



Termofiilsed ja termotolerantsed mikroobid toiduainetetööstuses

Thermophilic and thermotolerant microbes in food industry

DSc. Priit Elias
BioCC juhtivteadur
2019

- Toiduainetesse sattumisel on termofiilsete ja termotolerantsete mikroobide esmaseks allikaks tooraine ja keskkond.
- Kõrge kvaliteediline tooraine peaks sisaldama mikroobe võimalikul vähe
- Toote valmistamisel ja säilitamisel kasutatakse toorme töötlust (füüsikalist, termilist, biokeemilist jne.)
- Toorme transpordil ja töötlusel mikroobide arvukus muutub:
 - transpordil, säilitamisel, peenestamisel jne. arvukus suureneb
 - termotöötlusel
 - madalatel temperatuuridel mikroobide kasv pidurdub
 - kõrgetel temperatuuridel, (pastöriseerimine ja UHT töötlus) enamus mikroobe hävib ka. haigustekitajad

- Mikroobe, millised jäid pastöriseerimisel eluvõimelisteks, kuid ei kasva pastöriseerimise temperatuuril nimetatakse termotolerantseteks
- Sõltuvalt nende füsioloogilistest omadustest võidakse termotolerantseid jaotada järgmistesse kategooriatesse:
 - termofiilsed termotolerandid (kasv temperatuuril 40–60 °C; optimum 50–55 °C)
 - mesofiilsed termotolerandid (kasv 5–50 °C, optimum ~30 °C)
 - psührofiilsed termotolerandid võivad kasvada alates külmumistemperatuurist kuni temperatuurini 25 °C

Tabel 1. Termotolerantsete termofiilsete, mesofiilsete ja psührofiilsete bakterite kasvu temperatuuride vahemikud (Gleeson jt, 2013).			
Bakterite grupp	Kasvu temperatuur, °C		
	miinimum	maksimum	optimum
Termofiilsed (soojalembelised)	40	60	50-55
Mesofiilsed (mõõdukad)	5	50	30-37
Psührofiilsed (külmalembelised)	0 või vähem	25	≤ 20

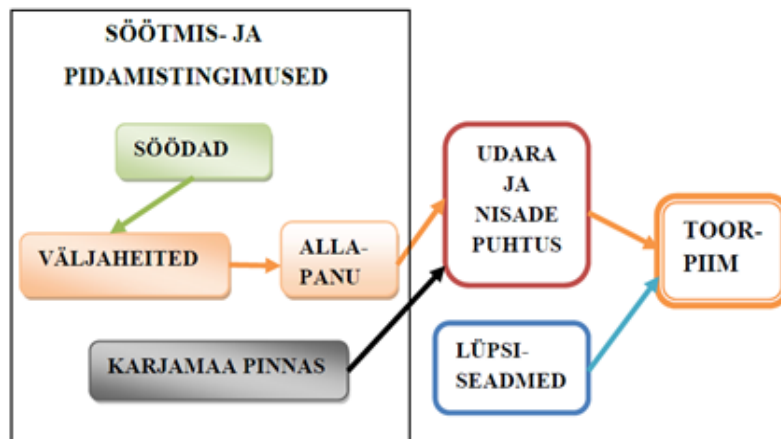
- Termofiilsed (*thermophilic*) mikroobid on soojalibelised spore moodustavad liigid ja kasvavad temperatuuril 45-80 °C.
- Termofiilsed mikroobid moodustavad ühe osa termotolerantsetest (*thermoduric*) mikroobidest
- Termotolerantsete mikroobide määramisel toormest (piimast või lõssist):
 - proovid kuumutatakse temperatuuril 63.0±0.2 °C, 30 min. (enamasti laborites) või 72 °C, 15 sek. (Angula jt. 1989),
 - järgneb kiire jahutus temperatuurile ≤6 °C.

- Edasi külvatakse proovidest vastavad lahjendused tassidele söötmele (bakterite üldarvu sööde)
- Väljakülvid inkubeeritakse vastavalt:
 - psührofiilsed termotolerantsed bakterid temperatuuril 6 °C, 10 päeva,
 - mesofiilsed termotolerantsed bakterid temperatuuril 32 °C, 48 tundi,
 - termofiilsed termotolerantsed bakterid temperatuuril 55 °C, 48 tundi.
 - pärast väljakasvu loendatakse pesad ning arvutatakse vastavad arvud ml-s või g-s.

Tabel 2. Termotolerantsete bakterite perekondi piimas

Termofiilsete termotolerantsete bakterite perekonnad ¹	Mesofiilsete termotolerantsete bakterite perekonnad ³	Psührofiilsete termotolerantsete bakterite perekonnad ²
<i>Microbacterium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Acinetobacter-Moraxella</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Flavpobacterium</i>
<i>Bacillus spores</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Enterobacter</i>
<i>Clostridium spores</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Alcaligenes</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Bacillus</i>
	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>

- **Erilise tähelepanu all on:**
 - sulfiteid redutseerivad klostriidid,
 - mesofiilsed ja psührofiilsed termotolerandid,
 - *Bacillus cereus*,
 - *Bacillus licheniformis* jt.
- **Et saavutada näiteks piimatoodete ohutus** (Reinemann jt, 2003), peaks *B. cereus*´e arv toorpiimas jääma alla 10 pmü ml⁻¹
- **Samas termotolerantsete arv peaks jääma** (Reinemann jt, 2003):
 - toorpiimas alla 100–200 pmü ml⁻¹ ja
 - piima tootmise seadmetel alla 10 pmü/cm²



Joonis 1. Toorpiima saasteallikad termotolerantsete mikroobidega (Gleeson jt, 2013 järgi)

- **Mikroobid võivad kinnistuda toorme tootmise keskkonnas toormega kontaktis olevatele pindadele, kus nad on:**
 - võimelised paljunema,
 - kasutama toormest vajalikke toitaineid,
 - eralduma pindadelt ning
 - paljunema edasi töödeldavas toormes või toormest valmistatud tootes.
- **Esineb nii ühtlaselt pinda katvaid pakse biokirmeid** (areng on kestnud päevi või nädalaid), **üksikult mikroobidest koosnevate laikudena** või **pesadena** (areng on kestnud ainult tunde).

- **Biokirme moodustumise kiirus ja mikroobide eraldumine sellest sõltub:**
 - toitainete varustatusest,
 - mikroobide tüübist ja
 - voolu kiirusest
- **Erinevate mikroobide interaktsioon biokirmes võib olla:**
 - kooperatiivne so. üksteisele kasulik koosolemine või
 - konkurentsisis so. enamusele järgnevad teised.
- Domineerivateks on harilikult kiirema kasvuga liigid nii nagu selleks on ka nende liikumisvõime

Tabel 2. Seadmete pinna ja bakterite elukeskkonna omaduste mõju biokirme tekkele (Hinton, 2003)

Pinna omadus, bakterite keskkond	Mõju biokirme tekkele
Karedus	<u>Soodustab mikroobide kinnistumist ja sadestumist pinnale</u>
Temperatuur	<u>Kinnistumine on kõige aktiivsem kasvu optimaalsel temperatuuril 20-55 °C</u>
Piima koostisosade sade pinnal	<u>Toormest pinnale sadestunud koostisosad võivad inhibeerida kui ka suurendada kinnistumist sõltuvalt mikroobide liigist ja toorme koostisosade olemusest</u>
Toitained	<u>Toitainete piiratud tingimustes suureneb mikroobide kinnistumine pinnale</u>
Bakterite arv	<u>Suurem bakterite arv toormes põhjustab ka suurema kinnistunud mikroobide arvu pinnal</u>
Voolurežiim ehk nihkepinge	<u>Kinnistumise efektiivsus on pöördvõrdeline nihkepingega</u>

- **Biokirmeks kinnistunud mikroobid on vastupidavamad kuumutamisele, antibiootikumidele ja desoainetele, võrreldes vabalt keskkonnas olevatega.**
- **Kui toorpiima (toorme) termotolerantsete bakterite arv ületab 500 pmü ml⁻¹, tekib probleeme selle väärindamisel piimatoodeteks (White jt, 2001).**

- **Tegurid, mis mõjutavad pastöriseeritud piima säileaega:**
- Termotolerantsete bakterite olemasolu toorpiimas. Võisid kasvada jahutusel ja jahutatud piima säilitamisel (*B. cereus*, *B. circulans*)
- Psührotroofsete bakterite olemasolu seadmetel pärast kuumtöötlust
- Piima peaks säilitatama pärast kuumtöötlust temperatuuril 1-2 °C või 4-5 °C.
- Psührotroofsete bakterite poolt produtseeritud termotolerantsete ensüümide olemasolu. Pastöriseerimisel on hävinud bakterite vegetatiivsed vormid, säilinud on ensüümid, mis lõhustavad valke ja rasvu.

- Lipaaside mõju vigastatud rasvagloobulitele(vigastused pumpamisel ja segamisel) toorpiimas põhjustab valmistoodetes rääsunud maitset. Lipaas inaktiveerub pastöriseerimisel.
- Mikroobide üldarvu kasv toorpiimas kahjustab oma metaboliitse aktiivsusega piima kuivainet. Tekkib probleeme töötlusel (sadenemine, probleemid organoleptikas). Piiriks $\leq 5 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$.
- Termoresistentsete plasmiinide toime piima valkudele, mis põhjustab maitse vigu ja UHT toodete geelistumist. Plasmiinide kontsentratsioon suureneb laktatsiooni kestel, haigestumisel mastiiti ja loomade vananedes.

- **Liha ja kala riknemine** (gaasi ja lima teke).
- Termotöötlus vähendab esialgset saastatust kuid ei hävita termotolerantseid baktereid, saastatus alla 10 pmü/cm^2 .
- Riknemine mõne nädala jooksul (valge lima ja gaas)
- Riknemisega on seotud *Leuconostoc mesenteroides* subs. *dextranicum*, *L. mesenteroides* subs. *mesenteroides*, *L. amelibiosum*, *L. curnosum* ja *L. gelidum*.
- Lima, rohetust ja gaasi tekitavad veel *Weissella viridescens* ja *Hafnia alvei*. Nad on psührotolerantsed pärinevad toorlihast ja tootmisruumidest.
- Võimalikud on ka psührotroofsed *Clostridium* 'i liigid koos *Leuconostoc* 'i liikidega tekitades roiskunud muna lõhna ja gaasi (H_2 , CO_2).

- **Puu- ja aedviljad ning nendest valmistatud tooted**
 - Jahutamine (5-10 °C) ei kaitse puuvilju riknemise eest vaid aeglustab protsessi.
 - Mikroobide (pärmseente) vegetatiivsed rakud inaktiveeruvad kiiresti temperatuuril 60-65 °C. Spoorid on umbes 50-100 korda resistentsemad võrreldes vegetatiivsete rakkudega.
 - Pärmseened on ohuks eelkõige viljade riknemisele.
 - Ohtu võivad sattuda ka immuunpuudulikkuse all kannatavad inimesed kui nende veri või mõned organid nakatuvad pärmseentest.
-
- Hallitusseened taluvad viljadele ja nendest valmistatud toodetele omast happelist keskkonda ja madalat a_w
 - Viljadelt võib sageli leida *Penicillium*'i, *Botrytis*'e, ja *Rhizopus*'e esindajaid.
 - Termiliselt töödeldud ja riknenud viljadest ning toodetest on leitud ka termoresistentseid hallitusseeni nagu *Byssoschlamys fulva*, *B. nivea*, *Neosartorya fischeri* jt.
 - Probleemiks toodete riknemine ja mükotoksiinid.
 - Kõrge niiskusesisaldusega viljades ja toodetes on mükotoksiinide difusioon kiire ja saastuvad kõik toote osad.
 - Toodete valmistamisel võivad hallitusseened hävida, kuid produtseeritud toksiidid jäävad ja on ohtlikud tervisele.

Kokkuvõte

- Toodetesse sattumisel on termotolerantsete mikroobide esmaseks allikaks **tooraine**, kus erilise tähelepanu all on **klostriidid, meso- ja psührofiilsed termotolerandid**
- Saastumine võib toimuda:
 - keskkonnast (piima näärdest, lihast, puu- ja aedviljadest)
 - tootmiseseadmete pindadelt,
 - hoidlatest (säilitustank, salved jne.)
- Tootmiseseadmete **ebaadekvaatne puhastamine ja säilitamine võib põhjustada biokirme teket** seadmete toormega kokkupuutuvatele pindadele
- Bakterite **seostumist biokirmesse** mõjutavad:
 - mikroobiraku omadused,
 - mikroobiraku ja seadme pinna omadused,
 - mikroobe suspendeeriva vedeliku omadused

- **Termotolerantsete mikroobide väljakasv ja töödeldava toorme saastumine leiab aset enamasti toormega kokkupuutuvatel pindadel tekkinud biokirmest, õhust jne.:**
 - termotöölusseadmete regeneratsiooni ja/või jahutusseksioonis,
 - filtratsioonil ja puhvermahutites,
 - tootmisruumide õhk

- **Toorme saastumist termotolerantsete mikroobidega töötlemisel toodeteks on võimalik vähendada** (Hintoni, 2003) **kui:**
 - seade oleks võimalikult vähem kontaktis tootega,
 - minimeerida soojusseadme kontaktpindu tootega, kasutades alternatiivseid kuumutustehnoloogiaid;
 - minimeerida pindade saastumist:
 - parandades toorme kvaliteeti,
 - optimeerides protsessi tingimusi,
 - disainides tööstusseadmete hügieeni,
 - tehes kindlaks kas toore või selle baasil valmistatud segu sobib töötlemiseks;

- **Termotolerantsed mikroobid sattudes toormesse, läbivad toodete valmistamisel vajaliku termilise töötuse ja paljunedes biokirmes jõuavad valmistootesse mõjutades negatiivselt selle kvaliteeti kuni riknemiseni**

- **Kasutatud kirjandus**

- Angula, L., Lorenzo, A., Riveiro, M. 1989. Isolation and identification 310 of thermophilic flora of raw cow's milk from the province of Pontevedra. *Modern microbiological 311 Methods for Dairy Products*. IDF special issue 8901 Brussels p 122-128
- Gleeson, D., O'Connell, A., Jordan, K., 2013. Review of potential sources and control of thermophilic 329 bacteria in bulk-tank milk. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*. 52:217–227.
- Hinton, A.R. 2003. Thermophiles and Fouling Deposits in Milk Powder Plants. Dissertation of PhD, New Zealand p. 195
- Reinemann, D.J., Wolters, G.M., Billon, P., Lind, O., Rasmussen, M.D. 2003. Review of practices for cleaning of milking machines. *International Dairy Federation Bulletin* 381: 32-50
- White, C., Marth, E., and Steele, J. 2001. Testing of milk and milk products. *Applied dairy microbiology* (Ed. 2):645-680

**TÄNAN TÄHELEPANU
EEST !**