

PROCESNI FAKTORI KOJI UTIČU NA RAST I RAZMNOŽAVANJE MIKROORGANIZAMA U HRANI – MLEKO I PROIZVODI OD MLEKA

Doc. dr Tijana Ledina

Podela faktora koji utiču na mikroorganizme u hrani

INTRINZIČ FAKTORI:

- nutrijenti – katabolizam laktoze i proteolitička
- aktivnost
- pH i puferski kapacitet
- redoks potencijal
- aktivnost vode – a_w
- antimikrobni sastojci i strukture

EKSTRINZIČ FAKTORI:

- temperatura
- relativna vlažnost
- način pakovanja – zaštitna atmosfera

IMPLICIT FAKTORI:

- inicijalni broj
- razvojne faze i ritam reprodukcije
- međusobni odnosi - interakcije

Šta sve imamo na raspolaganju u „borbi“ sa nepoželjnim bakterijama?

- **Dobrom higijenskom praksom** sprečavamo kontaminaciju
- Hladnim lancem (**kontrolom temperature**) onemogućavamo da se bakterije dalje umnožavaju
- **Procesnim faktorima** eliminišemo nepoželjne mikroorganizme (termička obrada mleka)

Podela mikroorganizama prema afinitetu za pH vrednosti

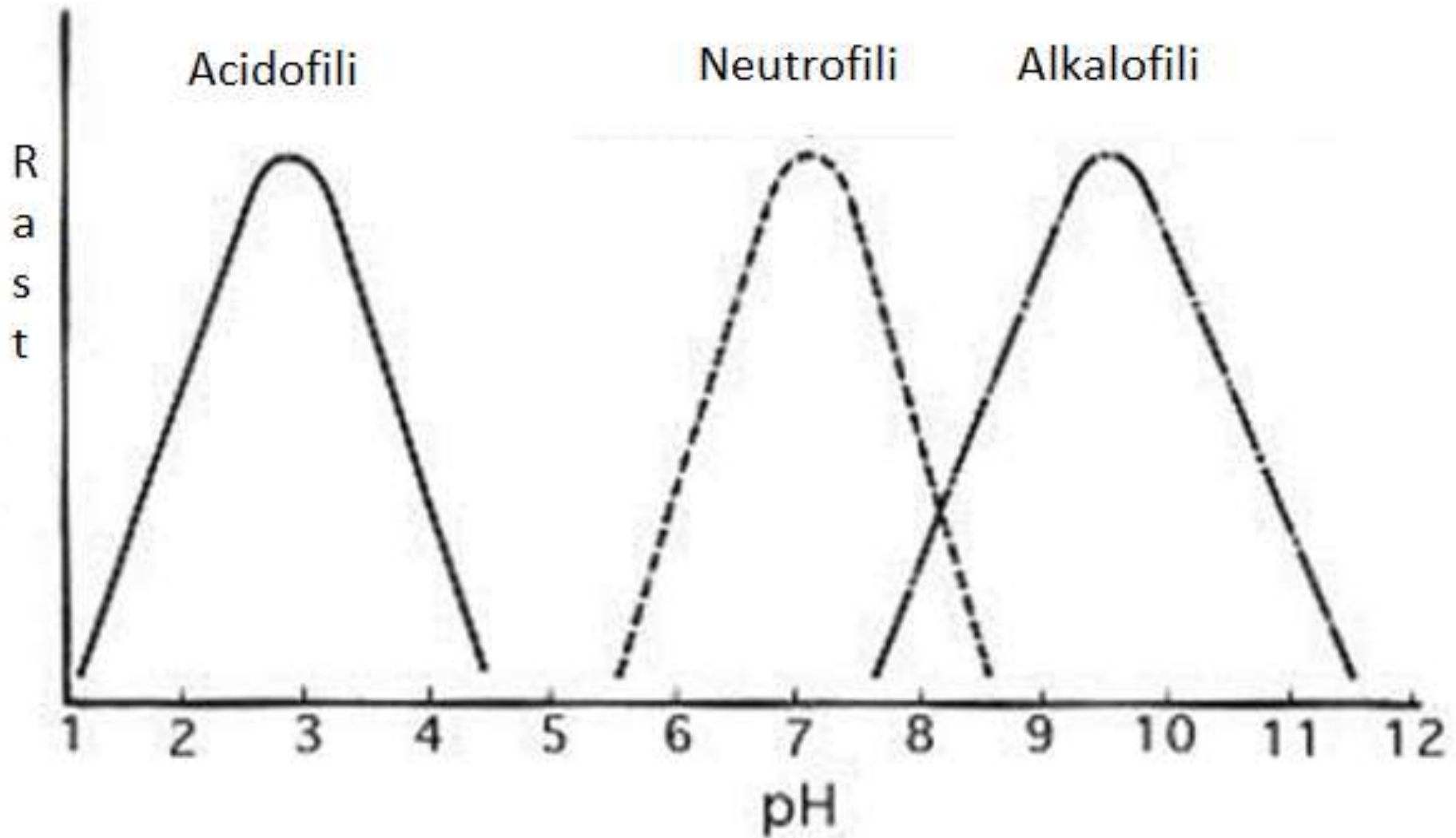


Table 3-5. Approximate pH values permitting the growth of selected pathogens in food.

Microorganism	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Clostridium perfringens</i>	5.5 - 5.8	7.2	8.0 - 9.0
<i>Vibrio vulnificus</i>	5.0	7.8	10.2
<i>Bacillus cereus</i>	4.9	6.0 - 7.0	8.8
<i>Campylobacter</i> spp.	4.9	6.5 - 7.5	9.0
<i>Shigella</i> spp.	4.9		9.3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4.8	7.8 - 8.6	11.0
<i>Clostridium botulinum</i> toxin	4.6		8.5
<i>Clostridium botulinum</i> growth	4.6		8.5
<i>Staphylococcus aureus</i> growth	4.0	6.0 - 7.0	10.0
<i>Staphylococcus aureus</i> toxin	4.5	7.0 - 8.0	9.6
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	4.4	6.0 - 7.0	9.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	4.39	7.0	9.4
<i>Salmonella</i> spp.	4.2 ¹	7.0 - 7.5	9.5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4.2	7.2	9.6

Sources: Table 5.3 in ICMSF 1980, p 101.

¹pH minimum as low as 3.8 has been reported when acidulants other than acetic acid or equivalent are used.

Fermentisani proizvodi od mleka – jogurt

- Niska pH vrednost
- Uticaj bakterija mlečne kiseline (jogurtne kulture)

	Vrsta namirnice	Opseg pH
Proizvodi od mleka	Maslac	6,1-6,4
	Mlačenica	4,5
	Mleko	6,3-6,5
	Pavaka	6,5
	Sir čedar	5,9
	Jogurt	3,8-4,2

Aktivnost vode

Table 3-2. Approximate a_w values for growth of selected pathogens in food.

Organism	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Campylobacter spp.</i>	0.98	0.99	
<i>Clostridium botulinum</i> type E*	0.97		
<i>Shigella spp.</i>	0.97		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.97		
<i>Vibrio vulnificus</i>	0.96	0.98	0.99
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	0.95	0.99	
<i>Salmonella spp.</i>	0.94	0.99	>0.99
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	0.98	0.99
<i>Bacillus cereus</i>	0.93		
<i>Clostridium botulinum</i> types A & B**	0.93		
<i>Clostridium perfringens</i>	0.943	0.95-0.96	0.97
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.92		
<i>Staphylococcus aureus</i> growth	0.83	0.98	0.99
<i>Staphylococcus aureus</i> toxin	0.88	0.98	0.99

ICMSF 1996.

* proteolytic; * non-proteolytic

Vrsta namirnice	a_w vrednost
Kondenzovano mleko	0,83
Parmezan	0,68-0,76
Mleko u prahu	0,20

Voda je neophodna za metabolizam i rast mikroorganizama s obzirom da čini 80 do 90 % njihove mase. Aktivnost vode NIJE ISTO što i sadržaj vode – pojedine namirnice mogu da imaju visok sadržaj vode, ali nisku aktivnost vode, jer je ona vezana za druge molekule u namirnicama. Sušenjem, smrzavanjem, soljenjem i dodavanjem materija rastvorljivih u vodi (šećera) opada sadržaj vode, a raste osmotski pritisak.

Podela mikroorganizama prema opsegu temperature

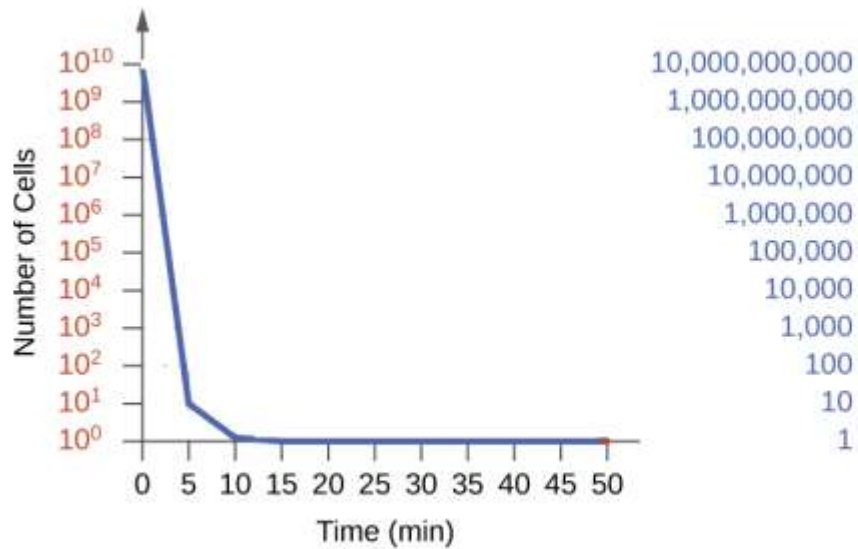
1. **PSIHROFILI** – „COLD LOVING“ (Optimalno: 15°C, ne rastu iznad 25°C)
2. **PSIHROTROFI** (Bez obzira na optimalnu, rastu pri $T < 7^\circ\text{C}$. Optimalno: 25°C, ne rastu $> 40^\circ\text{C}$)
3. **MEZOFILI** (Optimalno: 37°C, opseg: 25-40°C)
4. **TERMOFILI** (Optimalno: 50-60°C, ne rastu $< 45^\circ\text{C}$)
5. **EKSTREMNI TERMOFILI** (Optimalno: $> 80^\circ\text{C}$)

Procesni faktor - hlađenje

- Temperatura utiče na rast bakterija tako što se menja konformacija makromolekula u ćeliji (pre svega, utiče na aktivnost enzima)
- Hlađenje ne uništava bakterijske ćelije, već samo zaustavlja metaboličke procese
- Kod psihrotrofnih mikroorganizama, pri niskim temperaturama se zadržava fluidnost ćelijske membrane, odnosno funkcionalnost, transport kroz membranu i aktivnost enzima

Uticaj visokih temperatura

Microbial Death Curve



Time (min)	Number of cells
0	10 ¹⁰
5	10 ⁹
10	10 ⁸
15	10 ⁷
20	10 ⁶
25	10 ⁵
30	10 ⁴
35	10 ³
40	10 ²
45	10 ¹
50	10 ⁰

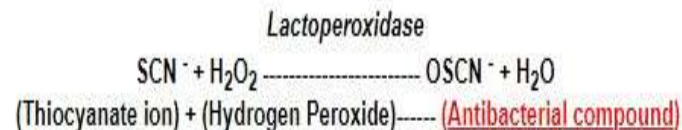
What is meant by a 5 log reduction?

One log reduction reduces initial numbers by 10. Assuming we have 100 infective doses of *C. burnetii* per ml of milk held at 72°C and that the D_{72°C} for this pathogen is 1.88 seconds then we can detail the effect of log reductions as follows. Note cells and infective doses are taken as equivalent below for brevity.

- One log reduction will reduce the concentration of *C. burnetii* to 10 cells/ml. Holding time 1.88 seconds.
- Two log reductions gives 1 cell / ml (After 1.88 x 2 = 3.76 seconds)
- Three log reductions gives 0.1 cell / ml (After 1.88 x 3 = 5.64 seconds)
- Four log reductions gives 0.01 cell / ml (After 1.88 x 4 = 7.54 seconds)
- Five log reductions gives 0.001 cell / ml (After 1.88 x 5 = 9.4 seconds)

Antimikrobni sestojci

- LAKTOFERIN – multifunkcionalni Fe glikoprotein; bakteriostatski i baktericidni efekat
- LIZOZIM – liza ćelija (*L. monocytogenes*, *Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium tyrobutyricum*); EDTA; posebno delotvoran pri niskim T
- LAKTOPEROKSIDAZA (30mg/l) H₂O₂ TIOCIJANAT (SCN⁻) sistem
- BAKTERIOCINI



2. What is the Lactoperoxidase system and how does it work?

The Lactoperoxidase system (LP-s) consists of the production of an antibacterial compound from the thiocyanate ion catalysed by Lactoperoxidase in the presence of hydrogen peroxide. This antibacterial system is naturally found in various body fluids including tears, saliva and gastric juice. The two essential components for the system, namely thiocyanate and hydrogen peroxide, are naturally present in milk in varying concentrations, depending on the feed given and on the species/breed of animal.

Uticaj korisne mikrobiote – mehanizmi antagonizma BMK

- Antagonizam - inhibicija drugih (MO kvara ili patogenih vrsta) organizama putem kompeticije za hranjive materije, ili produkcijom metabolita sa antimikrobnim delovanjem
- Mikrobna interferencija - efikasni nespecifični mehanizam kontrole uobičajen za sve populacije i sredine (niše) uključujući i namirnice; inhibicija rasta određenih MO od strane drugih članova habitata i to na osnovu kompeticije za hranjive materije, ostvarivanja nepovoljne sredine te kompeticije za adhezijska mesta

Antimikrobno delovanje BMK

Produkt	Glavni <i>target</i> organizmi
<u>Organske kiseline</u> Mlečna kiselina Sirćetna kiselina	Truležne i Gram negativne bakterije, pojedine plesni Truležne bakterije, klostridije, pojedini kvasci i plesni
Hidrogen peroksid	Patogeni i MO kvara posebno u namirnicama bogatim na sadržaju belančevina
<u>Enzimi</u> Laktoperoksidaza sistem sa H ₂ O ₂ Lizozim (tehnologija rekombinantne DNK)	Patogeni i MO kvara (mleko i proizvodi od mleka) Nepoželjni Gram pozitivni MO
<u>Metaboliti male molekulske mase</u> Reuterin (3-OH-propionaldehid) Diacetil Masne kiseline	Široki spektar bakterija, kvasci i plesni Gram negativne bakterije Različite bakterije
<u>Bakteriocini</u> nizin	Pojedine BMK i Gram pozitivne bakterije, posebno sporogeni MO

Bakteriocini

- Heterogena grupa antimikrobnih proteina i peptida koji deluju antagonistički primarno prema blisko srodnim vrstama MO
- Klasifikacija
- Klasa I: (klasa Ia – lantibiotici; Ib – labirintopeptini; Ic – sanktibiotici)
- Klasa II (mali termostabilni peptidi): Iia - pediocinu slični bakteriocini sa antilisterija efektom; Iib - dvokomponentni bakteriocini; Iic- cirkularni bakteriocini; Iid – nemodifikovani bakteriocini)
- Klasa III-veliki (>30kDa) termolabilni proteini
- Klasa IV-kompleksni bakteriocini koji sadrže ugljenohidratnu i/ili lipidnu komponentu

Da li su srpski tradicionalni sirevi bezbedni, iako se prave od sirovog mleka?



Iako nema termičkog tretmana, niska aktivnost vode, niska pH vrednost, bakterije mlečne kiseline utiču na patogene mikroorganizme u ovim proizvodima

Hurdle technology

- *Hurdles*” (barijere, prepreke) – fizičko hemijski parametri koje možemo podešavati na način da time osiguramo mikrobiološku stabilnost i bezbednost hrane.
- Primer: Proizvodi sa $\text{pH} \leq 4.4$ **ili** $a_w \leq 0.92$ ne podržavaju rast *Listeria monocytogenes*, ili proizvodi sa $\text{pH} \leq 5.0$ i $a_w \leq 0.94$

