

RAAKAMAIDON SÄILYMISAJAN
MÄÄRITTÄMINEN

Henna Hytönen
16.12.2008
Tekniikan yksikkö
Oulun seudun ammattikorkeakoulu

SISÄLTÖ

SISÄLTÖ.....	2
1 JOHDANTO.....	3
2 RAAKAMAITO.....	5
2.1 Raakamaidon bakteerikontaminaatioiden lähteet.....	6
2.2 Raakamaidon bakteerit.....	7
2.2.1 Salmonella.....	8
2.2.2 Listeria.....	8
2.2.3 Kampylobakteerit.....	9
2.2.4 Bacillus cereus.....	10
2.2.5 Staphylococcus aureus.....	10
2.2.6 Escherichia coli.....	10
2.2.7 Klostridit.....	11
3 TYÖN SUORITUS.....	12
3.1 Pesäkemäärän määrittäminen	12
3.1.1 Kasvualusta, laimennos ja viljely.....	12
3.2 Koliryhmän bakteerien määrittäminen.....	13
3.2.1 Kasvualusta, laimennokset ja viljely.....	13
3.3 Laimennosliuos.....	14
4 TULOKSET.....	15
5 POHDINTA.....	18
LÄHTEET	19

1 JOHDANTO

Opinnäytetyö suoritettiin Valio Oy:n Äänekosken tehtaassa. Työn tarkoituksena oli määrittää, kuinka kauan raakamaito säilyy meijeriin tultuaan alle 6 °C lämpötilassa raakamaitosiilossa. Rajana käytettiin EU asetuksessa 853/2004 IX jakson II luvussa (1) annettua 300 000 pmy/ml rajaa kokonaisbakteereille lehmän raakamaidossa.

Asetus määrittelee raakamaidon käyttörajaksi seuraavan: ”1. Meijerituotteita valmistavien elintarvikealan toimijoiden on aloitettava menettelyt, joilla varmistetaan, että välittömästi ennen kuumakäsittelyä ja jos HACCP-järjestelmään perustuvissa menettelyissä asetettu määräaika on ylitetty: a) meijerituotteiden valmistukseen käytettävän lehmän raakamaidon pesäkemäärä on 30 °C:n lämpötilassa alle 300 000/ml.” (1.) Asetuksen johdosta meijerin piti määrittää, kuinka kauan raakamaito säilyy siilossa ennen kuumennuskäsittelyä tai käyttöä. HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points)-järjestelmän tarkoituksena on kohdentaa tuotteiden valmistuksessa valvonta kohtiin, joista voi mahdollisesti olla terveysvaara kuluttajalle (18).

Suomessa lehmästä saatu raakamaito on pääasiallinen meijeriteollisuuden raaka-aine esimerkiksi juustojen valmistuksessa. Maito sisältää monia ravintoaineita, joten se on hyvä kasvualusta bakteereille. Raakamaidossa tyypillisesti esiintyvistä maitohappobakteereista monet ovat ihmiselle terveellisiä, mutta seassa on yleensä myös tauteja aiheuttavia bakteereja. Korkeat bakteeripitoisuudet ja tietyt bakteerit aiheuttavat maitoon makuvirheitä tai saostumista, jotka vaikuttavat lopputuotteen makuun. Tautien ehkäisemiseksi ja tuotteen laadun vuoksi raakamaidon kokonaisbakteerien määrää on seurattava.

Raakamaidon kontaminaatiolähteet ovat navetta, säiliöauto ja meijeri. Hygienia ja oikeat säilytyslämpötilat ovat tärkeitä jokaisessa maidon käsittelyvaiheessa. Näin pienennetään haitallisten bakteerien määrää ja hidastetaan kasvua.

Työssä maidosta tutkittiin kokonaisbakteerien määrää sekä koliformisia bakteereja. Näytteistä tutkittiin bakteerit samalla menetelmällä kuin muutkin raakamaitonäytteet, jotta ne olisivat verrattavissa aikaisempiin tuloksiin (2). Työssä käytettiin pohjatietona vuoden 2009 tammikuun alusta toukokuun loppuun välisenä aikana kertynyttä tietoa raakamaidon kokonaisbakteeripitoisuuksista. Menetelmänä käytettiin maljaanvalua kummallekin analyysille. Maljaanvalussa näytealustalle siirrettiin näyte steriilisti ja sen jälkeen lisättiin haluttu kasvualusta sen mukaan, mitä haluttiin määrittää.

2 RAAKAMAITO

Raakamaito on käsittelemätön tuote eli sitä ei ole vielä esimerkiksi pastöroitu ja homogenoitu. Pastörointi on lievälämpökäsittely, jossa maito kuumennetaan 15 sekunnin ajaksi vähintään 72 °C:n lämpötilaan. Pastörointi ei vaikuta maidon kemialliseen rakenteeseen tai ravintoarvoihin. Pastöroitu maito ei ole aivan mikrobittonta, sillä lievä lämpökäsittely ei tuhoa esimerkiksi bakteerien itiöitä. Pastöroinnin vaiheet ovat esikuumennus, kuumennus pastörointilämpötilaan ja jäähdytys (16). Homogenoinnissa tarkoitetaan maidon rasvapallojen pilkkomista niin pieniksi, etteivät ne nouse maidon pinnalle, vaan pysyvät tasaisesti maidossa (17).

Raakamaito on hyvä ja ravinteikas kasvualusta monille bakteereille, vaikka se sisältämä sokeri on laktoosina eikä glukoosina. Laktoosia eivät kaikki bakteerit pysty käyttämään ravintona. Taulukosta 1 näkee, kuinka paljon erilaisia ravintoaineita raakamaito pitää sisällään. Hiilihydraattien, rasvan ja proteiinien lisäksi maito sisältää monenlaisia kivennäis- ja hivenaineita ja vitamiineja, jotka edistävät bakteerien kasvua.

TAULUKKO 1. Raakamaito sisältää monenlaisia ravintoaineita, jotka luovat hyvät edellytykset bakteerien kasvulle (3)

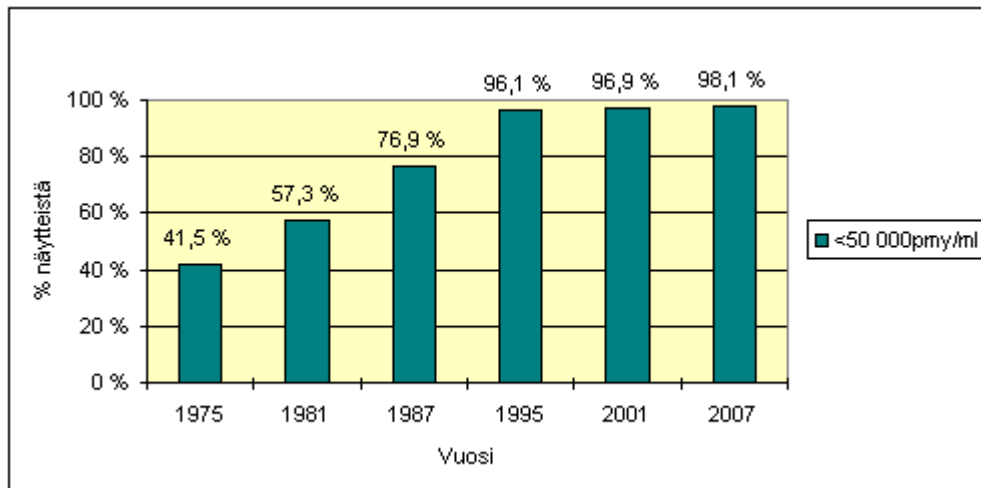
Ravintoaine	100 g raakamaitoa kohden
Perusravintoaineet	
energia laskennallinen	297 kJ
hiilihydraatit imeytyvä	4,8 g
rasva	4,4 g
proteiini	3,0 g
hiilihydraatit	
orgaaniset hapot	0,2 g
laktoosi	4,8 g
Rasva	
rasvahapot yhteensä	4,2 g
rasvahapot tyydyttyneet	3,0 g
rasvahapot yksittäistyydyttymättömät	1,0 g

Ravintoaine	100 g raakamaitoa kohden
cis	
rasvahapot monityydyttymättömät	0,1 g
kolesteroli	13,5 mg
sterolit	0,1 mg
Kivennäis- ja hivenaineet	
natrium	50,0 mg
kalium	160,0 mg
magnesium	11,0 mg
kalsium	123,0 mg
fosfori	90,0 mg
rauta	<0,1 mg
sinkki	0,4 mg
jodidi (jodi)	17,0 µg
seleeni	2,9 µg
Vitamiinit	
A-vitamiini	40,1µg
D-vitamiini	<0,1 µg
E-vitamiini alfatokoferoli	0.1 mg
k-vitamiini	0,98 µg
C-vitamiini	1.0 mg
riboflaviini (B2)	0,18 mg
tiamiini (B1)	0,03 mg
B12-vitamiini	0,4 µg
karotenoidit	19,5 µg

2.1 Raakamaidon bakteerikontaminaatioiden lähteet

Terveellä lehmällä utareessa muodostuva maito ei sisällä bakteereja, vaan ne tulevat maitoon ensimmäisen kerran vedinkanavassa. Maidon bakteereista suurin osa on peräisin eri pinnoilta, kuten lypsylaitteistosta, tilasäiliöstä, lehmän utareista ja vetimistä. Myös lypsäjän henkilökohtaisella hygienialla on merkityksensä. Navettaelman sekoittumisella maitoon on myös vaikutusta maidon bakteerimäärään. Ilmalitran keskimääräinen bakteeripitoisuus on 6 - 50 kpl/ml, josta huomattava määrä on itiömuodostajia. Maitoon joutuneista itiöistä noin 10 - 20 % on peräisin navettailmasta. (4.)

Kuvassa 1 näkyy kuinka raakamaidon bakteriologinen laatu on parantunut vuodesta 1975 vuoteen 2007 mennessä. Vuonna 1975 alle puolessa raakamaito näytteistä bakteeripitoisuus oli alle 50 000 pmy/ml. Vastaavasti vuonna 2007 enää muutama prosentti näytteistä ylitti 50 000 pmy/ml rajan. (20.)



KUVA 1. Alle 50 000 pmy/ml näytteiden määrä 1975–2007 (20)

Maidonbakteriologisen laadun parantumiseen on syynä huomion kiinnittäminen navettahygieniaan. Esimerkiksi ennen saatettiin vain utareista puhdistaa isoimmat mutakokkareet pois lehmän tullessa lypsylle.

Tilasäiliöstä maito siirretään säiliöautoon. Tässä vaiheessa tarkkaillaan maidon lämpötilaa, sillä säiliössä olevan maidon lämpötila ei saisi nousta yli 6 °C:n. Paras säilytys lämpötila maidolle olisi 4 °C, mutta maito ei saa olla missään vaiheessa jäätynyttä, sillä jäätyminen aiheuttaa maitoon makuvirheitä. Jo muutaman asteen nousu nopeuttaa bakteerien kasvua. Myös säiliön tulee olla puhdas kontaminaatoriskin minimoimiseksi. (5.)

Maito voi saada lisää bakteereja myös meijeristä. Esimerkiksi kolibakteerejen löytyminen meijeristä kertoo huonosta pesutuloksesta. (6.)

2.2 Raakamaidon bakteerit

Raakamaito sisältää monia hyviä maitohappobakteereja, joista osaa käytetään puhtasviljelminä meijeriteollisuudessa tuomaan erilaisia ominaisuuksia maitotuotteille. Raakamaito saattaa sisältää myös erilaisia taudinaiheuttajia kuten salmonellaa. Tästä syystä EU-maissa raakamaidon ja siitä valmistettujen elintarvikkeiden myyminen on hyvin rajoitettua. Yhdysvalloissa yli 300 ihmistä

vuonna 2001 sairastui juotuaan raakamaitoa ja 2001 vajaat 200 henkilöä sai oireita syötyään raakamaidosta valmistettua juustoa. (7.)

Luvuissa 2.2.1–2.2.7 esitellään muutama elintarvikkeissa esiintyvä tautia aiheuttava bakteeri, jotka saattavat esiintyä raakamaidossa esimerkiksi utaretulehduksen tai huonon hygienian vuoksi. Bakteerit myös muuttavat maidon kemiallista koostumusta esimerkiksi aiheuttavat makuvirheitä ja saostumisia. Esiteltävät bakteerit ovat valittu tunnettavuutensa tai yleisyytensä takia.

2.2.1 Salmonella

Salmonella-bakteereja on yli 2000 ja ne kuuluvat suolistobakteereihin, jotka pystyvät lisääntymään hapettomassa ja hapellisessa ympäristössä. Mikrobeja, jotka pystyvät lisääntymään ilman happea ja hapen kanssa sanotaan fakultatiivisiksi anaerobeiksi. Salmonella voi tarttua elintarvikkeista tai vedestä, joka on saastunut ihmisten tai eläinten ulosteesta. (9; 19.)

Salmonella-bakteerit eivät kuulu tasalämpöisten eläinten suolistobakteereihin, mutta ovat yleisiä vaihtolämpöisillä eläimillä. Salmonella ei yleensä tartu suoraan ihmisestä ihmiseen, sillä sairastumiseen vaaditaan sadoista tuhansista miljooniin salmonellabakteeria. (8.)

Salmonellainfektion eli salmonelloosin itämisaika voi vaihdella muutamasta tunnista kolmeen vuorokauteen ja oireet vaihtelevat pahoinvoinnista vatsakrappeluihin, ripuliin, päänsärkyyn ja kuumeeseen. Oireet kestävät muutaman päivän, mutta salmonellatartunta voi olla myös oireeton. Oireeton henkilö tällöin toimii salmonellan kantajana, ja kantajuus saattaa kestää 2 viikosta useampaan kuukauteen. (9.)

2.2.2 Listeria

Listeriat ovat yleisiä luonnossa esiintyviä bakteereja. Niitä esiintyy maaperässä, kasveissa, vesissä ja suolistoissa. *Listeria monocytogenes* on 80-luvulta lähtien tunnettu aiheuttavan sairauksia elintarvikkeiden välityksellä ihmiselle. Sitä on

löydetty maitotuotteista, lihasta, kalasta, vihanneksista, äyriäisistä ja vedestä. (8.)

Listeria monocytogenes on ainut listeriabakteereista, joka aiheuttaa ihmiselle sairastumisen. *L. monocytogenes* pystyy lisääntymään hapettomissa ja hapellisissa olosuhteissa. Bakteerin optimilämpötila on +30 – 37 °C, mutta se pystyy jakautumaan jääkaappilämpötilassa. *L. monocytogenes* säilyy hengissä kuivatuissa ja pakastetuissa elintarvikkeissa, melko alhaisessa pH:ssa sekä kestää jopa 25 %:n suolapitoisuuksia. (10.)

Taudin itämisaika on päivästä useaan viikkoon. Terveet ihmiset eivät yleensä sairastu, mutta tauti on vaarallinen lapsille, vanhuksille ja raskaana oleville, sillä se saattaa levitä sikiöön. Oireina tavallisesti ovat vakava yleisinfektio tai aivokalvontulehdus. Raskaana olevilla tartunta muistuttaa influenssaa, ja se saattaa johtaa keskenmenoon tai ennenaikaiseen synnytykseen. (10.)

2.2.3 Kampylobakteerit

Kampylobakteerit ovat tasalämpöisten eläinten ja lintujen yleinen suolistobakteeri, jotka ovat lämpökestoisia ja kasvavat parhaiten vähähappisessa ympäristössä ja noin 40 °C:n lämpötilassa (11). Kampylobakteereja löytyy siipikarjan, sian-, naudan- ja lampaanlihasta, vedestä, kissoista ja koirista. Noin 500 bakteeria aiheuttaa sairastumisen (8.). Kampylobakteeri on zoonoosi eli tauti, joka voi tarttua eläimestä ihmiseen tai ihmisestä eläimeen, mutta tarttuu hyvin harvoin sairaasta eläimestä tai ihmisestä toiseen.(11; 12, hakusanalla zoonoosi.)

Taudin itämisaika on yhdestä seitsemään päivään. Bakteeri aiheuttaa kampylobakterioosin eli suolistotulehduksen, jonka oireita ovat verinen tai limainen ripuli, korkeahko kuume, päänsärky, pahoinvointi ja kovat vatsakivut. Oireet kestävät yleensä kolme vuorokautta, ja lähes kaikki sairastuneet paranevat viikossa. Joillekin voi myöhemmin kehittyä reaktiivinen niveltulehdus. (11.)

2.2.4 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus on yleinen maaperässä, vedessä, maidossa ja viljatuotteissa esiintyvä itiöllinen bakteeri. *B.cereus* voi aiheuttaa maitoon makuvirheitä ja saostimista. Se on hyvin yleinen ruokamyrkytysten aiheuttaja. Bakteriaa on kahta tyyppiä, jotka molemmat ovat yleisiä, mutta niiden aiheuttaman myrkytyksen oireet ovat erilaiset. (8.)

Tyyppin 1 oireet, ripuli ja vatsakivut, alkavat 8–16 tunnin kuluttua saastuneen ruuan syömisestä, Ne menevät ohi vuorokaudessa. Tyyppin 2 oireena on päivän kestävä oksennustauti. Oireet tulevat jo muutaman tunnin kuluttua syömisestä. Kummassakin oireiden syynä on bakteerin muodostama toksiiini: tyyppi 1 muodostaa toksiiinia suolistossa ja tyyppi 2 muodostaa toksiiinin ruokaan. (8.)

2.2.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus on terveiden ihmisten ja eläinten iholla ja limakalvoilla yleisesti esiintyvä bakteeri. Bakteriaa esiintyy myös raakamaidossa. Se tuottaa toksiiinia, joka aiheuttaa ruokamyrkytyksen. Bakteerin elintarvikkeisiin tuottamat myrkyt ovat hyvin lämmön kestäviä, joten vaikka lämpökäsittely tuhoisi elintarvikkeessa olevat bakteerit, bakteerien tuottamat toksiiinit eivät tuhoudu. (8.)

Sairauden itämisaika on 2–5 tuntia. Oireena on voimakas ripuli ja oksennustauti sekä kouristuksia. Oireet kestävät yhdestä kolmeen päivään. (8.)

2.2.6 *Escherichia coli*

E.coli on yleinen ihmisillä ja eläimillä suolistossa elävä bakteeri. Sen löytäminen elintarvikkeesta on merkki epäsuorasta tai suorasta ulosteperäisestä saastumisesta. Osa *E.coli*-bakteereista voi aiheuttaa ruokamyrkytyksen, jonka oireena on ripuli. Muutamat bakteerikannat esimerkiksi EHEC eli enteorohemorraginen *Escherichia coli* voivat aiheuttaa vakavampia sairauksia. (8.)

Normaali *E. coli* aiheuttaa niin sanotun ”turistiripulin”. EHEC:n aiheuttamat oireet alkavat noin neljän vuorokauden itämisajan jälkeen vatsakipuina ja veriseksi muuttuvalla ripulilla. Pienille lapsille voi kehittyä munuaisvaurio, tajunnanhäiriö tai anemia. (8.)

2.2.7 Klostridit

Clostridium perfringens esiintyy yleisesti muun muassa maaperässä ja eläinten ja ihmisten suolistossa. Bakteri muodostaa itiöitä, jotka eivät tuhoudu ruuan valmistuksessa. Myrkytyksen saanut henkilö alkaa oireilla päivän sisällä tartunnasta. Oireina ovat vatsakivut, voimakas ripuli ja pahoinvointi, jotka yleensä häviävät päivässä. (8.)

Clostridium botulinum on yleinen ympäristössä elävä bakteri, jonka itiöt kestävät kuumennuskäsittelyn ja monet kannat kykenevät kasvamaan +3 °C:ssa, mutta eivät pysty lisääntymään alle pH:n 4,6. Bakteri on anaerobinen eli lisääntyy hapettomissa oloissa. *C. botulinum* tuottaa voimakasta hermomyrkkyä, botuliinia, elintarvikkeeseen ja voi myös lisääntyä imeväisikäisten suolistossa tuottaen toksiinia. Oireet alkavat tavallisesti 12–36 tunnissa. Oireet ovat alussa pahoinvointia ja oksentelua. Myöhemmin ilmenee vakavia neurologisia oireita, näköhäiriöitä, puhe- ja nielemisvaikeuksia ja etenevä lihashalvaus. Oireet voivat johtaa kuolemaan. (8.)

3 TYÖN SUORITUS

Työssä haettiin arviota sille, kuinka kauan raakamaito säilyy siilossa ylittämättä 300 000 pmy/ml rajaa. Raakamaidon bakteerimäärän kasvua seurattiin näytteessä. Näytteenä oli raakamaito, jota oli säilytetty raakamaitosiilossa yksi tai kaksi yötä ja josta otettiin kerralla noin litran näyte steriiliin pulloon. Pulloa säilytettiin tämän jälkeen jääkaapissa. Bakteereissa seurattiin pesäkemäärän ja koliformisten bakteerien määrän lisääntymistä. Työssä käytetyt menetelmät on todettu toimiviksi ja niitä on käytetty vuosia bakteerien tutkimiseen.

3.1 Pesäkemäärän määrittäminen

Pesäkemäärällä tarkoitetaan niiden mikrobien määrää, jotka muodostavat laskettavia pesäkkeitä kasvualustalla tällä menetelmällä. Menetelmä soveltuu aerobisten mikrobien määrittämiseen elintarvikkeista, rehusta ja ympäristönäytteistä. (13.)

Menetelmän periaate on näytteen siirrostaminen kasvualustalle, joka inkuboidaan aerobisesti eli annetaan solujen kasvaa tietyn aikaa tietyssä lämpötilassa ja hapellisissa oloissa. Kaikki näkyvät pesäkkeet lasketaan. (13.)

3.1.1 Kasvualusta, laimennos ja viljely

Kasvualustana käytettiin pesäkelaskenta-agaria (Plate count skim milk agar, Merck). Kyseistä alustaa käytettiin, koska kasvualustan koostumus vastasi enemmän maitoa kuin tavallinen pesäkelaskenta-agar. Kasvualustat valmistettiin seuraavasti: 20 grammaa agaria liuotettiin litraan puhdasta vettä. Seos laitettiin kylmään vesihauteeseen ja kuumennettiin hitaasti kiehuvaksi samalla sekoittaen, jonka jälkeen autoklavoitiin 15 minuuttia 121 °C:ssa. Autoklavoinin jälkeen agar temperoitiin 45 °C:n lämpötilaan. Agar on temperoitava, sillä liian lämmin agar tuhoaisi näytteestä bakteereja ja liian viileä agar alkaisi jähmettyä ennen maljausta.

Näytteistä tehtiin sopiva laimennos peptoni-suolaveteen, jonka ohje löytyy luvusta 3.3. Sopiva laimennos maljalla on 10^{-3} (10^{-4} -laimennosta kannattaa käyttää kolme päivää vanhalle raakamaidolle, jolloin bakteerien laskeminen maljalta on helpompaa). Raakamaitonäytteestä siirrettiin 1 ml steriiliin peptoni-suolaveteen (99 ml). Laimennoksesta siirrettiin 0,1 ml maljalle. Temperoitunut agar kaadettiin maljalle, ja sekoitettiin näyte ja agar keskenään. Sen jälkeen valmistettiin rinnakkaismalja. Agarin annettiin jähmettyä, jonka jälkeen maljat siirrettiin lämpökaappiin. Agaria inkuboitiin 30 °C:ssa kolme vuorokautta, jonka jälkeen luettiin kaikki pesäkkeet maljalta (13.). 30 °C on monelle bakteerille hyvä kasvulämpötila, ja kolmen päivän kasvatusaikana hitaammin kasvavat bakteeritkin kerkeävät muodostaa näkyvän pesäkkeen.

3.2 Koliryhmän bakteerien määrittäminen

Koliryhmän bakteereilla tarkoitetaan sauvamaisia, gram-negatiivisia, oksidaasinegatiivisia, aerobeja tai fakultatiivisesti anaerobeja itiöttömiä bakteereja. Ne muodostavat laktoosista kaasuja ja happoja. Bakteerit kuuluvat *Enterobacteriaceae*-heimoon, johon kuuluvat muun muassa suvut *Enchericia*, *Entrerobacter*, *Klebsiella* ja *Citrobacter*. Näistä bakteereista seurataan etenkin *Encherichia coli* -bakteeria, joka on yleinen suolistobakteeri ja sen esiintyminen on merkinä huonosta hygieniasta. (14.)

Menetelmässä näyte sekoitetaan kasvualustaan ja päälle valetaan peittokerros. Maljat inkuboidaan 1 vrk ajan 37 °C:ssa. Menetelmä sopii suurimman osan koliryhmän bakteerien määrittämiseen elintarvikkeista, rehusta ja ympäristönäytteistä (14). Menetelmällä ei voida esimerkiksi määrittää joitakin *E.coli*-tyyppejä, kuten *E. colia* O 157:H7 (EHEC), koska se tarvitsee rikastuksen, erikoisalustan ja varmistustestin. (15.)

3.2.1 Kasvualusta, laimennokset ja viljely

Kasvualustana käytetään V.R.B.G.A:ta (Violet Red Bile Glucose Agar, LAB). Kasvualustat valmistettiin liuottamalla 38,5 grammaa agaria yhteen litraan

puhdasta vettä Erlenmeyerissä. Agar sekoitettiin kunnolla, jonka jälkeen astian suulle laitettiin pumpulia. Astia laitettiin vesihauteeseen ja lämmitettiin kiehuvaksi usein sekoittaen, jottei agar palaisi pohjaan kiinni. Agarin kirkastuttua niin, ettei liukenematonta agaria näkynyt, se otettiin pois vesihauteesta ja temperoitiin 45 °C:n lämpötilaan. Agaria ei saa autoklavoida.

Näytteistä tehtiin sopiva laimennos peptoni-suolaveteen. Vuorokauden vanhat näytteet voitiin määrittää pipetoimalla 0,1 ml suoraan maljalle, jolloin laimennuskertoimeksi tulee 10^{-1} . Vanhemmissa näytteissä sopiva laimennos maljalla oli 10^{-3} . Raakamaitonäytteestä siirrettiin 1 ml steriiliin peptoni-suolaveteen (99 ml). Laimennoksesta siirrettiin 0,1 ml maljalle. Temperoitunut agar kaadettiin maljalle, ja sekoitettiin näyte ja agar keskenään. Sen jälkeen valmistettiin rinnakkaisalja. Jäähdyneiden agarien päälle valettiin ohut peittokerros. Maljat inkuboitiin 37 °C:ssa yhden vuorokauden ajan. *E.colin* tyypilliset pesäkkeet ovat tummanpunaisia ja pesäkkeisen ympärillä voi olla saostumakehä. Muilla koliryhmän bakteereilla on violetti, pinnan alla kasvava niin sanottu syväpesäke. (14.)

3.3 Laimennosliuos

Peptoni-suolavesi on laimennusliuos. Paljon bakteereja sisältävät näytteet kannattaa laimentaa, sillä maljalta pesäkkeiden laskeminen on tällöin helpompaa. Bakteerit säilyvät myös paremmin hengissä fysiologisessa suolaliuoksessa kuin pelkässä puhtaassa vedessä. Solujen kanssa osmoottisesti samanlainen suolaliuos ei vahingoita liuoksessa olevia soluja. (12, hakusanalla fysiologinen suolaliuos.)

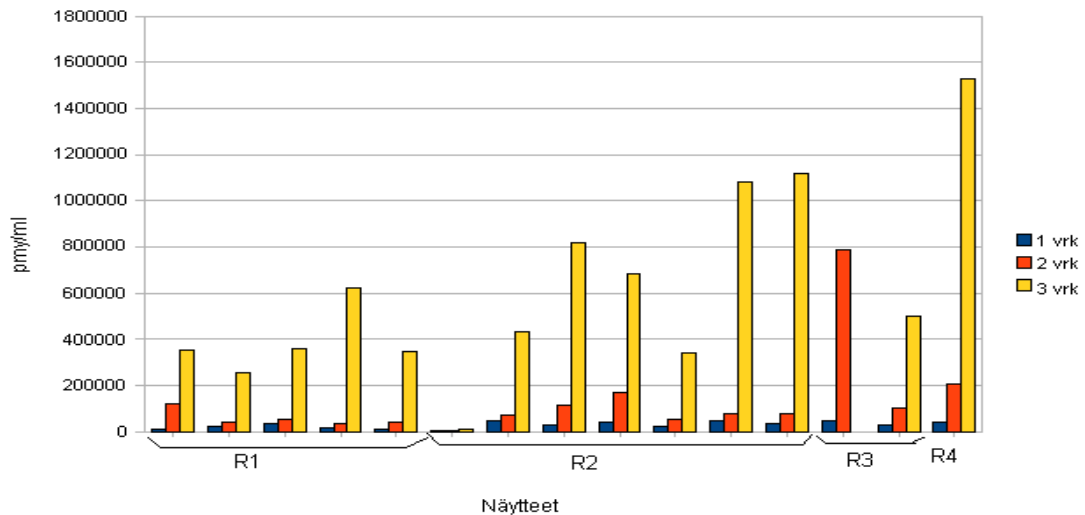
Laimennusliuos valmistetaan liuottamalla litraan puhdasta vettä 8,5 grammaa NaCl:a, joka on pro analysi -laatua ja valmistaja Merck, ja 1 gramma peptonia, joka on valmistettu kaseiinista (mikrobiologia laatua ja valmistaja Merck). Liuos annostellaan halutun kokoisiksi annoksiksi esimerkiksi 99 ml. Liuos autoklavoidaan 121 °C:ssa 15 minuuttia.

4 TULOKSET

Materiaalia saatiin työn tuloksista sekä tutkimalla vuoden 2009 tammikuun alusta toukokuun loppuun välisenä aikana kertynyttä tietoa raakamaidon kokonaisbakteeripitoisuuksista. Näytteiden erilaisuus vaikutti bakteerimäärään, mutta kokonaisbakteerien määrät olivat keskenään melko samanlaisia. Koliryhmän tulokset taas saattoivat erota toisistaan hyvinkin paljon.

Näytteitä oli neljä erilaista. Ensimmäisessä ryhmässä (R1) oli 6 näytettä, jotka olivat olleet yhden yön siilossa ja lämpötila on 5 °C. Toisessa ryhmässä (R2) oli 8 näytettä, jotka ovat muuten samanlaisia kuin edelliset, mutta sisältävät varastomaitoa eli edelliseltä päivältä jäänyttä maitoa sekoitettuna uuteen maitoon. Kolmannessa ryhmässä (R3) oli kaksi näytettä, jotka ovat olleet kaksi yötä raakamaitosiilossa. Neljännessä ryhmässä (R4) oli yksi näyte siilosta, joka oli yön aikana lämmennyt 7 °C:seen.

Kokonaisbakteerien määrä raakamaidossa pitäisi olla alle 300 000 pmy/ml. Kuvassa 2 näkyy, kuinka kaksi näytettä jää kolmannen päivän kohdalla alle 300 000 pmy/ml, mutta toisessa näytteessä oli muutenkin poikkeuksellisen vähän bakteereja. Korkein bakteerimäärä oli näytteellä, joka oli yön aikana lämmennyt 7 °C:seenn. Kolmantena päivänä tällä näytteellä bakteerimäärä oli yli 1 500 000 pmy/ml, mikä on viisinkertainen määrä verrattuna raja-arvoon. Myös yksi näyte meni rajan yli jo toisena päivänä.

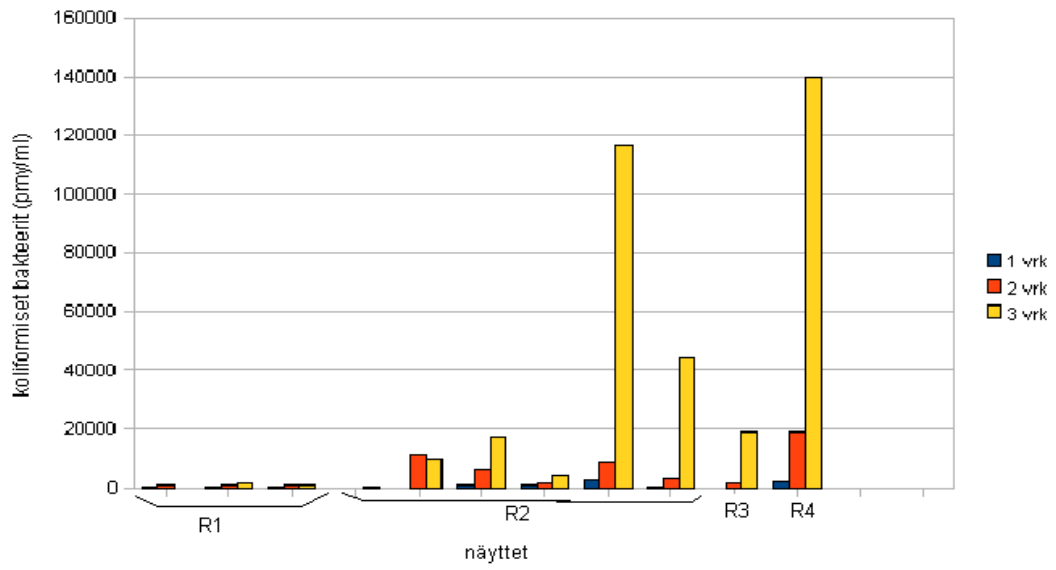


KUVA 2. Raakamaitonäytteiden kokonaisbakteerit kolmen vuorokauden ajalta

Yleisimmin bakteerimäärät vuorokauden vanhoille maidoille oli 10 000–50 000 pmy/ml, kaksi vuorokautta vanhoille 70 000–200 000 pmy/ml ja kolme päivää vanhoille näytteille yli 300 000 pmy/ml. Vuoden 2009 tammikuun ja toukokuun välillä viisi raakamaitonäytettä ylittivät rajan. Näytteet olivat tällöin kaksi vuorokautta vanhoja. Samalta aikaväliltä löytyy 13 maitoerää, jotka ovat kaksi vuorokautta vanhoja, mutta eivät ylittäneet rajoja. (2.)

Omat tulokset ja vanhat tulokset tukivat toisiaan. Bakteerien määrät menivät suunnilleen samalla lailla ensimmäisen ja toisen päivän kohdalla. Kolmannesta päivästä oli vain omat tulokset, sillä raakamaito pyritään meijerissä käyttämään mahdollisimman nopeasti.

Koliryhmän bakteerien määrät vaihtelivat suuresti, kuten kuvasta 3 voi huomata. Kuten kokonaisbakteereissa niin tässäkin suurin bakteerimäärä oli kolmannen vuorokauden kohdalla näytteellä, joka oli lämmennyt 7 °C:seen. Tätä määritelmää ei tehty normaalisti raakamaidolle, joten vertailumateriaalia ei ollut.



KUVA 3. Raakamaitonäytteiden koliformiset bakteerit kolmen vuorokauden ajalta.

5 POHDINTA

Työn tarkoituksena oli selvittää, kuinka kauan raakamaito säilyy siilossa käyttökelpoisena. Työn lähtökohtana oli EU-asetuksen 853/2004 muutos, joka edellytti meijerien tekemään arvio raakamaidon säilymisestä.

Työn tulokset osoittaisivat, että kolme päivää vanhat maidot menisivät yli rajojen, mutta vuoden 2009 tammikuun ja toukokuun välisenä aikana oli viisi tapausta, joissa raja ylittyi kahden vuorokauden vanhoissa maidoissa. Samalta aikaväliltä loput kaksi vuorokautta vanhat maidot eivät ylittäneet rajoja. Myös menetelmien tekijästä johtuvaa tulosten vaihtelu testattiin tekemällä vertailumaljat. Näin varmistettiin testin tulosten vertailtavuus aikaisempiin tuloksiin.

Tulokseen vääristäviä tekijöitä on monia. Raakamaitosiiloissa on sekoitus, mutta näytepullot olivat ilman sekoitusta. Sekoitus estää esimerkiksi rasvakerroksen syntymistä maidon pinnalle. Yhden tai kaksi yötä siilossa olleiden näytteiden välillä ei ollut kuitenkaan poikkeuksellista eroa bakteerimäärissä. Myös se, kuinka kylmänä raakamaito on pysynyt jääkaapissa, vaikuttaa asiaan. Lämpötilan vaikutus tuli esiin näytteessä, joka oli lämmennyt 7 °C:seen. Jo kahden asteen lämpötilan nousu lisäsi huomattavasti bakteerien lisääntymistä. Jääkaapin ovea avattaessa jääkaappiin pääsee lämmintä ilmaa, mikä saattaa nostaa hieman jääkaapin lämpötilaa.

Myös vuodenaikojen vaihtelulla on merkitystä bakteerimääriin. Kesällä raakamaidon laatu muuttuu hieman, sillä lehmät saavat tuoretta ravintoa ulkona. Kesällä pitää olla myös tarkkana lämpötilojen suhteen kuljetuksen aikana, sillä ulkolämpötila saattaa nostaa maidon lämpötilaa.

LÄHTEET

1. EU 1020/2008. Komission asetus(EY) N:o 1020/2008. Saatavissa:
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:277:0008:0014:FI:PDF>. Hakupäivä: 22.4.2010.
2. Raakamaidon kokonaisbakteeritulokset. 2009. Sisäinen dokumentti. Valio Oy, Äänekoski.
3. Raakamaidon ravintokoostumus. Elintarvikkeiden koostumustietopankki. Saatavissa: <http://www.finelli.fi/food.php?foodid=600&lang=fi>. Hakupäivä 3.8.2009.
4. Mikrobiologinen koostumus. Hämeen ammattikorkeakoulu. Saatavissa: http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMI/Milkworks/Oppimateriaali/mita_maito_on/mikrobiologinen_koostumus. Hakupäivä 3.8.2009.
5. Kylmäketju. Valio Oy. Saatavissa:
http://www.valio.fi/maitojame/mm4_04/kylmäketju.html. Hakupäivä 4.8.2009.
6. Pesuongelmien selvitys. Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus. Saatavissa: www.mtt.fi/julkaisut/maitokoneet/Pesuongelmienselvitys.pdf. Hakupäivä 4.8.2009.
7. Raw Milk Risk. Florida Department of Health. Saatavissa:
http://www.doh.state.fl.us/chdJackson/Documents/raw_milk_risk.pdf. Hakupäivä 4.8.2009.
8. Taimisto, Anna – Maija – Sivelä, Seppo 2002. Elintarvikevälitteiset taudinaiheuttajat. Sisäinen dokumentti. Valio Oy T&K.
9. Salmonella. Elintarviketurvallisuusvirasto. Saatavissa:
http://www.evira.fi/portal/fi/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_bakteereja/salmonella/. Hakupäivä 10.3.2010.

10. Listeriabakteeri. Elintarviketurvallisuusvirasto. Saatavissa: http://www.evira.fi/portal/fi/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_bakteereja/listeriabakteeri/. Hakupäivä 10.3.2010.
11. Kampylobakteeri. Elintarviketurvallisuusvirasto. Saatavissa: http://www.evira.fi/portal/fi/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_bakteereja/kampylobakteerit/. Hakupäivä 10.3.2010.
12. Wikipedia 2010. Vapaa tietosanakirja. Saatavissa: <http://fi.wikipedia.org/>. Hakupäivä 5.4.2010.
13. Pesäkemäärä. 4. versio 30.9.2003. Työohje. Sisäinen dokumentti. Valio Oy.
14. Koliryhmän bakteerit. 5. versio 24.3.2006. Työohje. Sisäinen dokumentti. Valio Oy
15. Escherichia coli. 5. versio 24.3.2006. Työohje. Sisäinen dokumentti. Valio Oy
16. Pastörinti. Hämeen ammattikorkeakoulu. Saatavissa: http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMI/Milkworks/Oppimateriaali/kasittely_meijerissa/pastorointi. Hakupäivä 18.4.2010.
17. Homogenisointi. Hämeen ammattikorkeakoulu. Saatavissa: http://portal.hamk.fi/portal/page/portal/HAMI/Milkworks/Oppimateriaali/kasittely_meijerissa/homogenointi. Hakupäivä 18.4.2010.
18. HACCP-järjestelmä. Elintarviketurvallisuusvirasto. Saatavissa: <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/haccp/>. Hakupäivä 23.4.2010.
19. Yleistä mikrobeista. Elintarviketurvallisuusvirasto. Saatavissa: http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/yleista_mikrobeista/. Hakupäivä 23.4.2010.
20. Maidon bakteriologisen laadun kehitys 1975–2007 Suomessa. Maitohygienialiitto. Saatavissa:

http://www.maitohygienialiitto.fi/bakt_laadun_kehitys_03.html. Hakupäivä
3.8.2009