. Fakt ten znajduje potwierdzenie w niniejszych badaniach, z których wynika, że największą liczbę bakterii izolowano z mleka w okresie jesieni, a najmniejszą zimą, co wiąże się z przechłodzeniem mleka i obniżeniem przeżywalności drobnoustrojów. Pomimo to w okresie tym liczba bakterii *Escherichia coli* nie zmieniła się. Prawdopodobnie obecność tego gatunku bakterii w paszy miała wpływ na jej obecność w mleku.

Występowanie w badanych próbkach mleka drożdży *Rhodotorula glutinis* oraz *Candida rugosa* jest prawdopodobnie wynikiem wtórnego zanieczyszczenia pochodzącego z powietrza lub od osoby pobierającej mleko. Ich obecność, pomimo niewielkich ilości (najwyższe $1.0 \cdot 10^2$ jtk/cm³ w mleku krowy młodej), może mieć bardzo niekorzystny wpływ na surowiec ze względu na możliwość zmian fizykochemicznych objawiających się gazowaniem, a także gorzkim lub alkoholowym smakiem [3].

Uzyskane wyniki badań mleka surowego z mleczarni oraz mleka pasteryzowanego wykazały, że liczba bakterii w poszczególnych porach roku nie przekraczała wartości z cytowanych norm (dopuszczalny poziom – $100\,000$ jtk/cm³). W każdym z terminów badań mleka surowego oraz w zimie i wiosną w mleku pasteryzowanym stwierdzono obecność *Escherichia coli*. Za najczęstszą przyczynę obecności bakterii z grupy *coli* w mleku surowym, oprócz zanieczyszczenia podczas jego pozyski-

wania oraz skarmiania skażoną paszą, uznaje się niedokładne schłodzenie mleka po pobraniu [11]. Natomiast obecność w badanym leku *Streptococcus sanguinis* wynika prawdopodobnie z nieprzestrzegania higieny skupu mleka, gdyż jest to drobnoustroj będący stałą florą fizjologiczną jamy ustnej, także u zdrowych ludzi.

Przetwarzanie mleka surowego ma na celu uzyskanie produktu o kilkudniowej lub kilkumiesięcznej trwałości. W monitorowanej mleczarni pobrano próbki mleka po pasteryzacji niskotemperaturowej. Zgodnie z Rozporządzeniem Rady WE Nr 2073/2005 określenie jakości mleka pasteryzowanego wymaga oznaczenia w nim bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* [4]. W badanych próbkach nie stwierdzono przekroczenia ogólnej liczby drobnoustrojów powyżej 10^5 jtk/cm³, ale zidentyfikowano w porcjach mleka pobranego zimą i wiosną bakterie *Escherichia coli*. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne po pasteryzacji są najczęściej spowodowane bądź nieprawidłowo dobranymi parametrami tego procesu, bądź nieszczelnościami w momencie rozlewu mleka do opakowań jednostkowych. Z innych zagrożeń mogących wpłynąć na jakość mleka są trudne do mycia elementy budowy maszyn rozlewająco – pąkujących i biofilm, który się tworzy na złączach, uszczelkach [1]. W mleczarni zaobserwowano nieszczelności rurki wylewowej z maszyny pakującej, przypuszczalnie miejsca stanowiącego źródło skażenia produktu zidentyfikowanymi drobnoustrojami.

W zakładach produkujących żywność zasady higieny pracy są bardzo często zaniedbywane. Z powodu braku finansów na modernizację zakładów dochodzi do wykorzystywania pomieszczeń w sposób niezgodny z ich przeznaczeniem. Wyniki badań wykazały wysoki i przekraczający wartość krytyczną ($> 1,0 \cdot 10^2$ jtk/m³) poziom zanieczyszczenia powietrza w mleczarni (każdy dział), zarówno grzybami jak i bakteriami. W okresie jesiennym i wiosennym największą liczbę grzybów wykryto przy odbiorze surowca ($1,9 \cdot 10^3$ jtk/m³, $1,5 \cdot 10^3$ jtk/m³), a w zimowym w magazynie ($7,4 \cdot 10^3$ jtk/m³). Tak wysoki poziom skażenia powietrza mógł spowodować reinfekcję mleka pasteryzowanego w pierwszym terminie badań, które zawierało $1,0 \cdot 10^1$ jtk/ml grzybów pleśniowych z rodzaju *Cladosporium*. Pleśnie te przyczyniają się do powstania wad mleka obniżając ich jakość, trwałość i smak. Przyczyną wysokiego poziomu zanieczyszczenia powietrza w monitorowanym zakładzie był niesprawny system wentylacji, poddawany w trakcie badań naprawie, stąd

uchwycone zanieczyszczenie potwierdzało konieczność interwencji pionu technicznego [5].

Zwrócono również uwagę na fakt, iż w zakładzie nie są przestrzegane, podstawowe zasady GMP i GHP czyli unikanie krzyżowania się dróg „brudnych” i „czystych” materiałów oraz osób. W monitorowanej mleczarni połączono miejsce odbioru surowca z halą produkcyjną, a „barierę” stanowiła jedynie różnica poziomów. Miejsce z tankami do mleka surowego znajdowało się około dwóch metrów ponad halą produkcyjną. Podczas poboru prób zauważono, że mleko po pasteryzacji było przetrzymywane w tankach znajdujących się obok zbiorników z mlekiem surowym, co też mogło powodować zanieczyszczenia mleka po pasteryzacji.

Podsumowując przeprowadzone badania należy stwierdzić, iż skażenie bakteryjne w surowym mleku z mleczarni jest dużo niższe niż w próbkach mleka z gospodarstwa. Prawdopodobną przyczyną tego jest przede wszystkim przyjmowanie surowca od sprawdzonych dostawców oraz jego przechowywanie po odbiorze w temperaturze do 6°C mleka. Niepokoi natomiast obecność *Escherichia coli* w mleku pasteryzowanym, pomimo zidentyfikowania w nim bakterii *Lactobacillus casei*, które są naturalnymi antagonistami pałeczek okrężnicy. Prawdopodobnie jednak mleko po pasteryzacji leżało zbyt krótko, by ich liczba zwiększyła się do poziomu, w którym komórki *Escherichia coli* są niszczone. Podczas obserwacji poczynionych w trakcie badań, zwrócono uwagę na fakt, iż elementy tanków do przechowywania w miejscach wylewów mają nieszczelności zagrażające czystości, czyli właśnie kontakt produktu z zanieczyszczoną powierzchnią linii technologicznej mógł mieć wpływ na zaistniałe skażenie.

W oparciu o uzyskane wyniki badań można wysnuć wnioski wskazujące, że w celu utrzymania jak najlepszej czystości mleka pasteryzowanego należy kontrolować miejsca odbioru surowca, pasteryzacji i chłodzenia, a także pakowania. W każdym z tych punktów wyizolowano liczbę mikroorganizmów przekraczającą wartości dozwolone cytowanych norm, zidentyfikowano również drobnoustroje wpływające na trwałość spożywczą mleka (*Escherichia coli*, *Penicillium sp.*, *Geotrichium sp.*, *Candida albicans*).

O jakości mleka i produktów mlecznych decyduje bardzo wiele czynników, niektóre z nich starano się w powyższym artykule zaprezentować. Z punktu widzenia konsumenta mleko krowie będące naturalnym

źródłem wysokowartościowego białka, składników mineralnych i witamin ma być smaczne i bezpieczne, czyli wolne od zagrożeń fizycznych, chemicznych i biologicznych. Zadaniem mikrobiologów jest wskazywanie miejsc szczególnie narażonych na możliwość skażenia drobnoustrojami. Producenci żywności, uwzględniając wyniki badań i oczekiwania konsumentów, zobowiązani są tworzyć produkty o jak najwyższej jakości, wolne od drobnoustrojów chorobotwórczych, które obniżają ich trwałość.

Literatura

1. **Bogdańska-Zaręba H., Jakubczyk E.:** *Jakość mleka spożywczego*. Przegląd mleczarski 2009 nr 6, s. 5÷6.
2. Codex Alimentarius CAC/RCP 1-1996, Wersja 4-2003, PN-EN ISO 22000:2005. *System zarządzania bezpieczeństwem żywności. Wymagania dla każdej organizacji należącej do łańcucha żywnościowego*.
3. **Drożdż I., Makarewicz M.:** *Zakażenia mikrobiologiczne w przemyśle spożywczym*, Laboratorium 2008, nr 5 s. 24÷27.
4. **Górna J.:** *Istota wymagań standardu ISO 22000:2005 w aspekcie zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego mleka*, Journal of Agribusiness and Rural Development 3(9) 2008 s. 77÷87.
5. **Górny R.L.:** *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych*. Podstawy i metody oceny środowiska pracy 2004, nr 3 (41), s. 17÷39.
6. **Nowak A., Piotrowska M.:** *Staphylococcus aureus i enterotoksyny gronkowcowe – zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności*, Przegląd mleczarski 2007 nr 8 s. 6÷7.
7. **Pelczyńska E., Paszkiewicz W.:** *Jakość higieniczna mleka surowego z terenu wschodniej Polski w tzw. okresie przejściowym.*, Medycyna Weterynaryjna 2007 63(12), s. 1573÷1575.
8. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 o bezpieczeństwie żywności i żywienia. Dz. U. 2006 NR 171 poz. 1225.
9. **Zaręba D., Ziarno M., Czapska M., Bednarczyk M.:** *Czynniki warunkujące przeżywalność mikroflory jogurtów i biojogurtów*. Przegląd mleczarski 2008 nr 10, s.8÷9.
10. **Ziajka S.:** *Mleczarstwo zagadnienia wybrane, Część 2*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. Olsztyn 2008.
www.uwm.edu.pl/wnz/v3/fck_files/file/mikrobiologia/MZTZrokII-cw9.pdf
11. **Ziarno M., Czapska M.:** *Skład jakościowy mikroflory mleka krowiego surowego i pasteryzowanego*, Przegląd Mleczarski 2008, nr 5, s. 4÷8.

12. PN-EN ISO 707.(Mleko i przetwory mleczne. Wytyczne do pobierania próbek).
13. PN-EN ISO 8261 (Mleko i przetwory mleczne. Ogólne zasady przygotowania próbek, zawiesiny wyjściowej i dziesięciokrotnych rozcieńczeń do badań mikrobiologicznych).
14. PN-A-86003 (Mleko surowe do skupu).
15. PE-EN-ISO-7278:2008 (Mikrobiologia żywności i pasz. Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych).
16. PN-89-Z-04008-08 (Ochrona czystości powietrza. Pobieranie próbek. Pobieranie próbek powietrza atmosferycznego do badań mikrobiologicznych metodą aspiracyjną i sedymentacyjną).
17. PN-75 C-04615/07 (Woda i ścieki. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie bakterii grupy coli typu kałowego metodą fermentacyjną probówkową).
18. PN-75/C-04620/02 (Woda i ścieki. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby bakterii metodą płytkową).

Potential Sources of Milk Contamination Influencing its Quality for Consumption

Abstract

The paper presents analysis of quality for consumption of a raw milk received on a farm as well as technological aspects of pasteurized milk production in a dairy. For that purpose a microbial purity of a fodder, of a “directly from a cow” milk, of raw, chilled milk, of pasteurized milk from a dairy, of water and air in dairy was investigated. The investigations were carried out for occurrence of bacteria and fungi. Results of investigations show that during production of pasteurized milk critical points of control are located at following production stages: reception of raw material, pasteurization and chilling and packing. Those are the stages of a production process which essentially influence the quality of final product.

From a consumer perspective of cow's milk is a natural source of high-value proteins, minerals and vitamins. It has to be tasty and safe, which means free from physical, chemical and biological threats. Microbiologists task is to indicate the locations which are particularly vulnerable to the possibility of microbial contamination. Food producers, taking into account the results of research and consumer expectations, are required to create products of the highest quality, free from pathogenic microorganisms, which reduce their durability.

