

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Zemědělská fakulta**



**KONTAMINACE SYROVÉHO
KRAVSKÉHO MLÉKA
PSYCHROTRFNÍMI
MIKROORGANISMY**

Vypracovala: Kristýna Líbalová

Vedoucí bakalářské práce: MVDr. Růžena Cempírková, CSc.

školní rok 2006/2007

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

30.4.2007

Kristýna Líbalová

Dovoluji si na tomto místě poděkovat MVDr. Růženě Cempírkové, CSc.
za odborné a laskavé vedení v procesu zpracování této práce.

Bakalářská práce vychází z řešeného grantu MSM 6007665806 - Trvale udržitelné způsoby zemědělského hospodaření v podhorských a horských oblastech zaměřené na vytváření souladu mezi jejich produkčním a mimoprodukčním uplatněním.

Anotation

This thesis deals with the handling or storage of raw cow's milk during which the recommended temperature is exceeded results in an increase of psychrotrophic bacteria count which can reach to the mesophilic bacteria count. The similar percentages come to lipolytic and proteolytic psychrotrophic bacteria which produce heat-stable enzymes posing the most serious danger to exacting technological procedures. It analyses relatively close relations were observed between the groups psychrotrophic bacteria and proteolytic psychrotrophic bacteria and the groups psychrotrophic bacteria and lipolytic psychrotrophic bacteria. The seasonal dynamism of psychrotrophic bacteria and mesophilic bacteria were studied in a set of microbiologic data in 2005 and 2006.

Keywords: milk; psychrotrophic bacteria count; proteolytic bacteria count; lipolytic bacteria count; seasonal dynamism of microorganisms

Anotace

Tato práce se zabývá možnými příčinami pomnožení hlavně psychrotrofních mikroorganismů při manipulaci nebo úložném procesu syrového kravského mléka. Jejich počet může dosahovat počtu mesofilních mikroorganismů zvláště při nedodržení úchovných teplot skladovaného mléka. Podobné procentuální zastoupení pak mají lipolytické a proteolytické psychrotrofní bakterie, které svou schopností tvořit termostabilní lytické enzymy představují největší riziko při náročnějších technologiích zpracování mléka. Analyzuje poměrně těsné vztahy mezi celkovým počtem psychrotrofních mikroorganismů a proteolytickými i lipolytickými psychrotrofními bakteriemi a statisticky hodnotí sezonní vývoj zastoupení celkového počtu psychrotrofních a mesofilních mikroorganismů na souboru dat v letech 2005 a 2006.

Klíčová slova: mléko; celkový počet psychrotrofních mikroorganismů; počet proteolytických bakterií; počet lipolytických bakterií; sezonní dynamika mikroorganismů

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	3
2.1. Hodnocení jakosti syrového kravského mléka	
- legislativa.....	3
2.2. Biologické a chemické složení mléka.....	3
2.3. Tvorba mléka.....	4
2.4. Zdroje kontaminace mléka.....	4
2.4.1. Primární kontaminace mléka.....	5
2.4.2. Sekundární kontaminace mléka.....	5
2.5. Mikrobiologické ukazatele kvality syrového mléka.....	7
2.6. Ukazatele hygienické jakosti syrového kravského mléka... 	9
2.6.1. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů.....	9
2.6.2. Počet somatických buněk.....	10
2.6.3. Obsah reziduí inhibičních látek.....	10
2.6.4. Bod mrznutí.....	11
2.6.5. Koliformní bakterie.....	11
2.6.6. Termorezistentní bakterie.....	11
2.6.7. Psychrotrofní mikroorganismy.....	12
2.6.8. Enterokoky.....	12
2.6.9. Kvasinky a plísně.....	12
2.7. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů.....	13
2.8. Enzymy obsažené v mléce.....	14
2.8.1. Enzymy štěpící bílkoviny.....	15
2.8.2. Enzymy štěpící tuky.....	15
2.9. Faktory ovlivňující mikrobiální kontaminaci mléka.....	16
2.9.1. Technologie dojení.....	16
2.9.2. Toaleta mléčné žlázy.....	16
2.9.3. Sanitace dojícího zařízení.....	19
3. MATERIÁL.....	20
4. METODIKA.....	27
5. VÝSLEDKY.....	28
5.1. Charakteristika hodnot mikrobiologických ukazatelů	

u sledovaných chovů.....	28
5.2. Vztahy mezi fyziologicko-technologickými skupinami mikroorganismů.....	32
5.3. Sezónní dynamika hodnot mikrobiologických ukazatelů.	34
6. DISKUZE.....	40
7. ZÁVĚR.....	42
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	44
9. PŘÍLOHY.....	52

1. ÚVOD

Výroba kvalitního a zdravotně nezávadného mléka a mléčných výrobků se stala v dnešní době hlavní prioritou zemědělské prvovýroby a mlékárenského průmyslu.

Hlavním předpokladem pro výrobu kvalitních mlékárenských výrobků je výborná hygienická jakost a nezávadnost syrového kravského mléka.

Vzhledem k současnému poklesu objemu výroby a nákupu mléka pro zpracování je špičková kvalita dodávaného mléka nezbytná. Jakost se tak stala jedním z hlavních kritérií v boji o získání zákazníka i podílu na trhu. Výroba hygienicky nezávadného, jakostního a dobře zpracovatelného mléka klade na chovatele potažmo majitele dojníc vysoké požadavky a nároky, a to od ustájení zvířat, péče o dojnice, krmení a výživu až po získávání a skladování mléka a dodávku do mlékárny.

O trvanlivosti a jakosti mléka rozhoduje přítomnost mikroorganismů v mléce, jejichž počet a zastoupení představují jeden z hlavních ukazatelů hodnocení kvality mléka. Kvalita mléka je ovlivněna zejména technickým, technologickým a materiálním vybavením jednotlivých producentů mléka. Hlavními hygienickými znaky mikrobiologické jakosti mléka jsou celkový počet mikroorganismů a počet somatických buněk. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů patří mezi doplňkové mikrobiologické znaky jakosti. Skupina psychrotrofních mikroorganismů je závažná hlavně z technologického hlediska, neboť přežívá a množí se i při nízkých skladovacích teplotách ještě nezpracovaného mléka. Psychrotrofní mikroorganismy produkují termostabilní proteolytické a lipolytické enzymy. Tyto enzymy jsou schopné odolávat vysokým teplotám používaným při zpracování mléka a následně pak mohou znehodnocovat finální mléčné výrobky. Kvalita syrového kravského mléka je ovlivněna mnoha faktory. Především to jsou zoohygienické podmínky chovu, hygiena dojení, celkový zdravotní stav mléčné žlázy, komplexní

prevence vzniku a šíření onemocnění mléčné žlázy a v neposlední řadě také přístup jednotlivých ošetřovatelů a zootechniků.

Cílem této práce je analýza faktorů, které se podílejí na zvýšení počtu psychrotrofních mikroorganismů v syrovém kravském mléce v současných chovatelských podmínkách, v chovech dojnic s rozdílnou technologií a determinace nejzávažnějších nedostatků a zároveň návrh opatření, jež by negativní vlivy těchto faktorů omezil na minimum.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Hodnocení jakosti syrového kravského mléka – legislativa

Zákon číslo 166/1999 Sb., o veterinární péči a změně souvisejících zákonů; vyhláška 203/2003 Sb., o veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky; vyhláška č. 638/2004 Sb., kterou se mění vyhláška č. 200/2003 Sb., o veterinárních požadavcích na vaječné výrobky, a vyhláška č. 203/2003 Sb., o veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky; vyhláška č. 639/2004 Sb., kterou se mění vyhláška č. 375/2003 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, a o veterinárních požadavcích na živočišné produkty. Tyto vyhlášky byly v platnosti v době řešení mé bakalářské práce, přičemž dochází k neustálým změnám. Dále to jsou norma ČSN 570529 Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování, ČSN 569601 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe - Mléko a mléčné výrobky, ČSN EN ISO 13969 Mléko a mléčné výrobky - Směrnice pro standardizovaný popis mikrobiologických inhibičních zkoušek.

2.2. Biologické a chemické složení mléka

Mléko je produkt mléčné žlázy savců. Je složeno z vody, mléčného tuku a mléčného cukru-laktózy. Mléko má vysokou nutriční hodnotu, obsahuje vápník, fosfor, draslík, hořčík, jód, zinek, karotenoidy, vitaminy A, D, E, výhodné zastoupení aminokyselin v bílkovinách-lysin, tyrosin, fenylalanin, leucin, kyselina glutamová (HLÁSNÝ, 1996).

Na biologickém a chemickém složení a množství mléka se podílí různé faktory:

- a) plemenné - druh, plemeno, individualita,
- b) fyziologické - laktační stádium, pohlavní funkce, zdravotní stav,

- c) výživové - druh krmiva a jeho kvalita,
- d) prostředí - půdní, hygienické a klimatické podmínky, roční období.

Ze všech užitkových zvířat dojnice nejefektivněji využívá krmivo na tvorbu mléka (MARENDIAK a kol., 1987).

2.3 Tvorba mléka

Mléko se tvoří v mléčné žláze, která je uložena v tříselné krajině a je rozdělena na pravou a levou polovinu a tato je rozdělena na přední a zadní čtvrtě. Mléčná žláza (mamma) se skládá ze žláznatého parenchymu a závěsného aparátu. Jednotky sekretující mléko jsou sekreční alveoly, které ústí do nitrolalůčkového vývodu, který odvádí mléko do mlékojemu uvnitř žlázy a do mlékojemu uvnitř struku. Mléko ze struku vychází strukovým kanálkem, který je těsně uzavřen svalovým svěračem (JÍLEK, 1996). Tvorba mléka souvisí s ukončením gravidity a odchodem lůžka z těla matky a to podmiňuje nástup laktace v důsledku působení hormonu prolaktinu. V sekrečních buňkách se uskutečňuje přeměna živin z krmiva na složky mléka. V těchto buňkách se tvoří veškeré složky mléka, mléčný tuk, laktóza i bílkoviny. Voda se do mléka dostává v první fázi tvorby z krevní plazmy. Tuk se tvoří z nízkomolekulárních mastných kyselin, které vznikají při fermentačních procesech v batoru. Hlavní mléčná bílkovina - kasein se tvoří z glukoproteinových frakcí globulinů, aminokyselin a kyseliny fosforečné. Mléčný cukr - laktóza je produkt sekrečního epitelu a syntetizuje se z glukózy a galaktózy (GRIEGER a kol., 1990).

2.4 Zdroje kontaminace mléka

Hlavní zdroje kontaminace lze rozdělit na primární a sekundární. LUKÁŠOVÁ (1997) uvádí, že kontaminace mléka z vnějšího prostředí je mnohem častější a rozsáhlejší než kontaminace primární z mléčné žlázy.

2.4.1. Primární kontaminace mléka

Zdrojem primární kontaminace mléka je mléčná žláza dojnice, kdy se do mléka dostávají především patogenní mikroorganismy při klinických a subklinických mastitidách (LUKÁŠOVÁ, 1997).

Uvnitř vemene jsou vždy obsaženy bakterie, které tam pronikají strukovými kanálky z prostředí stáje. Část mikroorganismů odumře, ale určité množství těchto mikroorganismů ve vemeni si zachová svoji vegetativní formu. Denzita mikroorganismů je závislá na celkovém zdravotním stavu dojnic a na jejich imunitních schopnostech. Pokud je zdravotní stav dojnic výborný je počet (denzita) primární mikroflóry zanedbatelná.

Ihned po nadojení je nutné věnovat mléku náležitou pozornost tak, aby se zabránilo několikanásobnému rozmnožení počtu bakterií. První dva až tři stříky je nutno zachytit do zvláštní nádoby, za účelem posouzení charakteru mléčného sekretu, ale v žádném případě ne na zem, protože případné patogenní mikroorganismy by ohrozily další dojnice (VEČEŘOVÁ, 1997).

Podle ORTEGA-CERILLA (1998) jsou nejčastějšími kontaminanty kravského mléka látky organického původu. Jedná se především o antibiotika, bakterie, toxiny a mykotoxiny. Tyto látky kontaminují mléko a mléčné produkty. Jsou nebezpečné z hlediska lidské výživy, protože jejich zkonsumování může vyvolat zdravotní problémy. Dále je jejich výskyt nežádoucí z hlediska výroby mléčných výrobků, kde mohou narušit technologii výroby. Produkty jsou analyzovány a jsou určovány celkové počty koliformních a mezofilních bakterií, dále je sledován případný výskyt *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a bakterie rodu *Salmonella*.

2.4.2. Sekundární kontaminace mléka

Mléko před dojením obsahuje u zdravých dojnic minimum mikroorganismů a k jeho mikrobiální kontaminaci dochází až při dojení a

další manipulaci s mlékem. Tato sekundární kontaminace z vnějšího prostředí je velmi závažným problémem (FICNAR a kol.,1997).

Tělo dojnice - riziko sekundární kontaminace mléka stoupá se stupněm znečištěním dojnice. Kůže a povrch těla je sídlem bakterií mléčného kvašení. Od čistých dojnic se získává mléko mikrobiologicky jakostnější než od dojnic znečištěných. Největší vliv na jakost mléka má čistota vemene, které dosáhneme správně prováděnou toaletou mléčné žlázy před každým dojením (LUKÁŠOVÁ, 1997). Součástí toalety mléčné žlázy je i dezinfekce struků před dojením - predipping a po dojení - postdipping.

Účinné přípravky na dezinfekci struků by měly splňovat tyto vlastnosti:

- zabránit pronikání bakterií do mléčné žlázy s následnou mastitidou,
- udržet nebo zlepšit stav pokožky struku,
- být chemicky stabilní,
- rezidua nesmí být nebezpečná a nesmí se dostávat do mléka.

Přípravky na dezinfekci struků jsou založeny:

- na bázi jódu, chloru, chlorhexidinu,
- na bázi alkoholu,
- na bázi lauricidinu, mastných kyselinách a jejich derivátech,
- viskózní a bariérové přípravky.

Používají se takové prostředky, které nedráždí pokožku a nemají nepříznivý vliv na jakost nadojeného mléka (ZOUREK, 1999).

Ruce dojiče - jsou též možnou příčinou kontaminace, protože na povrchu kůže a za nehty je obsaženo velké množství mikrobů. Důležitá je hygiena rukou.

Chlévská mrva a podestýlka - mikrobi v nich obsažené se dostávají na povrch vemene a odtud do mléka. Pro přežívání mikrobů

jsou nezbytné tři podmínky: vlhkost, teplota a dostatek živin. Mohou se proto nadměrně rozmnožovat zvláště v podestýlce znečištěné výkaly a močí (VEČEŘOVÁ, 1997).

Dojící zařízení - hlavním zdrojem kontaminace jsou především obtížněji čistitelné části a gumové a plastové součásti (hadice, strukové návlečky). I nepatrné zbytky mléka, které zůstávají v dojícím zařízení jsou dobrou živnou půdou pro rozmnožování bakterií. Účinek čistících a dezinfekčních procesů je závislý na dodržování koncentrace a teploty sanitálních prostředků, na době a rychlosti cirkulace (LUKÁŠOVÁ, 1997).

Dojící zařízení působí jako pasivní vektor přenosu původců onemocnění mléčné žlázy tím, že se při dojení dostává do kontaktu s dojenými zvířaty. Aktivně se pak dojící zařízení podílí na tom, že tkáň mléčné žlázy a struků je denně atakována účinky mechanického namáhání. To za určitých okolností vede ke snížení odolnosti tkáně a ke vzniku onemocnění (OLEJNÍK, 2000).

Příprava struků a vemene před dojením má dvojí význam - stimuluje uvolňování mléka a redukuje počet patogenních mikroorganismů na kůži. Dobrá příprava snižuje kontaminaci mléka, zkracuje dobu dojení a dodojování, zvyšuje mléčnou užitkovost a snižuje výskyt mastitid způsobených mikroorganismy (VEČEŘOVÁ, 1997).

2.5 Mikrobiologické ukazatele kvality syrového mléka

Mléko je velmi vhodným prostředím a živným médiem pro rozvoj různých mikroorganismů.

Zároveň mléko vykazuje baktericidní činnost. Určitou dobu po nadojení se bakterie nerozmnožují a často jejich množství v této době spíše klesá. Tento časový úsek se nazývá baktericidní fází mléka. Jedním z výkladů tohoto jevu je, že mikroorganismy vniklé do mléka jsou

vytvořenými protilátkami potlačovány. Z protilátek působí nejvíc aglutininy a lakteniny L1 a L2. Baktericidní fáze mléka je velmi důležitá z praktického hlediska, neboť pokud má mléko baktericidní vlastnosti, nedochází k jeho kvašení. Délka baktericidní fáze mléka závisí na rychlosti a hloubce vychlazení mléka po nadojení. Čerstvě nadojené mléko ihned vychlazené si udržuje poměrně dlouho svou původní jakost. HANUŠ, URBANOVÁ a VYLETĚLOVÁ (1999) uvádějí, že počet psychrotrofních mikroorganismů se výrazně nemění při úchovné teplotě 4°C po dobu 30 hodin.

Mléko získané ve stejnou dobu, ale za jiných hygienických podmínek se podstatně liší délkou baktericidní fáze. Mléko čistě nadojené s nízkým obsahem mikroorganismů zůstává čerstvé déle, než mléko s vysokým počtem mikroorganismů.

Účinnost baktericidní fáze mléka závisí též na sezónních vlivech. Doba trvání baktericidní fáze závisí na teplotě mléka. Nejúčinnější je při teplotě asi 38°C a trvá až 3 hodiny. Snižováním teploty účinnost klesá, ale trvá déle. Při nemocech mléčné žlázy bývá baktericidní fáze účinnější vlivem ochranných látek, které tělo dojnice produkuje.

Délka baktericidní fáze závisí na těchto hlavních činitelích:

- rychlosti vychlazení mléka (čím rychleji je mléko po nadojení vychlazeno, tím delší je účinek baktericidní fáze mléka),
- teplotě vychlazeného mléka (čím nižší teplota, tím delší účinek),
- stupni mikrobiálního znečištění (čím méně je mléko mikrobiálně znečištěno, tím déle si zachovává baktericidní vlastnosti),
- individualitě dojnice (KRATOCHVÍL, 1985).

2.6. Ukazatele hygienické jakosti syrového kravského mléka

Základní jakostní znaky:

- Celkový počet mezofilních mikroorganismů
- Počet somatických buněk
- Obsah inhibičních látek
- Bod mrznutí

Doplňkové jakostní znaky:

- Počet koliformních bakterií
- Počet termorezistentních bakterií
- Počet psychrotrofních mikroorganismů
- Počet sporotvorných anaerobních bakterií

Dále přítomnost a počty ještě několik dalších mikroorganismů a látek.

2.6.1. Celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM)

Hodnota CPM charakterizuje celkovou hygienicko-sanitační úroveň získávání mléka. Zdrojem mezofilních mikroorganismů v mléce může být jak infikovaná mléčná žláza, tak i kontaminované povrchy, které během dojení a skladování mléka přijdou do styku s mlékem (DOLEŽAL a kol., 2000).

Mezi hlavní zdroje kontaminace mléka mezofilními mikroorganismy patří zejména špatně sanitované chladicí zařízení (až 90%), případně nekvalitní toaleta vemene před dojením (VYLETĚLOVÁ, 1998). CPM se určuje jako počet živých mikroorganismů v jednom ml mléka. Jejich růstové optimum je při teplotě 30°C. Směrnice EEC 92/46 a vyhláška číslo 203/2003 Sb. vyžadují pro mléko standardní kvality $CPM < 100 \text{ tis. CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$. Mléko musí být zchlazeno na 4 až 8°C při denním a na 4 až 6°C při obdenním svozu do dvou hodin po nadojení. I při dodržení předepsaných teplot lze

očekávat nárůst CPM na $3 \cdot 10^4$, v některých případech až $7 \cdot 10^7$ CFU · ml⁻¹ za 24 hodin (DOLEŽAL a kol., 2000).

Hodnota CPM v syrovém kravském mléce udává počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů. Běžné jsou zvláště různé druhy bakterií rodu *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*. Z mléčných bakterií se často vyskytují bakterie rodu *Lactococcus* a *Lactobacillus*, dále některé druhy aktinomycet a z plísní nejčastěji *Geotrichum* a *Candidum*. V přírodním prostředí jsou tyto mikroorganismy rozšířeny v půdě, ve vodě i v ovzduší, v prvovýrobě především v krmivech a ve hnoji. Jejichž zvýšený počet v mléce signalizuje nevyhovující sanitální režim při získávání, sběru, uchovávání a svozu mléka (HAVLOVÁ, JIČÍNSKÁ, HRABOVÁ, 1993).

2.6.2. Počet somatických buněk (PSB)

PSB je suma jaderných buněčných útvarů v mléce. Somatické buňky jsou jednoduše buňky zvířecího těla přítomné v nízkých hladinách v normálním mléce. Většina somatických buněk jsou leukocyty a některé buňky ze sekreční tkáně vemene (RICE a kol., 1999).

V podstatě jde o buňky zánětu, jimiž se makroorganismus brání proti infekcím a napravuje poškozené tkáně (BROIDE in SLÁDEK, RYŠÁNEK, 1998). Hygienický limit pro PSB je ≤ 400000 CFU · ml⁻¹.

2.6.3. Obsah reziduí inhibičních látek (RIL)

Výskyt reziduí inhibičních látek v surovinách a potravinách živočišného původu představuje zdravotní riziko pro spotřebitele, přináší technologické problémy ve výrobě potravin a má negativní dopad na životní prostředí. Pod pojmem inhibiční látka rozumíme látky, které svými baktericidními, případně bakteriostatickými účinky znesnadňují nebo úplně znemožňují zpracování mléka na mléčné výrobky, při jejichž výrobě se používají čisté mlékařské kultury. Mohou to být např. rezidua

antibiotik, sulfonamidů, zbytky čistících a desinfekčních látek, pesticidy, insekticidy pocházející z krmiva.

2.6.4. Bod mrznutí (BM)

Bod mrznutí syrového bazénového kravského mléka je téměř konstantní hodnotou a bod mrznutí celého cisternového mléka je užíván ke zjištění, zda nebyla k mléku přidána voda (SLAGHUIS, 2001). Hodnota bodu mrznutí syrového mléka je podle ROUBALA a kol. (2004) – 0,515°C. Nadojené mléko nesmí mít bod mrznutí vyšší než mínus 0,520°C (638/2004 Sb.).

2.6.5. Koliformní bakterie (KB)

Přítomnost koliformních bakterií indikuje fekální znečištění mléka. Hlavním představitelem koliformních bakterií je *Escherichia coli*, teplotně tolerantní bakterie s optimálním růstem při teplotě 37°C (VYLETĚLOVÁ, HANUŠ, 2000). KB jsou doplňkový kvalitativní znak. Stanoví se rovněž kultivačně. Většina zemí však KB nestanovuje (DOLEŽAL a kol., 2000). Nedostatky v hygieně stájového prostředí jsou nejčastější příčinou fekální kontaminace mléka. Hygienický limit pro KB je $\leq 1000 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ (ČSN 570529).

2.6.6. Termorezistentní bakterie (TRM)

Mezi termorezistentní bakterie se řadí ty druhy bakterií, které jsou odolné vůči vysokým teplotám (60 – 80°C) (GRIEGER a kol., 1990). Vyskytují se v prostředí výroby (hnůj, rostlinné krmivo) a pro mléko nejsou jako kontaminanty důležité (vzhledem ke své růstové náročnosti) (VYLETĚLOVÁ, HANUŠ, 2000). Termorezistentní bakterie jsou schopné tvořit klidová odolná stádia (spory), ve kterých přežijí nepříznivé podmínky. Jejich technologická nebezpečnost spočívá ve skutečnosti, že jejich vegetativní formy vylučují termostabilní lipázy a

proteázy, které pak degradují tukovou a bílkovinnou složku mléčných výrobků za vzniku senzorických vad a dietetických rizik pro konzumenta (tvorba toxinů, DOLEŽAL a kol., 2000).

Pasterizaci přežívají např. *Lactococcus thermophilus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus faecalis*, *Microbacterium lacticum*. Při sledování počtu mikroorganismů, které přežili pasterizační teploty je zřejmé, že čím vyšší počet mikroorganismů před pasterizací, tím je vyšší počet mikroorganismů které pasterizaci přežily (HEJLOVÁ, 1997). Hygienický limit pro TRM je $\leq 2000 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ (ČSN 570529).

2.6.7. Psychrotrofní mikroorganismy (PTM)

Podle VYLETĚLOVÉ (1998) jsou psychrotrofní mikroorganismy definovány schopností růstu při teplotách chladového uložení (pod 7°C), aniž to představuje jejich teplotní růstové optimum.

2.6.8. Enterokoky

Vyskytují se v trávicím ústrojí, v krmivu, na dojícím zařízení a na rostlinách. Jedná se o indikátory nedostatečné hygieny a sanitace dojícího zařízení. Patří sem druhy *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus avium* a *Streptococcus gallinarum* (GRIEGER a kol., 1990). *Streptococcus dysgalactiae ssp. dysgalactiae* je zodpovědný za záněty mléčné žlázy dojnice (EUZEBY, 1999).

2.6.9. Kvasinky a plísňe

V mléku a na povrchu mléčných produktů se často vyvíjí početné druhy plísní. A to jednak ze skupiny *Fungi imperfecti*, jednak plísní tvořící spóry z třídy *Eumycetes* a *Phycomycetes* (PIJANOWSKI, 1977). Negativní působení některých druhů těchto mikroorganismů spočívá v tom, že produkují toxiny a ty vyvolávají mykotoxikózy u lidí. Dále jsou nežádoucí z technologického hlediska, protože štěpí hlavní složky

mléka a to vyvolává následně kažení mléčných výrobků (GRIEGER a kol., 1990).

2.7. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů, PTM

Psychrotrofní mikroorganismy rostou při teplotách $\leq 7^{\circ}\text{C}$, ačkoliv jejich optimální růstová teplota může být vyšší (NIELSEN, 2002). Během chladového uskladnění mléka do doby jeho zpracování se stávají dominantní mikroflórou a mohou pak tvořit 79 až 100 % celkové bakteriální mikroflóry (CELESTINO a kol., 1996; VYLETĚLOVÁ a kol., 2000). Vzhledem k tomu, že nízké teploty neinhibují tvorbu a činnost enzymatických systémů proteázy a lipáz, může dojít ke změnám struktur bílkovin a tuků, zvláště pak po delší době skladování suroviny a produktů (LAW, 1979; HUŠEK, 1988; URBANOVÁ, 1993).

URBANOVÁ, VYHNÁLKOVÁ a MALÍKOVÁ (1993) uvádějí, že hodnoty PTM (celkový počet psychrotrofních mikroorganismů) mohou být stejně jako CPM (celkový počet mikroorganismů) kritériem pro zařazení syrového mléka do jakostní třídy. Vzhledem k používané chladicí technice při sběru, svozu, skladování a distribuci, kdy jsou příznivé podmínky pro růst a pomnožení především psychrotrofní mikroflóry, mělo by být kritérium jejich úrovně prioritní. ČNS 570529 stanovuje hygienický limit pro PTM do 50 tis. $\text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Zóna technologických problémů je stanovena při dosažení koncentrace celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů v rozmezí 10^5 až 10^6 $\text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ (HUŠEK, 1988). Což odpovídá asi 45 000 $\text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ pro proteolytické a lipolytické psychrotrofní bakterie při dosažení PTM 10^5 $\text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ a 460 000. Při dosažení PTM 10^6 $\text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ (VYLETĚLOVÁ a kol., 1999a; 2000a).

Hlavní problém nárůstu psychrotrofních bakterií spočívá v tom, že produkují termorezistentní extracelulární proteolytické a lipolytické enzymy, které představují riziko kvalitativních problémů při zpracování

mléka a kažení finálních výrobků během uskladnění (FAIRBAIRN, LAW, 1986; MATTA, PUNJ, 1999; CHEN a kol., 2003).

Velký význam má doba od nadojení mléka, jeho chladové uskladnění, převoz do zpracovatelského závodu a pasteraci. Podle VYLETĚLOVÉ (2000) je nejčastěji uváděná doba od ukončení nádoje po svoz do mlékárny 3 hodiny, doba svozu do mlékárny probíhá od 4 do 6 hodin a na pasteraci čeká od 2 do 6 hodin při teplotě 4°C.

Mezi nejčastější zástupce PTM patří rody *Pseudomonas* a *Bacillus* (MUIR a kol., 1979; TERNSTRÖM a kol., 1993). Z gram-negativních psychrotrofních bakterií se kromě rodu *Pseudomonas* dále vyskytují rody *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Chromobacterium* a *Flavobacterium* a z gram-pozitivních bakterií jsou vedle rodu *Bacillus* zastoupeny rody *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* a *Microbacterium* (LÜCH, 1972; COLLINS, 1981; COUSIN, 1982; MEER a kol., 1991, SØRHAUG, STEPANIAK, 1991; CRAVEN, MACAULEY, 1992; CHAMPAGNE a kol., 1994).

Degradace složek mléka různými enzymatickými aktivitami redukuje trvanlivost zpracovaného mléka. Například natrávení kaseinu může vést k hořké chuti, srážení a gelovatění mléka. Lipázy hydrolyzují tributyrin a mléčný tuk a vznikají volné mastné kyseliny, které zapříčiňují žluklou, hořkou, nečistou a mýdlovou chuť mléka. Lecitinázy degradují membrány globulí mléčného tuku a stoupá citlivost mléčného tuku k aktivitě lipáz (COUSIN, 1982; COX, 1993; SHAH, 1994).

2.8. Enzymy obsažené v mléce

V mléce je obsaženo několik desítek enzymů, nicméně pouze několik málo vlastních enzymů má podstatný vliv na kvalitu a trvanlivost mléka a mléčných výrobků (MUIR, 1996). Kromě vlastních enzymů, skladované mléko (syrové nebo zpracované) také obsahuje enzymy pocházející od kontaminujících mikroorganismů (SUHREN, 1989).

Enzymy lze rozdělit do dvou hlavních skupin:

- enzymy štěpící bílkoviny
- enzymy štěpící tuky

2.8.1. Enzymy štěpící bílkoviny

Vlastní mléčné proteolytické enzymy byly detailněji prozkoumány pouze dva: alkalická proteáza MAP, nazývaná plasmin, patřící mezi sérové proteázy a kyselá proteáza catepsin D (LARSEN a kol., 1996). Bakteriální proteázy produkují psychrotrofní mikroorganismy v maximálním množství v pozdní exponenciální nebo stacionární fázi růstu (KOHLMANN a kol., 1991). *Bacillus sp.* jsou schopné tvořit více než jeden typ proteázy a proto vykazují rozmanitější proteolytickou činnost než *Pseudomonas sp.* (CHEN a kol., 2003).

2.8.2. Enzymy štěpící tuky

Lipolytické enzymy mohou být definovány jak karboxylesterázy, které hydrolyzují acylglyceroly (JAEGER a kol., 1994).

Specifika lipolytických enzymů je zajištěna třemi faktory:

- molekulovými vlastnostmi enzymů,
- strukturou substrátu,
- faktory ovlivňujícími vazbu enzymu na substrát (JENSEN a kol., 1983).

Mezi mléku vlastní lipázy patří lipáza obsahující lipoprotein LPL (EC 3.1.1.34) (CHEN, 2003). LPL v čerstvém mléce není aktivní vůči kapénkám tuku, jelikož jsou chráněny membránou (DEETH, FITZGERALD, 1994; KIM, JIMENEZ-FLORS, 1995).

Řada mikroorganismů může vytvářet více než jeden typ extracelulárních lipáz, které hydrolyzují řetězce mastných kyselin

rozdílné délky (MACRAE, 1983). Produkci extracelulárních lipáz může zvýšit přítomnost polysacharidů jako je glykogen, hyaluronát, laminarin, pektin B a arabská guma (SUGIURA, 1984).

2.9. Faktory ovlivňující mikrobiální kontaminaci mléka

2.9.1. Technologie dojení

Jedním z prostředků získání mikrobiálně jakostního mléka je správně provedená toaleta mléčné žlázy před každým dojením.

CEMPÍRKOVÁ, THÉR (1997 b) považuje za prioritní pro dosažení dobrých výsledků v jakosti mléka zejména dodržování vysoké úrovně hygieny chovu a dobrou ošetřovatelskou péči. Dezinfekce mléčné žlázy, nezbytná pro prevenci mastitid, sama nevyřeší problematiku jakosti mléka.

V komplexu opatření, která vedou ke zvýšení biologické kvality mléka, zauímají významné místo i zoohygienická opatření.

2.9.2. Toaleta mléčné žlázy

Významným zdrojem sekundární kontaminace mléka může být nesprávný postup či nedbalost při toaletě mléčné žlázy. Aktuální a stále diskutovanou otázkou je vlastní postup, tj. omytí a osušení mléčné žlázy. Při značném zmáčení, k němuž dochází zejména na dojárnách při používání sprchy, zůstává problémem osušení vemene a znečištěná voda pak stéká k hrotům a kontaminuje mléko. Suchá mléčná žláza je zdrojem menší kontaminace než mléčná žláza relativně čistá, ale vlhká. Proto se v zahraničí a to ve státech s velmi dobrou hygienou mléka uplatňuje a v literatuře doporučuje tzv. suchá a zkrácená toaleta (SEYDLOVÁ, 1996).

Dalším významným faktorem podílejícím se na stavu zdraví mléčné žlázy dojnic jsou nedostatky v technologii dojení, zejména nevhodná toaleta mléčné žlázy před dojením, s použitím jedné utěrky pro více dojnic podporující šíření patogenních mikroorganismů ve stádě (VYLETĚLOVÁ a kol., 2000).

Tendence k použití mokré toalety před dojením je v chovech, kde z důvodu nízké úrovně hygieny je zvýšené procento dojnic se silně znečištěnou kůží mléčné žlázy. Mokrý toaleta je ale z hlediska provádění velice riziková a časově náročná, má-li být provedena správně. Při mokré toaletě dochází k rozpuštění nečistot na kůži a pokud není součástí toalety dokonalé omytí celého smáčeného povrchu s následným osušením kůže, dochází ke stékání této špíny k otevřenému strukovému svěrači. Proto jednoznačně nejvhodnější se jeví suchá toaleta a desinfekce před dojením s použitím striktně individuálních utěrek. Doporučit lze jednu z těchto alternativ:

1. Otření struku vlhkou utěrkou s desinfekčním roztokem - vhodná pro chovy s relativně čistými vemeny
2. Namáčení struků s použitím aplikátorů s desinfekčním roztokem a následné setření suchým papírovým ubrouskem (v roli). Desinfekční roztok je nutno v průběhu dojení obměňovat podle stupně znečištění vemen.
3. "Systém dvou věder" - jedná se o levnou alternativu v chovech se silně znečištěnými vemeny. Použijeme dvě vědra s desinfekčním roztokem. V prvním jsou alespoň 10 minut před dojením předem namočené textilní utěrky. Z tohoto vědra se utěrky odebírají a po použití se vhazují do druhého vědra s čerstvou desinfekcí. Po spotřebování utěrek z prvního vědra se používají utěrky z druhého vědra (sice již použité, ale v "mezičase" již opět vydesinfikované) a po použití se odhazují opět do prvního vědra s obměněnou desinfekcí. Tento způsob je vhodný i pro provozy, kde se vyskytují dojnice se silně znečištěnými struky. Jednou utěrkou, mokrou, nevyždímanou lze struk dobře umýt, druhou - vyždímanou pak

otřít. Také počet utěrek může být omezený. Nevýhodou je nutnost přepírání a sušení textilních utěrek. Druh desinfekce je potřeba v chovu obměňovat, nejlépe každého čtvrt roku.

Desinfekce po dojení (postdipping) je krokem, který může významně omezit zejména infekce, které jsou způsobeny původci z prostředí (*Streptococcus uberis*, *E.coli*). Význam desinfekce po dojení spočívá v desinfekci okolí strukového svěrače bezprostředně po dojení a v případě bariérových preparátů také v uzavření strukového svěrače, který se fyziologicky uzavírá až po cca 15 minutách po ukončení dojení a zabránit tak vniknutí zárodků z prostředí. Pro zachování účinnosti desinfekce struku je nutné ošetřit celý struk ponořením do aplikační nádoby a to bezprostředně po dojení (ZELINKOVÁ, 2005).

HEESCHEN a REICHMUTH (1995) uvádějí, že při používání desinfekčních prostředků pro pre a postdipping musí být brán ohled nejen na účinné látky (jód, chlorhexidin, chlór atd.), ale také na další používané složky (např. detergenty, aditiva).

ZOUREK (1999) uvádí toto rozdělení a stručnou charakteristiku přípravků na desinfekci struků:

- Přípravky na desinfekci struků na bázi chlóru: jsou velice účinné, likvidují bakterie tím, že je oxidují, nejsou však účinné proti sporám,
- Jodové přípravky pro desinfekci struků: jód má germicidní účinky, oxiduje bakterie, není selektivní, tzn. ničí všechny druhy bakterií, spory, kvasinky a houby, ničí dokonce i některé viry,
- Přípravky na bázi chlorhexidinu: desinfekční vlastnosti chlorhexidinových přípravků nemají tak komplexní účinek, jaký mají přípravky na bázi chlóru nebo jódu. Chlorhexidin nezabíjí celé spektrum mikroorganismů, které mohou způsobit mastitidu a není příliš účinný proti sporám, virům a houbám,

- Linear dodecyl benzen sulfonová kyselina: LDBSA je kyselý desinfekční prostředek, málo účinný proti gramnegativním bakteriím,
- Přípravky na bázi alkoholu: pro zajištění účinné desinfekce je nutná koncentrace alkoholu 60 až 70%, u alkoholových přípravků na desinfekci struků se pohybuje do 40%. Alkohol likviduje bakterie tím, že způsobuje dehydrataci. Nevýhodou je, že nedochází pouze k dehydrataci bakterií, ale vysušuje se i pokožka struku, proto je nutné přidávat do přípravků velké množství aditiv,
- Přípravky založené na lauracidinu, mastných kyselinách a jejich derivátech: tyto přípravky dobře působí proti *Staphylococcus aureus*, ale mají špatnou účinnost proti *Streptococcus agalactiae*,
- Viskózní a bariérové přípravky: viskózní přípravky na desinfekci struků obsahují zahušňovadlo. Bariérové přípravky vytvářejí film, který po aplikaci tvoří fyzickou bariéru struku a zajišťuje tak delší ochranu struku. V současných podmínkách jsou prioritně doporučované.

2.9.3. Sanitace dojícího zařízení

Ošetření mléka po nadojení a sanitace dojícího zařízení je nedílnou součástí hygieny získávání mléka (STÁDNÍK, TOUŠLOVÁ, 2003).

Účinnost čištění a desinfekce závisí na:

- očištění povrchů dojícího zařízení a proplachu,
- čistícím účinku zvolených prostředků,
- dodržování koncentrace, doby účinku a teplotě roztoků,
- mechanickém účinku čistících pomůcek (stěrky, kartáče) (STÁDNÍK, TOUŠLOVÁ, 2003).

Přípravky používané k sanitaci dojícího zařízení mohou být jednoduché nebo kombinované. Jednoduché přípravky obsahují buď jen čisticí nebo desinfekční složku. Kombinované obsahují obě dohromady.

Postup čištění a dezinfekce kombinovanými přípravky zahrnuje:

- výplach zařízení vlažnou vodou,
- cirkulační čištění a dezinfekci,
- výplach studenou vodou (RYŠÁNEK, 1998).

3. MATERIÁL

V rozpětí let 2005 až 2006 jsem sledovala hodnoty jednoho z hlavních ukazatelů jakosti syrového kravského mléka - CPM, celkový počet mezofilních mikroorganismů a jeden z doplňkových znaků - PTM, počet psychrotrofních mikroorganismů ve čtyřech chovech s rozdílnými zoohygienickými podmínkami a technologií chovu. Zoohygienické údaje mi byly poskytnuty zootechniky jednotlivých chovů a byly ověřeny vlastním sledováním. Hodnoty mikrobiologických ukazatelů jakosti mléka byly stanoveny mikrobiologickou laboratoří Katedry anatomie a fyziologie hospodářských zvířat na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích v rámci řešení výzkumného úkolu MSM 600 766 5806.

CHOV A

Farma se nachází v Jihočeském kraji, dva kilometry od města České Budějovice, v nadmořské výšce 420 m. n. m. V průběhu sledování byl počet dojnic 120, přičemž procentuální zastoupení plemen bylo: Holštýnský skot 90 % České Červinky 10 %. Dojnice jsou ustájeny ve volném boxovém stelivovém stání. Podestýlání je prováděno dvakrát denně slámou a hnůj je odstraňován vyhrnováním radlicí a to dvakrát dopoledne a jednou odpoledne. V době zastýlání je vysoká prašnost prostředí, kterou způsobuje rozdružovač slámy Jentil. Proto se přistoupilo k zastýlání v době nepřítomnosti dojnic ve stáji, což je při dojení v dojírně. Letní a zimní krmná dávka na kus a den je : 15 kg kukuřičné siláže, 10 – 12 kg senáže, 2 – 3 kg sena, 3 kg jádra (při dojivosti nad 20 litrů se zvyšuje na 5 kg jádra), 5 dkg močoviny, 5 dkg vápence, UP 6 (minerální směs pro dojnice). Pastva se neprovádí. Čistota stáje v době mé návštěvy byla dobrá, bylo čerstvě podestláno. Stáj s minimální koncentrací stájových plynů. Čistota dojnic byla velmi dobrá.

Dojení probíhá v rybinové dojárně (dvakrát šest dojících stání) dvakrát denně. Dojárna čistá, desinfekce dlaždic a prostředí dojírny je prováděna přípravkem Mikal CN. Čištění a desinfekce dojícího zařízení a nádrží na chlazení a uchování mléka je prováděno dvakrát denně. Ráno je to přípravkem Mikal 94 D. Mikal 94 D je alkalický desinfekční prostředek na bázi hydroxidu sodného a používá se v koncentraci 0,5 % roztoku. Doba působení je 15 až 20 minut při teplotě 45 až 50°C. Při večerní sanitaci je použit Mikasan D, což je kyselý přípravek obsahující kyselinu fosforečnou a sírovou. Koncentrace používaného roztoku je 0,5 % a doba působení 15 až 20 minut při teplotě 45 až 50°C. Používaná voda k veškerému čištění je z veřejného zdroje pitné vody a je zdravotně nezávadná.

Průměrná denní dojivost je 17,8 litrů/dojnice/den. Dochází k mísení ranního a odpoledního mléka. Odvoz mléka do mlékárny v roce 2005 dopoledne (okolo jedenácté hodiny), v roce 2006 večer (okolo devatenácté hodiny). Mléko je sváženo denně, zchlazeno je do jedné hodiny na teplotu 5 až 6°C. Toaleta mléčné žlázy dojníc je prováděna mokrou cestou a to osprchováním pistolkou, s následným osušením látkovou utěrkou, pro všechny dojnice pouze 4 utěrky. Predipping se neprovádí, postdipping je prováděn přípravkem Diemacid Direct, účinná látka je v tomto případě chlorhexadylglukonát. Aplikace desinfekce je pravidelně dvakrát denně namáčením struků, které zbarvuje do zelena a nemá nežádoucí účinky na pokožku struků.

Individuální somatické buňky jsou stanovovány jedenkrát měsíčně, NK-testy jsou prováděny příležitostně při podezření na mastitis. Pro prevenci mastitis je plošně aplikován Orbenin, dále je plošně dvakrát ročně injekčně aplikován Axetocal. Dojnice s opakujícími se vysokými hodnotami IPSB jsou vyřazovány. Výskyt metabolických poruch je minimální.

CHOV B

Farma se nachází v Jihočeském kraji, šest kilometrů od města České Budějovice, v nadmořské výšce 410 m. n. m. Se sledováním toho chovu se začalo až v dubnu roku 2005. Hodnoty za tento rok nejsou proto kompletní a bude na to brán zřetel při dalším zpracování. V průběhu sledování byl počet dojnic 74 kusů plemene Holštýn. Dojnice jsou ustájeny ve vazném stelivovém stání. Podestýláno je slámou a hnůj je odstraňován oběžným shrnovačem hnoje. Zoohygienické podmínky jsou celkově spíše nevyhovující a s tím souvisí také horší úroveň čistoty dojnic. Dojnice mají silně znečištěné hýždě, končetiny i vemena. Pastva dojnic se neprovádí.

Dojení je na stání do potrubí. Čištění a desinfekce dojícího zařízení a nádrží na chlazení a uchování mléka je prováděno dvakrát denně. Ráno je to přípravkem BILO sp, což je tekutý kyselý čistící prostředek obsahující kyselinu dusičnou a fosforečnou, stabilizátory, tenzory4 D. Používá se v koncentraci 0,5 % roztoku. Doba působení je 5 až 20 minut při teplotě 30 až 80°C. Při večerní sanitaci je použit BILO rd-p, tekutý zásaditý čistící a dezinfekční prostředek na bázi hydroxidu draselného, kyseliny polykarbonové, chlornanu sodného. Přípravek je používán v koncentraci 0,5 % a doba působení je 5 až 20 minut při teplotě 30 až 80°C. Používaná voda k veškerému čištění je z veřejného zdroje pitné vody a je zdravotně nezávadná.

Průměrná denní dojivost je 12 litrů/dojnice/den. Dochází k mísení ranního a odpoledního mléka. Odvoz mléka do mlékárny v roce 2005 ráno (ve čtyři hodiny), od 12.12. 2005 odpoledne (ve třináct hodin a třicet minut). Mléko je v průběhu dojení zchlazeno na teplotu 4,5 až 5°C. Toaleta mléčné žlázy dojnic je mokrou cestou a to omytím teplou vodou z vědra a následuje osušení plstěnou utěrkou, která je používána pro více dojnic. Predipping se neprovádí, k postdippingu je používán přípravkem Jodonal, který není střídán jiným prostředkem. Aplikace desinfekce je pravidelná a provádí se namáčením struků do roztoku. Desinfekce nemá nežádoucí účinky na pokožku struků.

Individuální somatické buňky jsou stanovovány jedenkrát měsíčně, NK-testy jsou prováděny pravidelně dvakrát měsíčně. Pro prevenci mastitis je injekčně aplikován Axetocal. Dojnice s opakujícími se vyššími hodnotami SB jsou vyřazovány z chovu. Jedná se o asi deset kusů měsíčně. Metabolické poruchy se nevyskytují.

CHOV C

Farma se nachází v Jihočeském kraji, šest kilometrů od města České Budějovice, v nadmořské výšce 410 m. n. m. V průběhu sledování byl počet dojnic 230 a jednalo se výhradně o plemeno Holštýn. Se sledováním toho chovu se začalo rovněž v dubnu roku 2005 z toho vyplývá, že hodnoty za tento rok rovněž nejsou úplné. Použitá technologie chovu je volné roštové bezstelivové ustájení. Podestýlání se neprovádí a odstraňování kejdy je zajištěno rošty. Pastva se neprovádí. Zoohygienické podmínky jsou špatné, dojnice silně znečištěné, hlavně v oblasti hýždí, končetin a vemene.

Dojení probíhá v rybinové dojárně (dvakrát deset dojících stání) dvakrát denně. Čištění a desinfekce dojícího zařízení a nádrží na chlazení a uchování mléka je prováděno dvakrát denně. Ráno je to tekutým kyselým prostředkem BILO sp, obsahuje kyselinu dusičnou a fosforečnou, stabilizátory, tenzory. Používá se v koncentraci 0,5 % roztoku. Doba působení je 5 až 20 minut při teplotě 30 až 80°C. Při večerní sanitaci je použit BILO rd-p, tekutý zásaditý dezinfekční přípravek na bázi hydroxidu draselného, kyseliny polykarbonové a chlornanu sodného se stabilizátory a inhibičními látkami koroze. Přípravek je používán v koncentraci 0,5 % a doba působení je 5 až 20 minut při teplotě 30 až 80°C. Po použití je nutný řádný proplach vodou. K veškerému čištění je využívána voda z veřejného zdroje pitné vody.

Průměrná denní dojivost je 12,5 litrů/dojnice/den. Dochází k mísení ranního a odpoledního mléka. Odvoz mléka do mlékárny byl v obou letech ráno (ve čtyři hodiny). Mléko je v průběhu dojení

zchlazeno na teplotu 4,5 až 5°C. Toaleta mléčné žlázy dojnic je prováděna mokrou cestou a to osprchováním pistolkou. K osušení je použita plstěná utěrka a to jedna pro více dojnic. Predipping se neprovádí, postdipping je prováděn přípravkem Jodonal, který se používá trvale a není střídán jiným. Desinfekce struků je prováděna pravidelně dvakrát denně namáčením struků do desinfekčního prostředku. Na pokožku struků nemá nežádoucí účinky.

Individuální somatické buňky jsou stanovovány jedenkrát měsíčně, NK-testy dvakrát měsíčně. Pro prevenci mastitis je plošně aplikován Axetocal - injekčně. Dojnice s opakujícími se vysokými hodnotami SB jsou vyřazovány z chovu, jedná se o asi deset kusů měsíčně. Metabolické poruchy se nevyskytují.

CHOV D

Farma se nachází v Jihočeském kraji ve směru od Lenory na Strážný, v nadmořské výšce 800 m. n. m. V průběhu sledování byl počet dojnic 120, přičemž zastoupení plemen bylo následující: Český strakatý skot 110 kusů, Holštýnský skot 10 kusů. Se sledováním toho chovu se začalo až na začátku června roku 2005. Dojnice jsou ustájeny ve volné kotcové stáji. Podestýlání je prováděno jednou za den slámou a hnůj je vyhrnován jedenkrát denně pomocí Bobíku 760 s vyhrnovací lopatou. Prašnost prostředí je zvýšená hlavně v době zastýlání, v pastevním období je minimální. V roce 2005 byla praktikována permanentní oplůtková pastva s nočním pobytem dojnic na pastvě v období od 4. května do 29. září.

Dojnice chodí pouze na podojení do dojírny. A v roce 2006 od 19. května do 11. října, ale od 29. září byly přikrmovány senáží do žlabů. Letní krmná dávka je pastva, seno ad libidum, 3,5 kg jádra na kus a den (při doživosti nad 20 litrů se zvyšuje o 0,5 kg jádra). Zimní krmná dávka je senáž ad libidum, sláma ad libidum, 3,5 kg jádra na kus a den. Čistota stáje velmi dobrá, čistota dojnic výborná.

Dojení probíhá v tandemové dojárně (dvakrát čtyři stání) dvakrát denně a čistota dojírny je výborná. Čištění a desinfekce dojícího zařízení a nádrží na chlazení a uchování mléka je prováděno dvakrát denně přípravky Demyro A a Demyro K. Demyro A je alkalický čistící a desinfekční prostředek obsahující hydroxid sodný a chlornan sodný a používá se po ranním dojení. Roztok o koncentraci 0,5 % se nechá cirkulovat dojícím zařízením 10 až 20 minut při teplotě 50°C. Po večerním dojení je aplikován Demyro K, kyselý přípravek na bázi kyseliny fosforečné, peroxidu vodíku a kyseliny mravenčí, v poměru 1 litr přípravku na 200 litrů pitné vody. Dále jsou používány rukávcové mléčné filtry z netkané textilie NEOTEX, které jsou používány nové na každé dojení, v případě potřeby jsou měněny i v průběhu dojení. Používaná voda k veškerému čištění je z vlastního zdroje pitné vody, který slouží rovněž jako veřejný zdroj pitné vody a je dvakrát ročně kontrolována.

Průměrná denní dojivost je 19 litrů/dojnice/den. Dochází k mísení ranního a odpoledního mléka. Odvoz mléka do mlékárny je ráno (v šest hodin). Mléko je do jedné hodiny zchlazeno na teplotu 5°C. Toaleta mléčné žlázy dojnic je prováděna mokrá a to osprchováním pistolkou s teplou vodou, pak následuje osušení látkovou froté utěrkou vždy jedna pro 12 dojnic. Utěrky se udržují vyvařováním. Predipping se neprovádí. Jako postdipping je aplikován bariérový přípravek Lactobarier, účinná látka je v tomto případě kyselina mléčná spolu s hydroxidem sodným, ethanolem a glycerinem. V minulosti byl používán Jodonal, se kterým byly špatné zkušenosti. Aplikace desinfekce je ve formě modrého neředěného gelu namáčením struků. Nemá nežádoucí účinky na pokožku struků a pokud jsou struky vysušené je navíc používána glycerinová mast.

Individuální somatické buňky jsou stanovovány jedenkrát měsíčně, NK-testy nejsou stanovovány vůbec. Prevence mastitis není plošně řešena, detekována u asi tří kusů měsíčně. Metabolické poruchy se občas vyskytují např. ulehnutí po otelení, acidóza, ketóza.

4. METODIKA

Metoda zjišťování mikrobiologických hodnot mléka a zpracování výsledků

Bazénové vzorky syrového kravského mléka byly odebírány do sterilních vzorkovnic s konzervačním Heeschenovým činidlem (Heeschen a kol., 1969) v poměru 10 : 1 (30 ml mléka, 3 ml Heeschenova činidla) a přepravovány byly v termoboxech s chladicí vložkou. Po předání do laboratoře byly ihned zpracovány. K ředění vzorků byl použit sterilní fyziologický roztok s peptonem, 1 ml inokula příslušného ředění byl zalit médiem vytemperovaný na 45°C. Vzorky byly očkované vždy po třech po sobě jdoucích ředěních, ve dvou opakováních. Pro stanovení celkového počtu mesofilních (CPM) a psychrotrofních (PTM) bakterií byl použit Plate count skim milk agar (MERCK). Inkubace proběhla u CPM při 30°C po dobu 72 hodin a u PTM při 6,5°C po dobu 10 dnů. Byly odečítány plotny s počtem kolonií 10 až 300. Pro kultivaci psychrotrofních proteolytických bakterií (PPM) byl použit Milk agar (OXOID); pro kultivaci psychrotrofních lipolytických bakterií (PLM) Tributyrin agar (MERCK). Inkubace proběhla při 6,5°C po dobu 10 dnů. Odečítány byly kolonie s jasnou lytickou zónou.

Z aktuálních hodnot CPM, PTM, PLM a PPM byly vypočteny aritmetické průměry, směrodatná odchylka a bylo stanoveno variační rozpětí pomocí softwaru Microsoft Excel 2000. Pro skupiny mikroorganismů byly určeny poměrné indexy (p_i), které byly stanoveny jako poměr reálných hodnot (PTM/CPM; PLM/PTM; PPM/PTM; PLM/CPM; PPM/CPM) a vypočteny korelační koeficienty (r) z logaritmicky transformovaných dat. Před statistickou analýzou byly jednotlivé hodnoty CPM, PTM, PLM a PPM logaritmicky transformovány s cílem přiblížit se normálnímu rozdělení. Pro srovnání jednotlivých technologií ustájení byl použit Tukeyův test a v případech srovnání dvou skupin tj. dojení v dojírně a na stání do potrubí, použitá pastva a bez pastvy, byl použit T-test.

5. VÝSLEDKY

Hygienická jakost bazénových vzorků syrového kravského mléka byla sledována stanovením hodnot čtyř mikrobiologických ukazatelů: celkový počet mesofilních mikroorganismů (CPM), počet psychrotrofních mikroorganismů (PTM), psychrotrofní proteolytické bakterie (PPM) a psychrotrofní lipolytické bakterie (PLM).

Výsledky jsou členěny na tři podkapitoly tj. na obecnou charakteristiku souboru analyzovaných bazénových vzorků mléka; vzájemné vztahy mezi fyziologicko-technologickými skupinami mikroorganismů; a sezónní dynamiku hodnot sledovaných ukazatelů.

5.1. Charakteristika hodnot mikrobiologických ukazatelů u sledovaných chovů

Na základě průměrných hodnot sledovaných ukazatelů lze označit jednak chov s nejnižší i nejvyšší mikrobiální kontaminací mléka ve sledovaném období. Všeobecně nejvyšších hodnot u všech sledovaných ukazatelů mikrobiologické jakosti mléka vykazoval chov C. Naopak nejnižší hodnoty byly zjištěny u chovu D.

Hodnoty CPM

V případě chovu B a C byly zjištěny nadlimitní hodnoty CPM v roce 2005. V následujícím roce došlo u chovu B ke zlepšení hygieny a následně i všech jakostních ukazatelů. Naproti tomu u chovu C došlo k dalšímu zhoršení, o čemž svědčí nejen průměrné hodnoty CPM, ale i překročení hygienického limitu pro CPM $100\ 000\ \text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$. V chovu B byl překročen hygienický limit v červnu 2005, v chovu C v červenci 2005 a v květnu a červnu roku 2006. Naproti tomu stabilně dobré a nízké hodnoty vykazoval chov D a hodnoty nepřesahující hygienický limit také nebyly zjištěny rovněž v chovu A (viz. tab. č. 1 a 2).

Hodnoty PTM

Hranice hygienického limitu PTM 50 000 CFU· ml⁻¹ byla překročena pouze jednou a to u chovu C v roce 2006 a to v květnu. Hodnoty PTM kolísaly v rozsahu od několika set až po desítky tisíc CFU· ml⁻¹. K nárůstu hodnot PTM docházelo v obou letech především v letních měsících. U chovu B došlo k výraznému snížení hodnot PTM v roce 2006 (viz tab. č. 1 a 2). Hodnoty PTM v podstatě kopírovaly vývoj hodnot CPM, což následně potvrdily i poměrné indexy.

Porovnání hodnot PPM a PLM

Zastoupení proteolytických a lipolytických psychrotrofních bakterií korespondovalo s výskytem psychrotrofních mikroorganismů. Maximální hodnoty 12500 a 13500 PPM a 17500 a 12000 u PLM vykazovaly v roce 2005 chov B a překvapivě i chov A. V roce 2006 byly vyšší hodnoty PPM a PLM zjištěny u nejproblémovějšího chovu C (viz tab. č. 1 a 2).

Tabulka č. 1 - Charakteristika sledovaných ukazatelů, rok 2005

Rok 2005	CPM	PTM	PPM	PLM	
Průměr	21241	3328	860	1293	Chov A
	50704	8173	2003	1974	Chov B
	37190	4587	805	833	Chov C
	12778	2175	316	433	Chov D
Maximum	70500	28000	12500	17500	Chov A
	188636	35000	13500	12000	Chov B
	105000	16000	2300	2300	Chov C
	22500	5000	1250	1250	Chov D
Minimum	6000	500	50	50	Chov A
	8000	650	50	100	Chov B
	10000	300	50	100	Chov C
	7000	650	100	150	Chov D
Směrodatná odchylka	16611	5329	2218	3126	Chov A
	48609	10064	3118	2903	Chov B
	24048	4127	681	650	Chov C
	4718	1101	269	302	Chov D

Tabulka č. 2 - charakteristika sledovaných ukazatelů, rok 2006

Rok 2006	CPM	PTM	PPM	PLM	
Průměr	20382	3539	767	868	Chov A
	12531	1019	170	253	Chov B
	48985	5812	1056	1168	Chov C
	9432	1432	273	323	Chov D
Maximum	45500	10600	3000	3000	Chov A
	27500	3700	550	1750	Chov B
	166000	60000	7000	10500	Chov C
	17500	3750	1000	1000	Chov D
Minimum	9000	500	100	100	Chov A
	4500	300	50	50	Chov B
	13500	1400	200	300	Chov C
	4500	400	50	50	Chov D
Směrodatná odchylka	9124	2817	782	768	Chov A
	5532	665	149	346	Chov B
	34866	10017	1282	1772	Chov C
	3718	828	220	230	Chov D

Tabulka č. 3 - Počty odebraných bazénových vzorků mléka

Počet odebraných vzorků (n)	rok 2005	rok 2006
Chov A	29	28
Chov B	23	32
Chov C	21	32
Chov D	19	22
Celkem	206	

5.2. Vztahy mezi fyziologicko-technologickými skupinami mikroorganismů

Vztahy mezi sledovanými mikrobiologickými ukazateli jsou vyjádřeny hodnotou poměrného indexu p_i (tj. poměr reálných hodnot stanovených ukazatelů) (tab. č. 4) a hodnotou korelačního koeficientu (tab. č. 5).

Hodnoty poměrného indexu pro PTM/CPM se pohybovaly u sledovaných chovů v rozmezí od 0,12 (chov B) do 0,17 (chov D) (tab. č. 4). Průměrná hodnota poměrného indexu PTM/CPM pro celý sledovaný soubor ($n = 206$) viz. tab. č. 3 činila $p_i = 0,14$.

Vztahy mikroorganismů s lytickou aktivitou a psychrotrofních mikroorganismů vyjadřují poměrné indexy PPM/PTM respektive PLM/PTM. Poměrný index pro PPM/PTM u jednotlivých chovů se pohyboval od p_i 0,19 (chov C) do 0,32 (chov A; tab. č. 4) a průměrná hodnota pro celý soubor vyšetřených vzorků ($n = 206$) byla 0,24. V případě p_i PLM/PTM byly u sledovaných chovů zjištěny hodnoty p_i od 0,18 (chov D) do 0,24 (chov A; tab. č. 4) a průměrná hodnota celého souboru činila pro PLM/PTM $p_i = 0,21$.

Hodnoty poměrného indexu, vyjadřující vztah proteo a lipolytických mikroorganismů a celkového počtu mesofilních mikroorganismů jsou logicky nižší, nežli u předchozího srovnání. Hodnoty p_i pro PPM/CPM u sledovaných chovů se pohybovaly od 0,02 (chov C) do 0,05 (chov A; tab. č. 4) a průměrná hodnota p_i pro celý soubor vyšetřených vzorků ($n = 206$) byla 0,33. V případě vztahu PLM/CPM se hodnoty p_i pohybovaly od 0,02 (chov C) do 0,04 (chov A; tab. č. 4) a průměrná hodnota p_i PLM/CPM = 0,03.

Z hodnot poměrných indexů lze odvodit na základě hygienických limitů předpokládaný obsah proteolytických a lipolytických bakterií v syrovém mléce. Při hodnotě p_i (0,24 a 0,21) lze vypočítat, že hygienický limit pro PTM $\leq 50\,000$ CFU \cdot ml⁻¹ koresponduje s hodnotami 12000 proteolytických CFU \cdot ml⁻¹ a 10500 lipolytických CFU \cdot ml⁻¹ a limit pro CPM $\leq 100\,000$ CFU \cdot ml⁻¹ při hodnotách p_i 0,033 a 0,03 koresponduje s hodnotami pro PPM 3300 respektive PLM 3000 CFU \cdot ml⁻¹.

Tabulka č. 4 - Poměrné indexy

Poměrné indexy	p_i PTM/CPM	p_i PPM/PTM	p_i PLM/PTM	p_i PPM/CPM	p_i PLM/CPM
Chov A	0,15	0,32	0,24	0,05	0,04
Chov B	0,12	0,24	0,24	0,03	0,04
Chov C	0,12	0,19	0,18	0,02	0,02
Chov D	0,17	0,21	0,16	0,03	0,03

Vzájemná korelace mezi fyziologicko-technologickými skupinami mikroorganismů

Mezi logaritmičsky transformovanými daty byla stanoven korelační koeficient $r = 0,646$ pro psychrotrofní a mesofilní mikroorganismy. Vzájemná korelace mezi proteolytickými respektive lipolytickými

bakteriemi a psychrotrofními mikroorganismy byla prokázána ještě výrazněji (viz tab. č. 5). Tento výsledek svědčí o vzájemném úzkém vztahu mezi psychrotrofní a lytickou mikroflórou syrového mléka. Všechny korelační koeficienty byly statisticky velmi významné ($p < 0,01$).

Tabulka č. 5 - Korelační koeficienty souboru odebraných vzorků (n = 206)

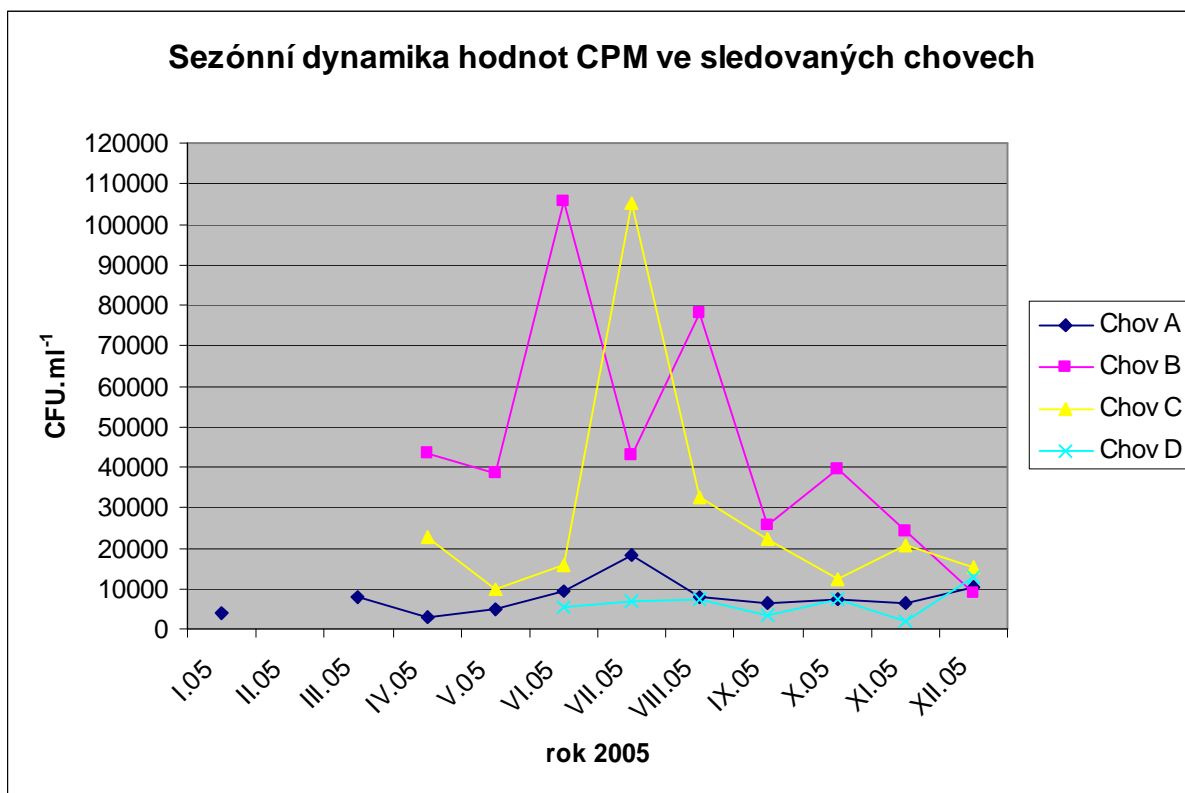
Korelační koeficienty r	
log CPM x log PTM	0,646*
log PTM x log PLM	0,833*
log PTM x log PPM	0,843*
log CPM x log PLM	0,691*
log CPM x log PPM	0,660*

* hladina statistické významnosti $p < 0,01$

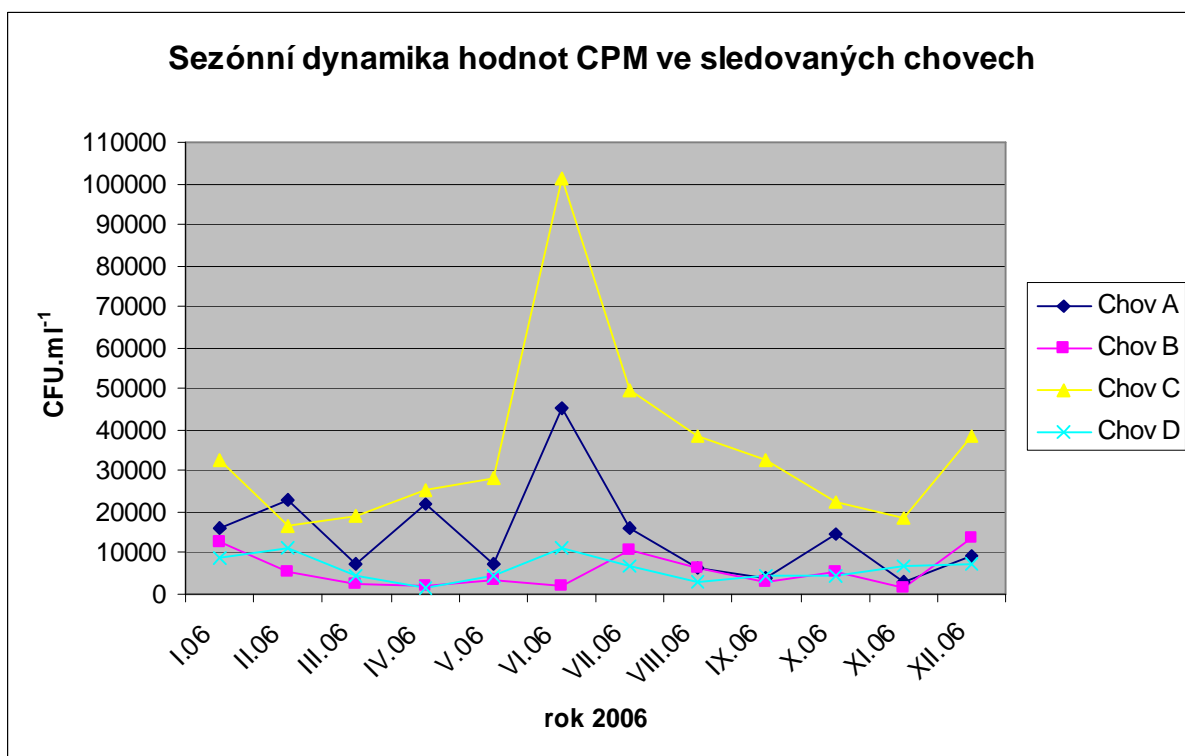
5.3. Sezónní dynamika hodnot mikrobiologických ukazatelů

Z grafického zpracování získaných dat (graf č. 1) vyplývá, že u mesofilních mikroorganismů byly zjištěny vyšší hodnoty v roce 2005 v letních měsících v chovu C, průběžně vyšší v chovu B, stabilně dobré a nízké hodnoty v chovu D. V následujícím roce 2006, v letních měsících došlo k opětovnému zvýšení zejména u chovu C a A. Lze tedy konstatovat že, zvýšení hodnot CPM korespondovalo s vyšší venkovní teplotou v letních měsících. Konkrétně u většiny ze sledovaných chovů se u CPM jednalo o měsíce červen, červenec, srpen (viz graf č. 1 a 2).

Graf č. 1

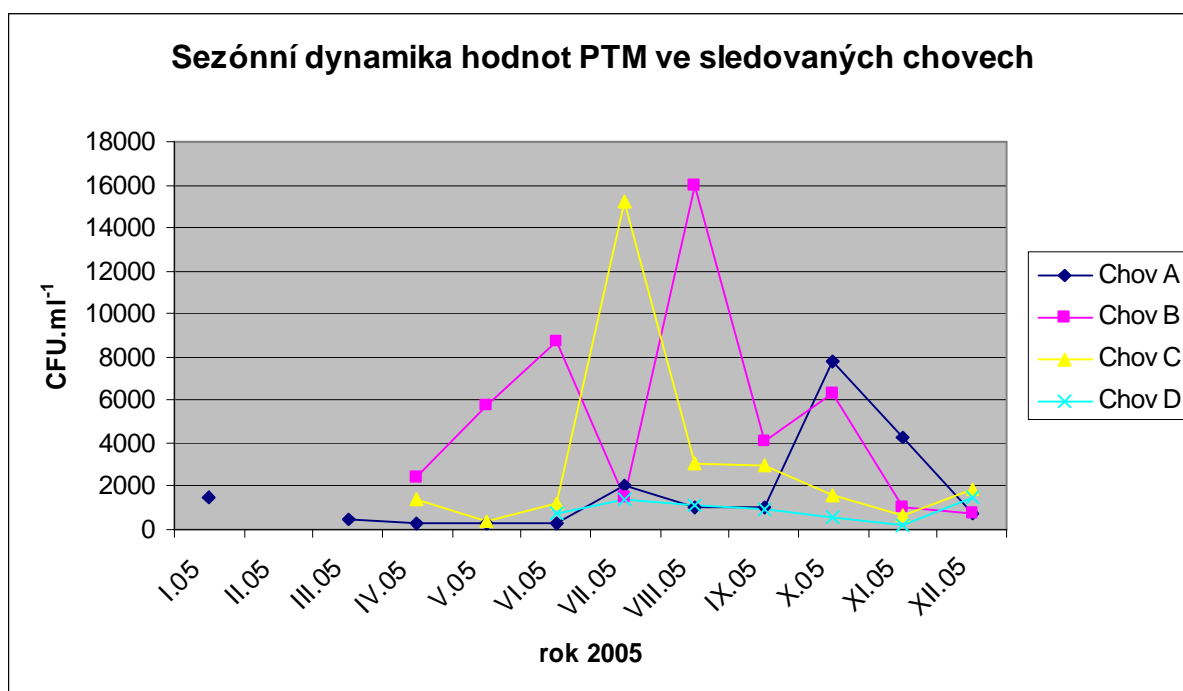


Graf č. 2

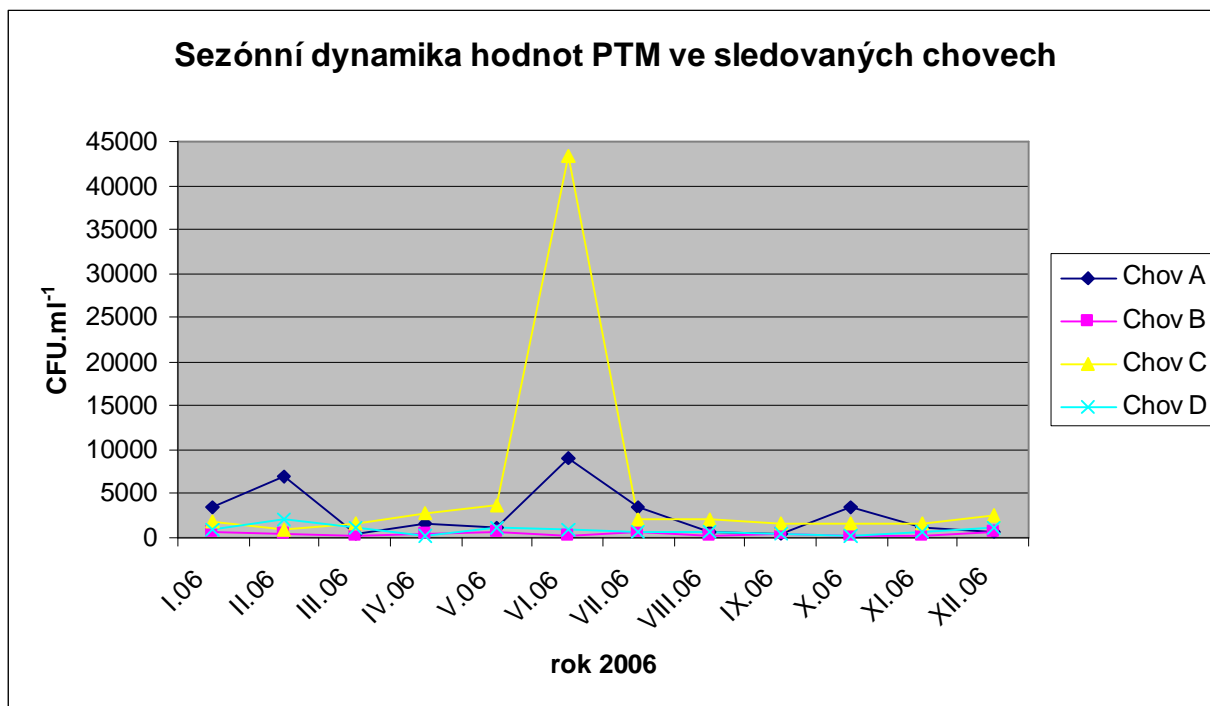


Sezónní dynamika psychrotrofních mikroorganismů kopíruje vývoj CPM. Zatímco v roce 2005 došlo ke zvýšení hodnot PTM v letních měsících (graf č. 3), v následujícím roce nastalo překvapivé kolísání hodnot PTM v chovu A (graf č. 4). Při pohledu na grafické znázornění sezónní dynamiky jsou patrné kulminace a rozkolísanost hodnot většiny ukazatelů ve sledovaném období u chovu A nesouvisející výrazně s ročním obdobím a lze je proto přičíst nestabilnímu dodržování hygienických zásad při získávání a uchovávání mléka.

Graf č. 3

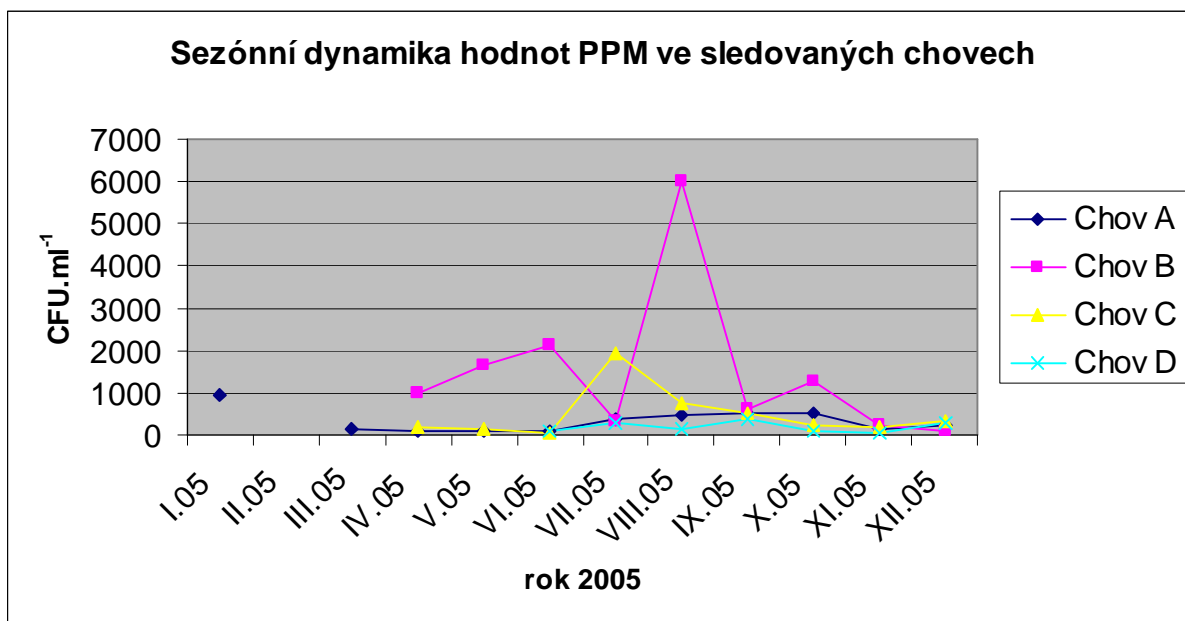


Graf č. 4

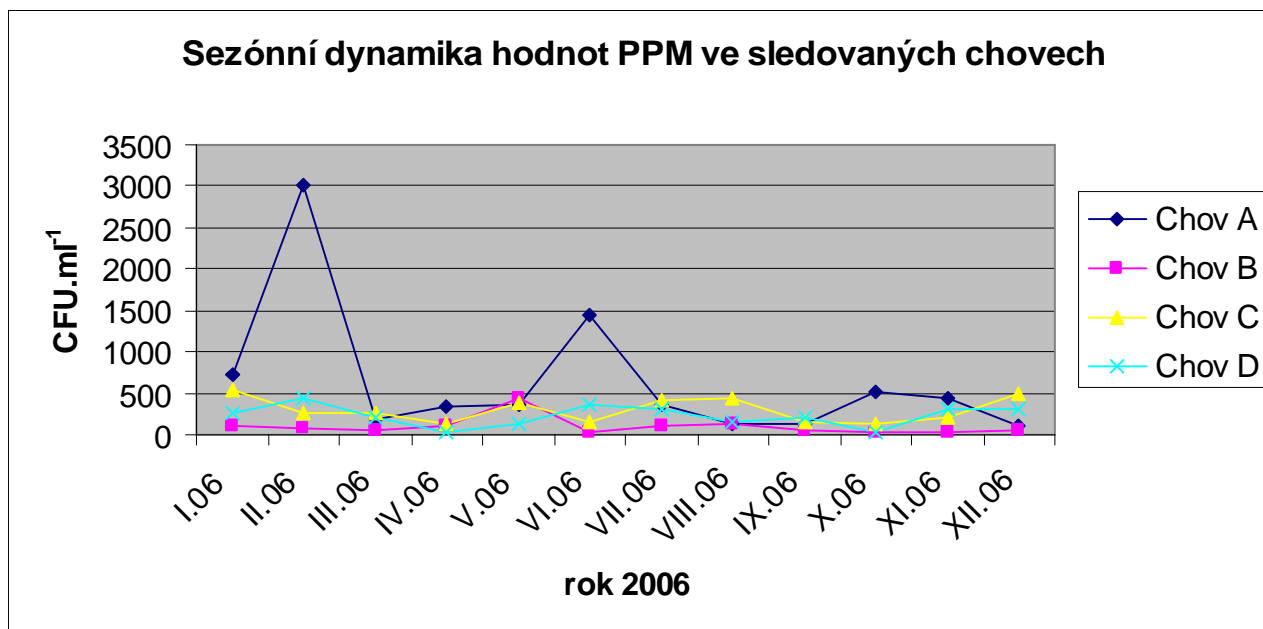


Hodnoty proteolytických a lipolytických bakterií u chovu D se drželi v průběhu roku 2005 a 2006 na stabilně nízkých hodnotách nepřesahující 1000 CFU · ml⁻¹. Výkyvy hodnot PPM resp. PLM byly zaznamenány v roce 2005 v červnu, srpnu a říjnu u chovu B. Hodnoty PPM a PLM v podstatě kopírují vývoj hodnot PTM. U chovu A, obdobně jako ukazatele CPM a PTM, se nestandardní dodržování hygieny dojení odrazilo v roce 2006 kolísáním hodnot PPM a PLM v měsících únoru, červnu a říjnu až listopadu. Obecně vyšší hodnoty v letních měsících, konkrétně červenec a srpen lze dát do souvislosti s vývojem venkovních teplot (viz graf č. 5, 6, 7, 8).

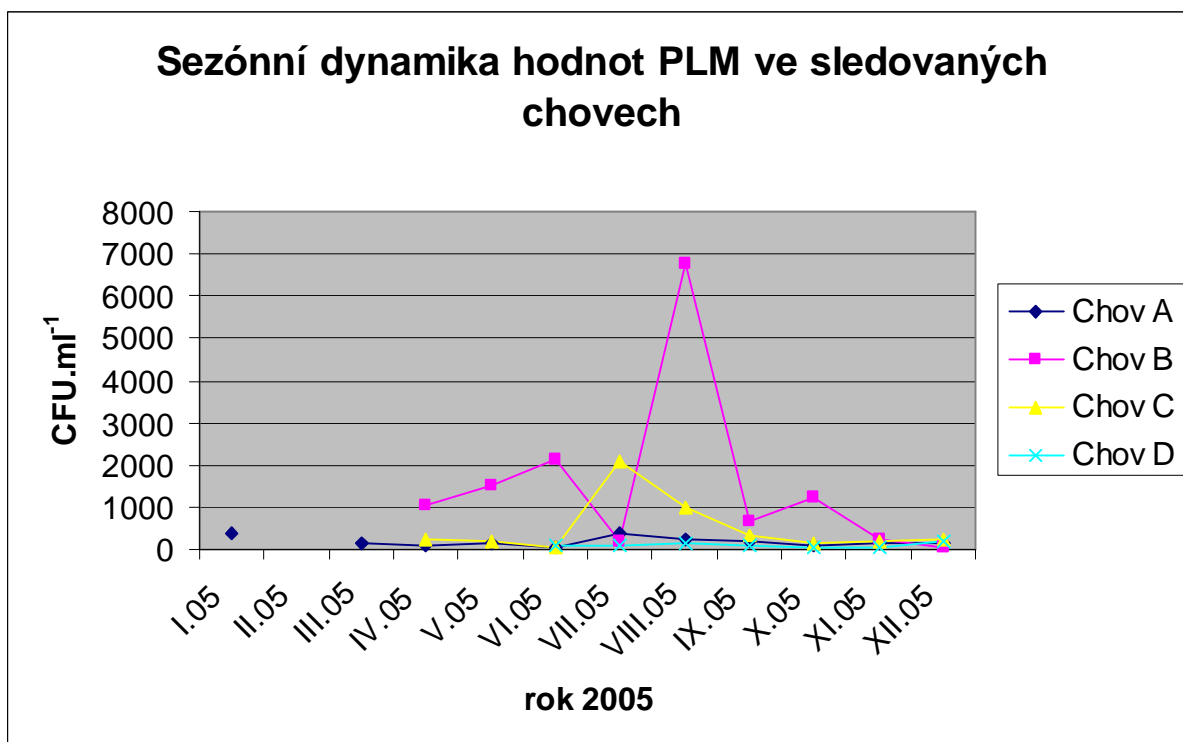
Graf č. 5



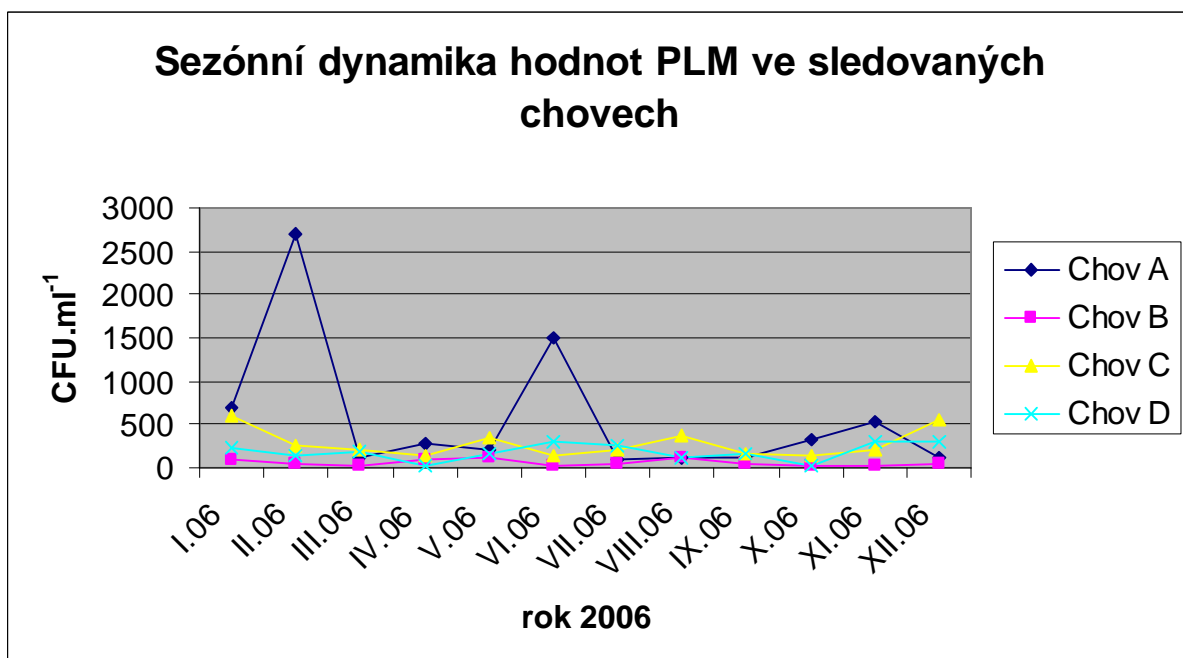
Graf č. 6



Graf č. 7



Graf č. 8



6. DISKUZE

Rentabilita chovu dojníc úzce souvisí s produkcí syrového kravského mléka nejvyšší mikrobiologické jakosti. Tudíž snížená kvalita vyprodukovaného mléka se odrazí nižším jakostním zařazením vykupovaného mléka a způsobí chovateli finanční ztráty.

Nejvyšší mikrobiální kontaminaci mléka (CPM, PTM, PPM, PLM) v roce 2005 vykazoval chov B (vazné ustájení) a v roce 2006 chov C (volné roštové bezstelivové ustájení). Vysvětlení lze spatřovat v nedostacích v hygieně stáje a nedostacích v hygieně procesu dojení. Na mikrobiologickou jakost mléka má pozitivní vliv dodržování hygieny mléčné žlázy a kvalitní ošetrovatelské péči na vysokou kvalitu mléka (DOLEŽAL a kol., 2000). COUSINS a McKINNON (1997) uvádějí, že v 90% případů jde při nárůstu psychrotrofních mikroorganismů zejména o špatně sanitované dojící a chladicí zařízení. Počet psychrotrofních mikroorganismů 10^5 až 10^6 CFU · ml⁻¹ udává HUŠEK (1988) jako adekvátní k dosažení dostatečné koncentrace a aktivity termostabilních lipáz a proteáz pro výrazný negativní účinek na složky mléka, přičemž v námi sledovaných chovech nebylo této hranice nikdy dosaženo

Zároveň uvádí VYLETĚLOVÁ a kol. (2000) jako technologicky rizikovou hladina výskytu lytických bakterií 45 000 CFU · ml⁻¹, která nebyla při našem sledování taktéž překročena ani jednou. Maximální hodnoty byly zjištěny v roce 2005 u chovu A pro PLM 17500 CFU · ml⁻¹ a chovu B pro PPM 13500 CFU · ml⁻¹.

Ačkoli se hodnoty poměrných indexů PLM/PTM a PPM/PTM liší od hodnot, které pro tyto skupiny zjistila VYLETĚLOVÁ a kol. (2000), poměrné indexy pro PLM/CPM a PPM/CPM jsou téměř totožné tj. p_i PLM/CPM = 0,03 a p_i PPM/CPM = 0,05.

Mezi logaritmicky transformovanými daty byl stanoven korelační koeficient $r = 0,646$ pro psychrotrofní a mesofilní mikroorganismy. Zároveň potvrzuje zjištění (URBANOVÁ a kol., 1993; VYLETĚLOVÁ a kol., 1999; 2000; CEMPÍRKOVÁ, 2002), že výskyt psychrotrofních

mikroorganismů významně koreluje s výskytem mesofilních mikroorganismů a lze předpokládat shodný zdroj kontaminace.

Vyšší hodnoty sledovaných ukazatelů bylo možno pozorovat zejména v letních měsících konkrétně – červen, červenec, srpen, což korespondovalo s vývojem venkovních teplot a pravděpodobným vyšším výskytem subklinických mastitid. Vyšší hodnoty mikrobiologických ukazatelů v letních měsících jsou uváděny i v Hodnocení jakosti syrového mléka v Centrálních laboratořích ČR, které zpracovávají výsledky jakosti mléka za celou Českou republiku.

Kolísání hodnot mikrobiologických ukazatelů v chovu A nesouviselo se sezónním vývojem teplot a lze ho tedy přičíst spíše nestabilnímu dodržování zásad hygieny dojení popřípadě nárazovému prodloužení doby skladování nadojeného mléka. VYLETĚLOVÁ a kol. (1998) uvádí, že se podíl psychrotrofních mikroorganismů od nadojení mléka do ošetření v podmínkách chladového uskladnění mléka zvyšuje. To také znamená znevýhodnění dodavatelů mléka při odběru vzorků na konci svozových linek nebo na místech s nestandardními dobami svozu (delší intervaly).

Porovnáním chovů podle zvolených a výše uvedených kritérií se chovem se standardně vynikající úrovní hygieny chovu i dojení stal chov D, který vykazoval nejnižší hodnoty sledovaných ukazatelů. Jednalo se o chov lokalizovaný v horské oblasti provádějící letní pastvu. Potvrzuje se tak zjištění, které uvedí McKINNON a kol. (1990), že ustájené dojnice s viditelně čistým vemenem mohou přispět ke kontaminaci mléka více než $10000 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$, zatímco pasené dojnice s čistými struky mohou přispět méně než $100 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$.

7. ZÁVĚR

Mikrobiální kontaminace syrového mléka je bezpochyby jedním z důležitých ekonomických faktorů. Rentabilita zemědělské prvovýroby je v dnešní době rozhodujícím faktorem prosperity a dalšího rozvoje jednotlivých farem nejen dojného skotu. Jakost syrového kravského mléka má rozhodující význam při jeho zpeněžování a dosažení její nejvyšší a stabilní hodnoty by mělo být prioritou v každém chovu.

U sledovaných chovů byla výsledná mikrobiologická jakost syrového mléka ovlivněna zejména úrovní zoohygienických podmínek chovu, hygieny samotné mléčné žlázy a dojení. Lze konstatovat, že dojení v dojárně vytváří předpoklady pro získání jakostně kvalitnějšího mléka než dojení na stání do potrubí, kde mikrobiální tlak stájového prostředí neumožňuje i při dodržování zoohygienických podmínek, docílit stejné kvality. Je bezpodmínečně nutné dodržování nejen hygieny procesu dojení, ale i rychlost zchlazení nadojeného mléka a zkrácení doby skladování mléka na co nejkratší dobu.

Mezi další poměrně významné faktory ovlivňující mikrobiální kontaminaci je třeba zahrnout také sezónní dynamiku vývoje kontaminace, která je ale velmi málo ovlivnitelná vzhledem k vývoji venkovních teplot. Stabilním dodržováním hygieny chovu a dojení lze však i tyto eliminovat na co nejnižší hranici.

Posledním faktorem, který má velmi pozitivní vliv na zvyšování kvality mléka je pastva. Potvrzují se tak teorie o nutnosti zvyšování welfare hospodářských zvířat a opětovnému využívání a částečnému přiblížení podmínek chovu původnímu přirozenému prostředí zvířat.

Návrhy opatření pro zvýšení kvality produkovaného mléka:

V chovu **A** zavést průběžnou cílenou kontrolu práce ošetřovatelů na úseku hygieny dojení vzhledem k opakujícím se výkyvům v mikrobiologické jakosti mléka

- Celkové zlepšení hygieny ustájení dojnic.

U chovu **B** pokračovat v cíleném zlepšování ošetřovatelské péče a zlepšování hygieny stáje a hygieny dojnic, která přinesla výrazné zlepšení mikrobiologické jakosti mléka při porovnání výsledků jakosti mléka za rok 2005 a rok 2006.

Chov **C** (volné roštové bezstelivové stání) je nezbytně nutné zlepšit hygienu ustájení dojnic se kterou úzce souvisí i čistota dojnic a čistota jejich vemene

- Dbát na důkladné provádění toalety vemene

- Zavést střídání použitých desinfekčních prostředků (trvale používán pouze přípravek Jodonal).

Chov **D** vykazoval stabilně dobré výsledky v průběhu obou let sledování u všech ukazatelů mikrobiologické jakosti mléka, což svědčí o trvale vysoké úrovni hygieny chovu, dojnic a dodržování hygieny při procesu dojení.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

CELESTINO, E., L., IYER, M., ROGINSKI, H: The effects of refrigerated storage on the quality of raw milk. *Austr. J. Dairy Technol.*, 10, 1996, 51:59-63

CEMPÍRKOVÁ, R.; THÉR. R.: Vybrané znaky jakosti mléka a obsah jódu v mléce, In *Coll. Sci. Pap., Fac. Agric. Č. budějovice, Ser. Anim. Sci.*, 14, 1997b (1), 47-52s.

CEMPÍRKOVÁ, R., THÉR, R.: The effects of living conditions on selected indexes of raw cow's milk. *Collection of Scientific Papers of Agriculture in České Budějovice, Series for Animal Sciences*, 17, 2000(1):55-71

CHAPAGNE, C. P., LAING, R. R., ROY, D., MAFU, A. A.: Psychrotrophs in dairy products: Their effect and their control. *Crit. Rev. Food Sci.*, 34, 1994, 1-30

CHEN, L., DANIEL, R. M., COOLBEAR, T.: Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *Int. Dairy Journal*, 13, 1994, 255-275

COLLINS, E. B.: Heat resistant psychrotrophic microorganisms. *J. Dairy Sci.*, 64, 1981, 157-160

COUSINS, C. M.: Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products. *A. Review J. Food Protect.*, 45, 1982, 172-207

COUSINS, C. M., McKINNON, C. H.: Cleaning and disinfection in milk production. In machine milking systems: National Institute for Research in Dairying. 1997:20

COX, J. M.: The significance of psychrotrophic pseudomonads in dairy products. Austr. J. Dairy Technol., 1993, 48, 108-113

CRAVEN, H. M., MacCAULEY, B. J.: Microorganisms in pasteurised milk after refrigerated storage: Identification of types. Austr. J. Dairy Technol., 1992, 45, 38-45

DEETH, H. C., FITZ-GERALD, C. H.: Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity in milk and milk products. In P. P. Fox (Ed.), Advanced dairy chemistry, Vol 2: Lipids, London, UK, 247-308

DOLEŽAL, O., HLÁSNÝ, J., JÍLEK, F. a kol.: Mléko, dojení a dojírny, Agrospoj Praha, 2000, 293s.

EUZEBY, J.P.: Les taxons bactériens d'intérêt vétérinaire décrits en 1998. Revue Méd Vét, 1999, 150: 319-322.

FAIRBAIRN, D. J., LAW, B. A.: Proteinases of psychrotrophic bacteria: Their production, properties, effects and control. J. Dairy Res., 1986, 53, 139-177

FICNAR, J.- VONDRUŠKOVÁ, E.: Vliv kvality vody na produkci jakostního mléka, Výzkum v chovu skotu, 3, 1997, 11-14 s.

GRIGER, C. a kol.: Hygiena mléka a mliečnych výrobkov, Príroda Bratislava, 1990, 397s.

HANUŠ, O., URBANOVÁ, E., VYLETĚLOVÁ, M.: Výskyt proteolytických a lipolytických psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích kravského mléka. Veterinářství, 1999, 11: 480-482

HAVLOVÁ, J., JIČÍNSKÁ, E., HRABOVÁ, H.: Mikrobiologické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 1993, 98-180s.

HEESCHEN, W., REICHMUTH, J., TOLLE, A., ZIEDLER, H.: Preservation of milk samples for bacteriologic and cytologic examinations for inhibitors. Milch-Wiss., 24, 1969: 729-734.

HEESCHEN, W., REICHMUTH, J.: Mastitis: The disease under aspects of milk quality and hygiene. Kieler Milchwirtschaftliche Forsch., 1995, 47, 3: 221-232

HUŠEK, V.: Mléko - surovina pro mlékárenský průmysl. Mlékař. Listy, 14, 1988: 86-88.

JAEGER, K. E., RANSAC, S., DIJKSTRA, B. W., COLSON, C., VAN HEUVEL, M., MISSET, O.: Bacterial lipases, FEMS Microbiology Reviews. 1994, 15, 1: 29-63

JENSEN, R. G., DE JONG, F. A., CLARK, R. M.: Determination of lipase specificity. Lipids, 1983, 18(3), 230-252

KADLEC, I., SLANEC, E., SEYDLOVÁ, R.: Systém zajišťování jakosti syrového kravského mléka. Milcom Servis, 1997: 9-12.

KIM, H. -H. Y., JIMENEZ-FLORES, R.: Heat-induced interactions between the proteins of milk fat globule membrane and skim milk. Journal of Dairy Science, 78, 1, 24-35

KOHLMANN, K. L., NIELSEN, S. S., STEENSON, L. R., LADISH, M. R.: Production of proteases by psychrotrophic microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74, 10:3275-3283

KRATOCHVÍL, L.: *Mlékařství a hodnocení živočišných výrobků*, VŠZ Praha, 1985, 310s.

LARSEN, L. B., BENFELDT, C., RASMUSSEN, L. K., PETERSEN, T. E.: Bovine milk procathepsin D and cathepsin D: Coagulation and milk protein degradation. *Journal of Dairy Research*, 1996, 63, 1:119-130

LAW, B. A.: Reviews of the progress of Dairy Science: Enzymes of psychrotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. *J. Dairy Res.*, 46, 1979: 573-588.

LÜCK, H.: Bacteriological quality tests for bulk-cooled milk. *Dairy Sci. Abstr.*, 1972, 34, 101-122

LUKÁŠOVÁ, J.: Hygienické podmínky získávání jakostního syrového kravského mléka, *Náš chov*, 9, 1997, 11-12 s.

MACRAE, A. R.: Extracellular microbial lipases. In W. M. Fogarty (Ed.), *Microbial enzymes and biotechnology*, New York, USA, 1983, 225-249

MARENDIAK, D., KOPČANOVÁ, L., LEITGEB, S.: *Polnohospodářská mikrobiológia*. Příroda Bratislava, 1987, 444s.

McKINNON, C. H., ROWLANDS, J., BRAMLEY, A. J.: The effect of udder preparation before milking and contamination from the milking plant on bacterial numbers in bulk milk of eight herds. *J. Dairy Res.*, 1990, 57: 307-318.

MEER, R. R., BAKER, J., BODYFELT, F. W., GRIFFITHS, M. W.: Psychrotrophic *Bacillus spp.* in fluid milk products. A review. *J food Protect.*, 1991, 54, 969-979

MUIR, D., PHILLIPS, J. D., DALGLEISH, D. G.: The lipolytic and proteolytic activity of bacteria isolated from blends of raw milk. *J. Soc. Dairy Techn.*, 32, 1979: 19-23

MUIR, D. D.: The shelf-life of dairy products: I. Factors influencing raw milk and fresh products. *J. Soc. Dairy Techn.*, 1996, 49, 24-32.

OLEJNÍK, P.: Jak působí dojící zařízení na vznik nových onemocnění mléčné žlázy, *Náš chov*, 1, 2000, 28 s.

ORTEGA-CERILA, M. E.: Bacteria, antibiotics, toxins and mycotoxins in cow's milk, *Agrociencia*, Mexico, 1998, 32, 82-92

PIJANOWSKI, E.: Základy chémie a technológie mlikarárstva I.-II. *Príroda Bratislava*, 1978, 506, 632 s.

RICE, D. N., et al.: The somatic cell count and milk quality, Published by cooperative extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, 1999, Lincoln

ROUBAL, P., SNÁŠELOVÁ J., BUCHVALDKOVÁ, T.: Bod mrznutí syrového a tepelně ošetřeného kravského mléka, *Sborník příspěvků ze semináře na téma "Aktuální problémy řízení v chovu skotu"*, Rapotín, 2004, 71-76 s.

ROWE, M., GILMOUR, A.: The present and future importance of psychrotrophic bacteria, *Dairy Industr. Int.*, 50, 1985: 14-19.

RYŠÁNEK, D.: Příčiny bakteriální kontaminace syrového kravského mléka. VÚVeL BRNO, farmář, 1998, 4, 66-67s.

SHELLEY, A. W., DEETH, H. C., MACRAE, I. C.: A numerical taxonomic study of psychrotrophic bacteria associated with lipolytic spoilage of raw milk. J. Appl. Bacteriol., 62, 1986: 197-207.

SLÁDEK, Z., RYŠÁNEK, D.: Morfologické a funkční charakteristiky somatických buněk skotu, Veterinární medicína, 1998, 8, s. 255-264

SLAGHUIS, B. A.: The freezing point of authentic and original farm bulk tank milk in the Netherlands, Int. Dairy Journal, 2001, 11, 121-126s.

SEYDLOVÁ, R.: Hygiena při získávání a ošetřování mléka, Náš chov, 1996, 03, Praha, S. 34

SEYDLOVÁ, R.: Nové poznatky příčin snížené jakosti mléka. In: Systém zajišťování jakosti syrového kravského mléka. Milcom servis a.s., září-říjen 1997, 33s.

SHAH, N. P.: Psychrotrophs in milk. Milch-Wiss., 1994, 49, 432-437

SØRHAUG, T., STEPANIAK, L.: Microbial enzymes in the spoilage of milk and dairy products. In: Fox p. f. (Ed.): Food Enzymology. Vol 1, 1991, 169-218

STÁDNÍK, L., TOUŠOVÁ, R.: Technologie dojení a kvalita mléka. Farmář, 2003, 10: 33-34s.

SLÁDEK, Z., RYŠÁNEK, D.: Morfologické a funkční charakteristiky somatických buněk skotu. Veterinární medicína, 1998, 8, 255-264s.

SUGUIRA, M.: Bacterial lipases. In: B. Borrgstrom, H. L. Brockman (Ed.), Lipases, New York, USA, 1984, 505-523

SUHREN, G.: Producer microorganisms. In: McKellar, R. C. (Ed.): Enzymes of psychrotrophs in raw food, Florida, USA, 3-34

TERNSTRÖM, A., LINDBERG, A. M., MOLIN, G.: Classification of the spoilage flora of raw and pasteurized bovine milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*. J. Appl. Bacteriol., 75, 1993: 25-34.

TERESTÖM, A., UNDBERG, A. M., MOLIN, G.: Classification of the spoilage flora of raw and pasteurized bovine milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*. J. Appl. Bacteriol., 75, 1993: 25-34

URBANOVÁ, E.: Zrychlená metoda stanovení psychrotrofních bakterií v syrovém mléce. Potravní vědy, 1993, 11(1):13-19

VEČEŘOVÁ, D.: Doporučení pro správné dojení (podle materiálů firmy Alfa Laval Agri.), náš chov, 10, 1997, 21-23 s.

VYLETĚLOVÁ, M.: Psychrotrofní a celková mikrobiální kontaminace syrového kravského mléka, Veterinářství, 1998, 48: 373-374s.

VYLETĚLOVÁ, M., BENDA, P., HANUŠ, O., KOPUNECZ, P.: Stanovení celkového počtu psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů. Czech J. Food Sci., 17, 1999: 216-222.

VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O., URBANOVÁ, E., KOPUNECZ, P.: Výskyt a identifikace psychrotrofních bakterií s proteolytickou a lipolytickou aktivitou v bazénových vzorcích mléka v podmínkách technologií prvovýrobního uskladnění. Czech J. Anim. Sci., 45, 2000: 373-383.

VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O.: Hygiena syrového mléka jako významný faktor kvality mléčných potravin, Farmář, 7, 2000, č. 7-8, 64-66s.

ZELINKOVÁ, G., BRZDIL, J.: Dezinfekce- jak ano, jak ne. 1998, www.agroweb.cz

ZOUREK, C.: Přípravky k dezinfekci struků, Náš chov, 1, 1999, 39s.

9. PŘÍLOHY

Tabulka č. 6 – Souhrnná charakteristika sledovaných chovů

Technologie dojení	Dojírna			Na stání do potrubí
	A	C	D	
Chov				
Nadmořská výška m. n. m.	420	410	800	410
Technologie chovu	Volné boxové stelivové stání	Volné roštové bezstelivové stání	Volná kotcová stáj event. permanentní oplůtková pastva	Vazné stelivové stání
Počet dojnic	120	230	120	74
Plemena	108 H, 12 L	230 H	110 C, 10 H	74 H
Průměrná dojivost litrů/ dojnice/ den	17,8	12,5	19	12
Dezinfekce struků po dojení	Diemacid Direct	Jodonal	Lactobarier	Jodonal
Dezinfekce dojícího zařízení	Mikal 94 D, Mikasan D	BILO sp, BILO rd-p	Demyro A, Demyro K	BILO sp, BILO rd-p
Pastva	Ne	Ne	Ano	Ne

Grafy č. 9-12

