

Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica



Mikrobiota mleka

dr Jasna Đorđević

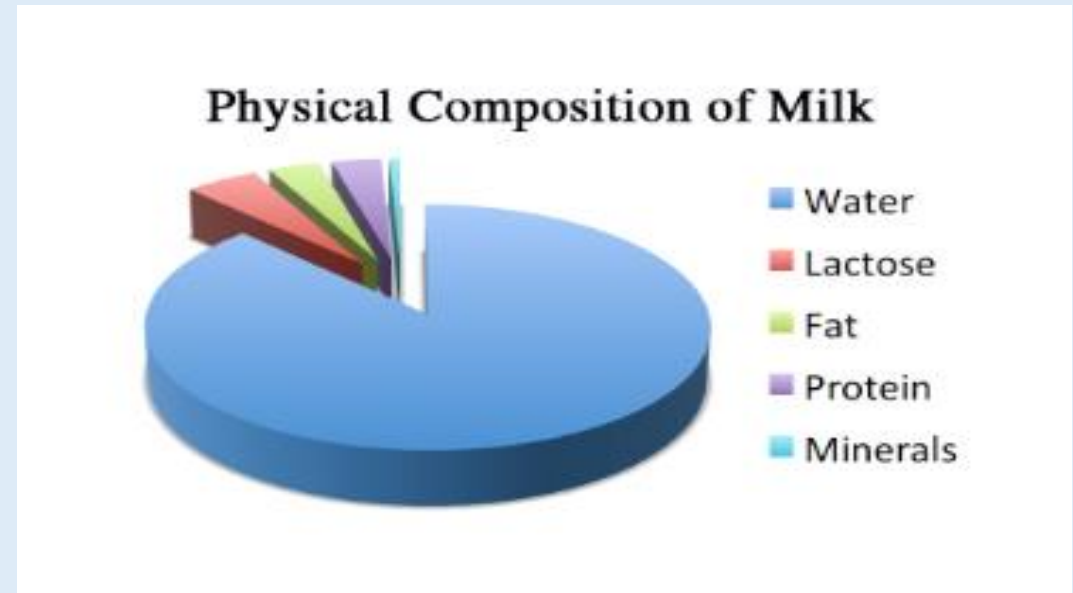
	<p><u>Food Technology</u> <i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Enterococcus</i> <i>Propionibacterium</i></p>
	<p><u>Health Promotion</u> <i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Enterococcus</i> Some yeasts</p>
	<p><u>Spoilage</u> <i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Chryseobacterium</i> <i>Clostridium</i> Phage</p>
	<p><u>Illness</u> <i>Listeria</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Campylobacter</i> <i>Mycobacterium</i> Fungi - Aflatoxins</p>



Patogeni mikroorganizmi



Saprofitni mikroorganizmi



Izvori kontaminacije mleka

Primarna ili sekretorna kontaminacija mleka

- 300 CFU/ml mleka
- mikrokoke i *Corynebacterium bovis*

Sekundarna ili postsekretorna kontaminacija mleka

Nivo zavisi od načina dobijanja mleka i postupaka sa mlekom nakon muže

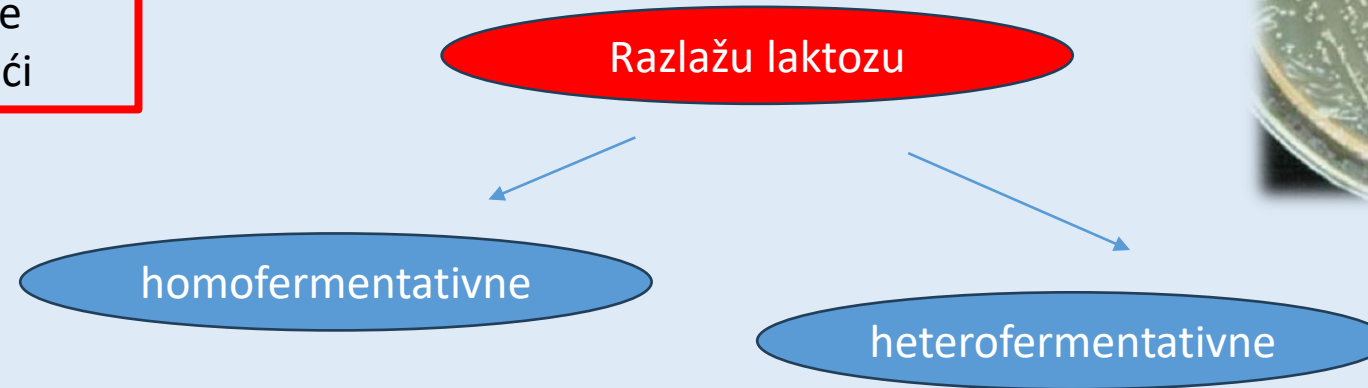
- sa životinja (preko deskvamiranog epitela, dlaka, balege, hrane, prostirke)
- iz vazduha – do 1000 CFU/ml
- sa pribora za mužu i posuda za prihvatanje mleka (sisne čaše, kratka i duga cev i kolektor)
 - psihrotrofne gram negativne bakterije, aerobne sporogene bakterije iz roda *Bacillus* i anaerobne sporogene bakterije iz roda *Clostridium*; 10^4 cfu/ml
- od čoveka (ruke, odeća)

✓ Baktericidna faza/ bakteriostatska faza mleka



Bakterije mlečne kiseline

- Gram pozitivne koke
- Gram pozitivni štapići



✓ Kvar sirovog nerashlađenog mleka

Bakterije iz rodova *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* i vrsta *Streptococcus thermophilus*

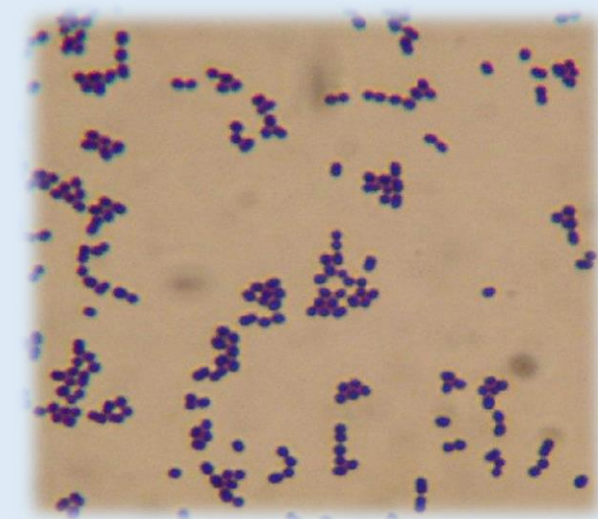
Bakterije iz roda *Lactococcus*

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
 - Kontaminacija opreme za mužu česticama prašine i trave
 - Optimalna temperatura razmnožavanja je 30°C (neki sojevi mogu i pri 7°C)
 - Pri 25°C razlaže laktozu, stvara mlečnu kiselinu i snižava kiselost do pH 4,5
 - Slabo hidrolizuje proteine, masti ne razlaže
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
 - Optimalna temperatura razmnožavanja 20 – 25°C (može i pri 10°C)
 - Pri 10 - 18°C stvara sluzaste kapsule (bakterijska kultura je viskozna ili tegljiva)
- *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*

Heterofermentativna – razlaganjem laktoze stvara mlečnu kiselinu, acetoin, diacetil i CO₂

Vrste se razlikuju na osnovu sposobnosti korišćenja arginina i citrata, temperature rasta i tolerancije na so

Utilizacija rezidualne laktoze tokom prve faze zrenja kod sireva od sirovog mleka



Laktobacili

- 25 rodova
- 594 vrste
- 58 podvrsta

- Gram pozitivni, nesporogeni, nepokretni štapići
- Snižena pH vrednost i snižen sadržaj kiseonika
- Visoke koncentracije soli, šećera, alkohola i kiseline
 - Temperatura rasta – od 5 do 55°C

Carnobacterium maltaromaticum – ukus na malt

Lactobacillus bifermentas – nadimanje sireva

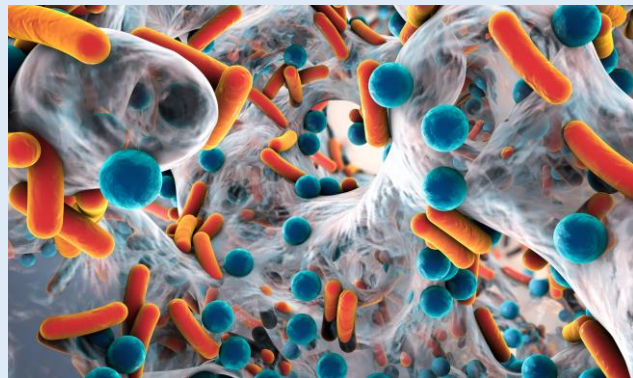
Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*

Lactobacillus casei subsp. *casei*

Lactobacillus acidophilus

Lentibacillus kefir

Razmnožavanje laktobacila → Razlaganje laktoze → Nakupljanje mlečne kiseline → Pad pH vrednosti



Psihrotrofna mikrobiota

BEZ OBZIRA NA OPTIMALNU TEMPERATURU RASTA, MOGU DA SE RAZMNOŽAVAJU PRI $\leq 7^{\circ}\text{C}$

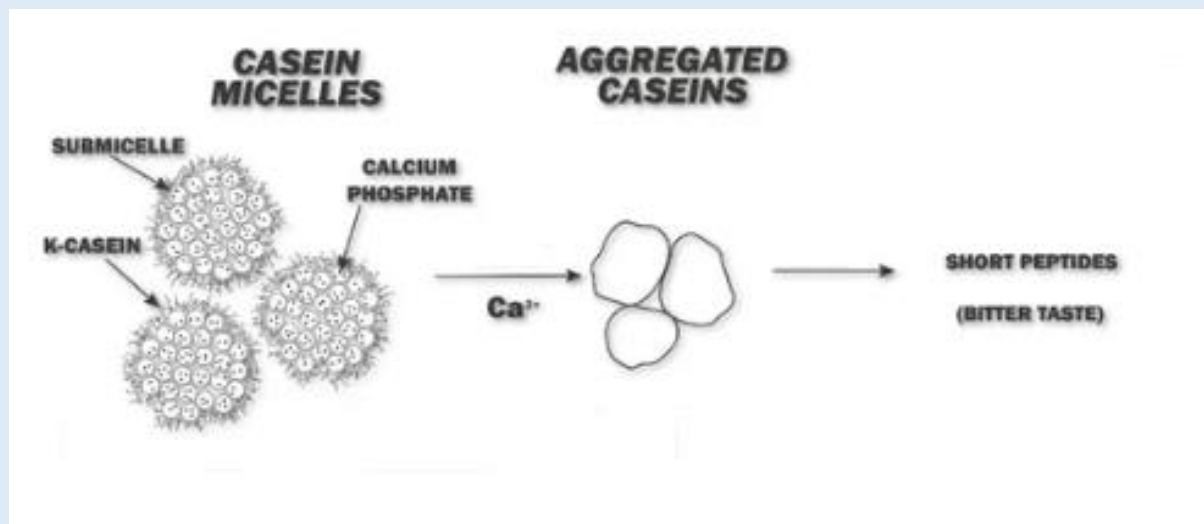
- ✓ Gram negativne aerobne bakterije iz rodova *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*
 - ✓ Enterobacteriaceae (*Escherichia* – *E. coli*; *Enterobacter* - *E. aerogenes*, *E. cloace*)
 - ✓ Neke vrste mikrokokka
 - ✓ Plesni iz rodova *Geotrichum*, *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Fusarium*
 - ✓ Kvasci iz rodova *Candida*, *Cryptococcus* i *Torulopsis*



- Kontaminacija iz vode, prostirke, hrane, pribora i opreme za mužu

Stvaraju ekstracelularne termostabilne proteinaze i lipaze

- Endopeptidaze razlažu kazein na peptide
- Proteinaze deluju na k-kazein → odvaja se glikomakropeptid → destabilizacija kazeina → koagulacija mleka
- Hidroliza β -kazeina teče brže od α -kazeina → promena boje i ukusa mleka (siva boja i gorak ukus)
- Lipaze hidrolitički razlažu mlečnu mast → užegao miris i ukus mleka



Bakterije iz roda *Pseudomonas*

Pseudomonas aeruginosa, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas viscosa*

- Izraženi proteoliti i lipoliti
- Slabi saharoliti
- 21°C (0 do 37°C)
- Generacijsko vreme 8-12 h pri 3°C, 5,5-10,5 h pri 3-5°C

P. fluorescens i *P. fragi* – užegao ukus pavlake i maslaca

P. putrefaciens – ukus na trulež

P. viscosa – žutosmeđa sluz na površini sira, miris i ukus na trulež



Enterobacteriaceae

- Optimalna temperatura rasta $>30\text{ }^{\circ}\text{C}$, ali mogu da se adaptiraju i razmnožavaju i pri temperaturi hladnog lanca

Predstavnici rodova *Enterobacter* i *Klebsiella*

Koliformne bakterije

Fekalne koliformne bakterije *Escherichia* spp.



Sporogene bakterije

Bakterije iz roda *Bacillus* (*B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* i *B. megaterium*)

- kontaminacija iz zemljišta, iz hrane za životinje i sa prostirke
- kontaminacija tokom svih faza proizvodnje (najčešće tokom muže)
- nivo kontaminacije do 10^5 CFU/ml
- aerobni, fakultativno anaerobni, gram pozitivni štapići, stvaraju endospore
- mezofilni (psihrotrofni sojevi)
- intenzivno razlažu proteine pri čemu se stvara amonijak
- razlažu ugljene hidrate pri čemu se stvara kiselina (gas)
- optimalna temperatura rasta 20-40 °C (55 °C)
- proizvode proteaze, lipaze, fosfolipaze (pojava gorkog ukusa i užeglosti mleka)

Bakterije iz roda *Clostridium* (*Cl. butyricum*, *Cl. tyrobutyricum*, *Cl. sporogenes*, *Cl. perfringens*)

- gram pozitivni, anaerobni sporogeni štapići
- razlažu proteine
- fermentuju laktozu pri čemu nastaju buterna i sirćetna kiselina, CO₂, H₂, amonijak, alkohol i aceton
- termorezistentne spore (preživljavaju temperature pasterizacije mleka)
- optimalna temperatura rasta 20-40 °C (55 °C)
- kasno nadimanje sireva

Identifikacija mikrobiote mleka

- 1. Kultivacija mikroorganizama** - zasejavanje uzoraka mleka i inkubacija na različitim hranljivim podlogama i pri različitim uslovima; Izrasle kolonije mikroorganizama se analiziraju, identifikuju i klasifikuju na osnovu morfoloških karakteristika
- 2. Sekvenciranje 16S rRNK** - identifikacija bakterija na osnovu specifičnih regiona njihovog genetskog materijala
- 3. Metagenomska analiza** - ispitivanje genetskog materijala prisutnog u uzorcima mleka, uključujući gene mikroorganizama; ne zahteva prethodnu kultivaciju mikroorganizama
- 4. PCR-** identifikacija specifičnih gena mikroorganizama u uzorcima mleka
- 6. FISH (Fluorescent in situ hibridizacija)** – fluorescentne sonde koje se vezuju za specifične segmente genetskog materijala mikroorganizama u uzorcima mleka
- 7. Masena spektrometrija**