



Μικροβιολογία Τροφίμων II

Ενότητα 2:

Μικροβιακές Καλλιέργειες(4/5), 1ΔΩ

Τμήμα: Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής Του Ανθρώπου

Διδάσκοντες: Καμινारीδης Στέλιος, Καθηγητής

Ακτύπης Αναστάσιος, Λέκτορας



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ





Μαθησιακοί Στόχοι

Να γνωρίζουν οι φοιτητές:

- Ποια ωφέλιμα μικρόβια χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή των διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων.
- Τι είναι οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) ή εκκινητές (Starters)
- Τι είναι ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά βακτήρια.
- Ποιος ο σκοπός της χρησιμοποίησης των ωφέλιμων μικροβίων και ποιες μεταβολές επιφέρουν στα συστατικά του γάλακτος.
- Τα χαρακτηριστικά και τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροβίων.
- Τα ελαττώματα των οξυγαλακτικών καλλιεργειών



Λέξεις Κλειδιά 1/2

- Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB)
- Καλλιέργειες εκκίνησης (Starters)
- Καλλιέργειες (Cultures)
- Ομοζυμωτικά βακτήρια
- Ετεροζυμωτικά βακτήρια
- Προβιοτικά βακτήρια
- Επιπρόσθετες καλλιέργειες
- Προστατευτικές καλλιέργειες
- Συμπυκνωμένες λυοφυλιωμένες ή καταψυγμένες καλλιέργειες (DVS)



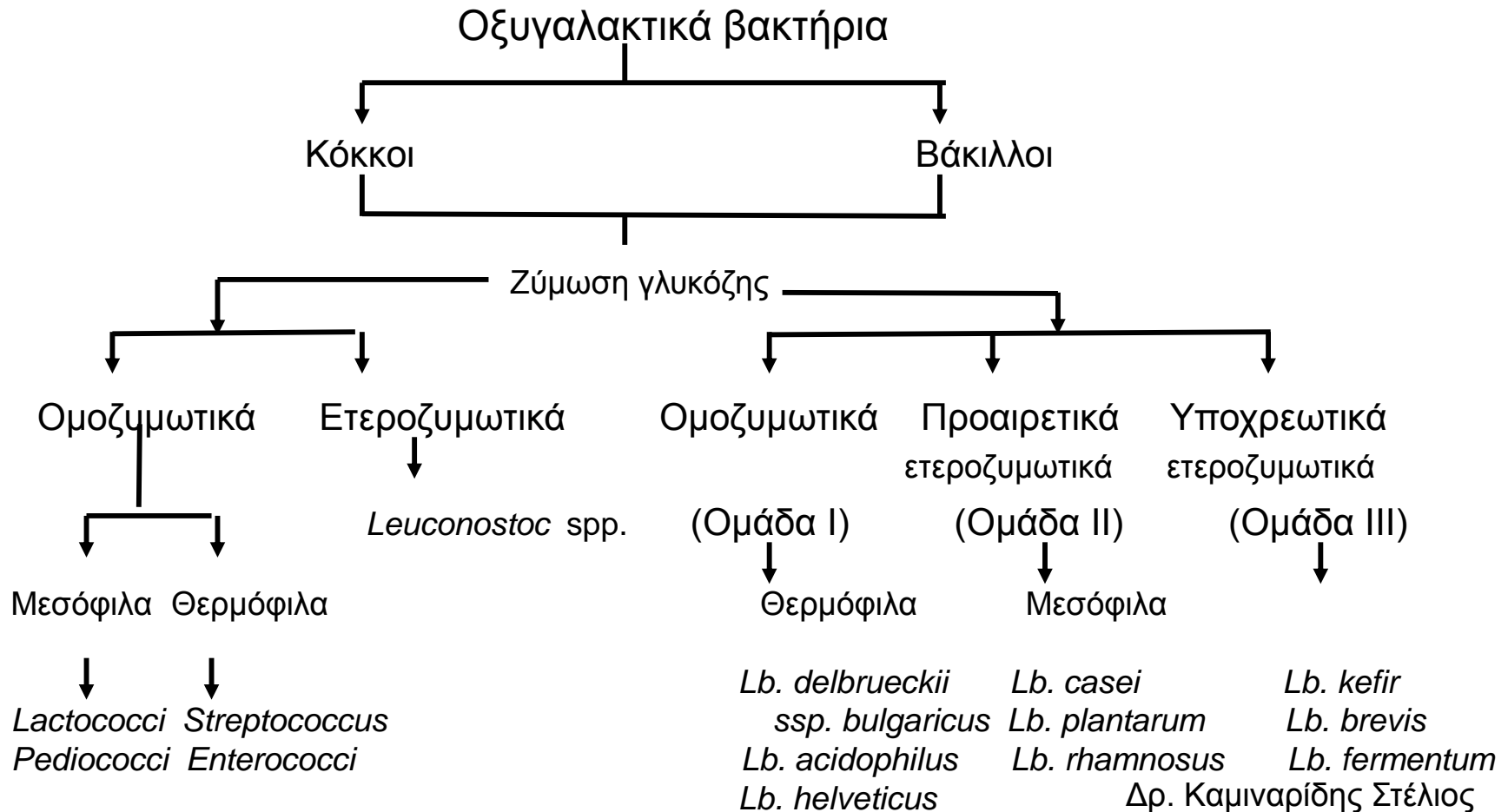
Λέξεις Κλειδιά 2/2

- Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB)
- Σύστημα Lewis
- Σύστημα Jones
- Phage Resistant Medium (PRM)
- Πρεβιοτικά
- Βακτηριοσίνες
- Τροποποιημένες καλλιέργειες (Modified or attenuated starters)



Διάκριση των Οξυγαλακτικών Βακτηρίων

Εικόνα: Διάκριση των οξυγαλακτικών βακτηρίων με βάση τη μορφή του κυττάρου τους, τη ζύμωση της γλυκόζης και την άριστη θερμοκρασία ανάπτυξής τους.





Γαλακτική Ζύμωση της Λακτόζης

- Χαρακτηρίζεται η ζύμωση της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, πολλά από τα οποία χρησιμοποιούνται ως οξυγαλακτικές καλλιέργειες εκκίνησης. Κύριο προϊόν της ζύμωσης αυτής είναι το γαλακτικό οξύ.
- Η γαλακτική ζύμωση είναι η πιο συνηθισμένη ζύμωση της λακτόζης και είναι επιθυμητή στο γιαούρτι, στα τυριά, στα οξυγάλατα, το βούτυρο και άλλα προϊόντα.
- Τα οξυγαλακτικά βακτήρια τη χρησιμοποιούν ως πηγή ενέργειας και χωρίζονται σε ομοζυμωτικά και ετεροζυμωτικά ανάλογα με τα κύρια προϊόντα που σχηματίζονται και την παραγόμενη ποσότητα γαλακτικού οξέος ανά mol ζυμωμένης γλυκόζης.



Ομογαλακτική Ζύμωση 1/2

- Κατά την ομογαλακτική ζύμωση της λακτόζης, τα ομοζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια που διαθέτουν το ένζυμο αλδολάση παράγουν ως τελικό προϊόν ζύμωσης το γαλακτικό οξύ σε ποσοστό $> 85\%$ και ανήκουν στα γένη *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* και σε ορισμένα είδη του γένους *Lactobacillus* (ομοζυμωτικοί γαλακτοβάκιλλοι).
- Τα είδη του γένους *Lactococcus* παράγουν από ένα μόριο λακτόζης 4 μόρια γαλακτικού οξέος:



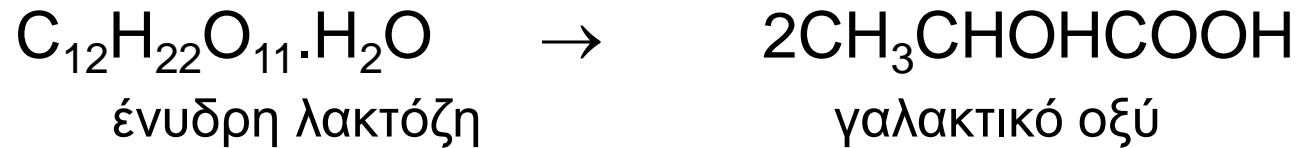
ένυδρη λακτόζη

γαλακτικό οξύ



Ομογαλακτική Ζύμωση 2/2

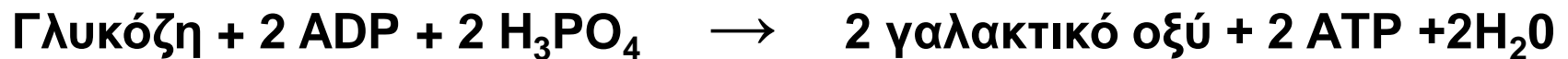
- Τα είδη των οξυγαλακτικών βακτηρίων *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* παράγουν από ένα μόριο λακτόζης 2 μόρια γαλακτικού οξέος:





Σύγκριση ομο- και ετερο-Γαλακτικής Ζύμωσης 1/3

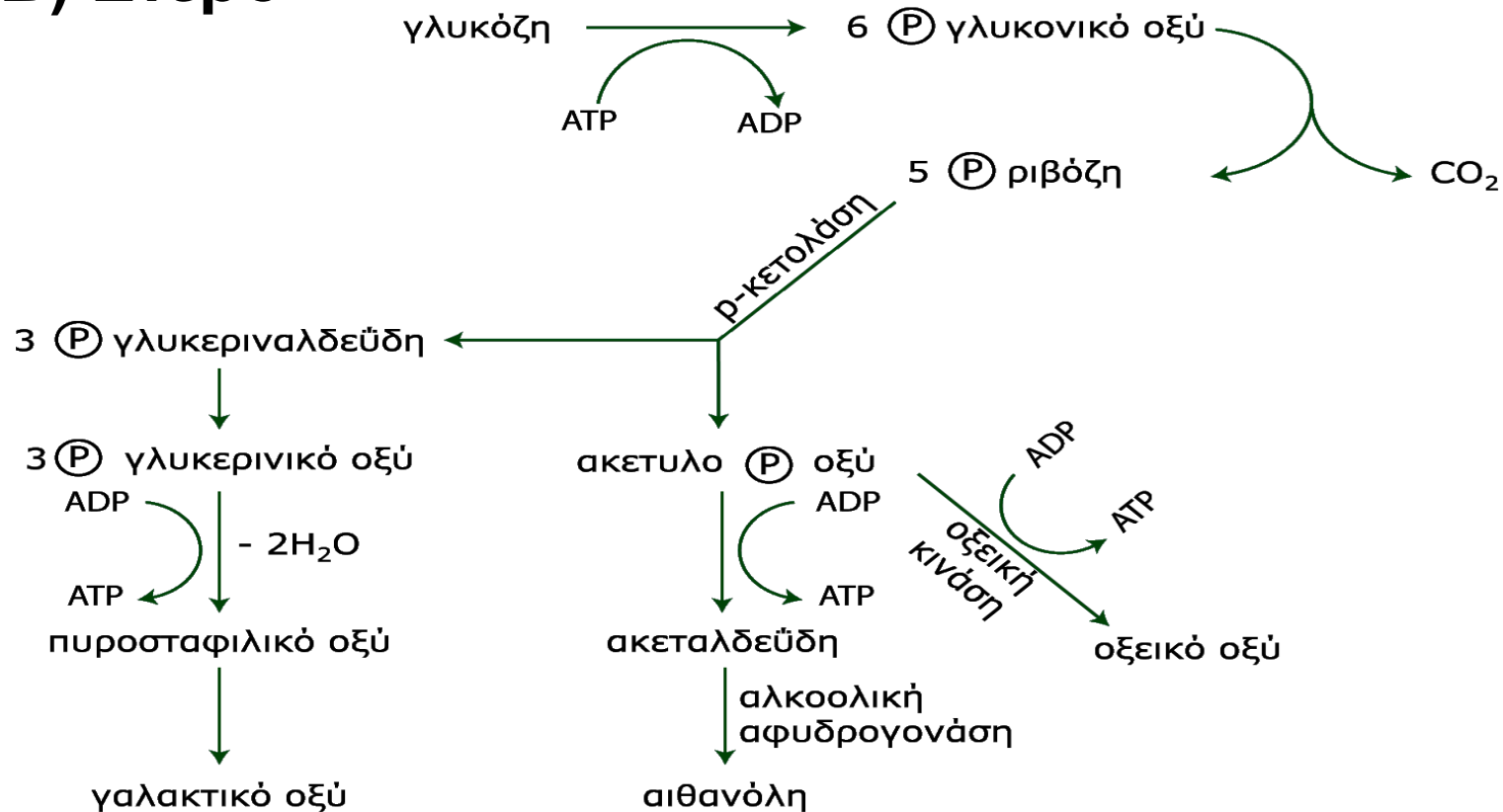
A) Ομο-





Σύγκριση ομο- και ετερο-Γαλακτικής Ζύμωσης 2/3

B) Ετερο-





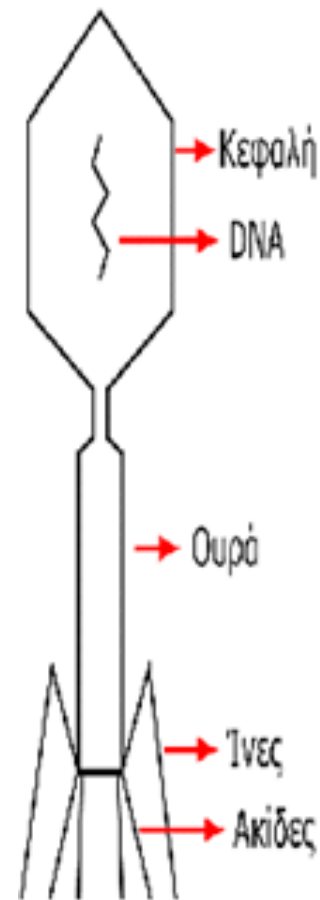
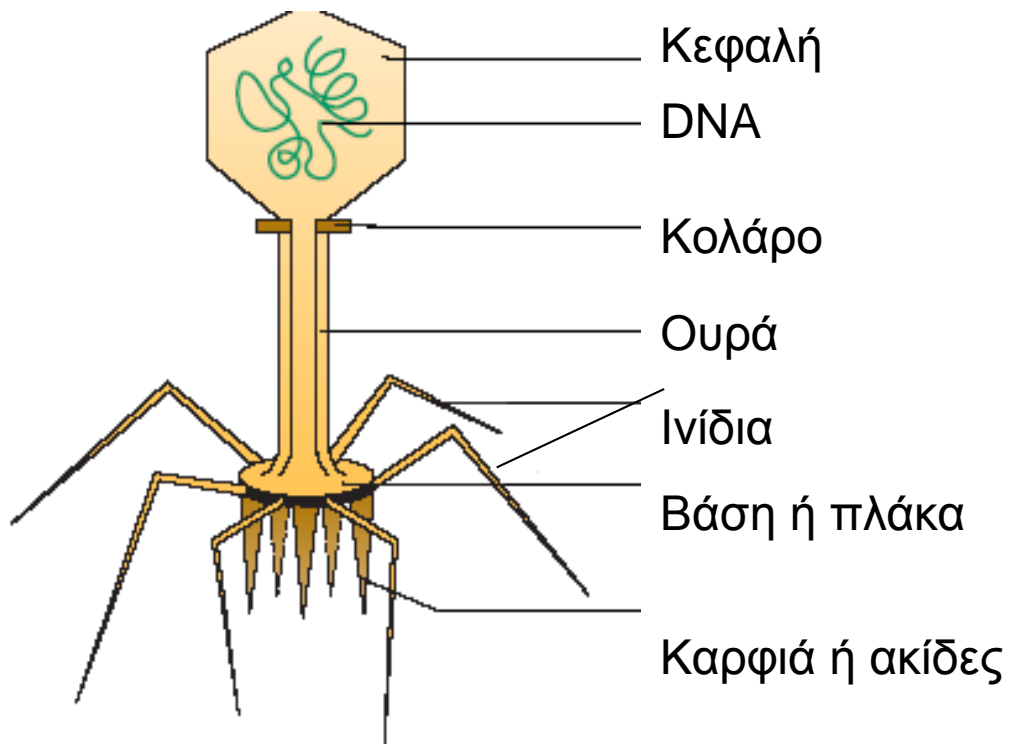
Σύγκριση ομο- και ετερο-Γαλακτικής Ζύμωσης 3/3

- Μία παραλλαγή του παραπάνω ετεροζυμωτικού κύκλου είναι αυτή που ακολουθούν τα είδη των βακτηρίων του γένους *Bifitobacterium*, στην οποία από 1 mol γλυκόζης παράγεται 1,5 mol οξικού οξέος και 1 mol γαλακτικού οξέος:





Ιοί ή Βακτηριοφάγοι





Ιδιότητες 1/2

- Πολύ μικροσκοπικοί, ορατοί με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (60X150nm).
- Έχουν στοιχειώδη δομή και σύνθεση, αποτελούμενοι από κεφαλή εμπεριέχουσα το DNA και ουρά με ακίδες και ίνες.
- Παράσιτα μεσοφίλων βακτηρίων. Τα αποσυνθέτουν και έτσι αναστέλλουν τη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών καλλιεργειών και προκαλούν ζημιές στην τυροκόμηση.



Ιδιότητες 2/2

- Καταστρέφονται σε θέρμανση στους 90 °C/20 min ή 95 °C/1min τουλάχιστον καθώς επίσης στα υποχλωριώδη 100-200 ppm,στις ενώσεις του ιωδίου και στη φορμόλη.
- Αντέχουν στην αποξήρανση, σε χαμηλές θερμοκρασίες και σε διάφορα pH.



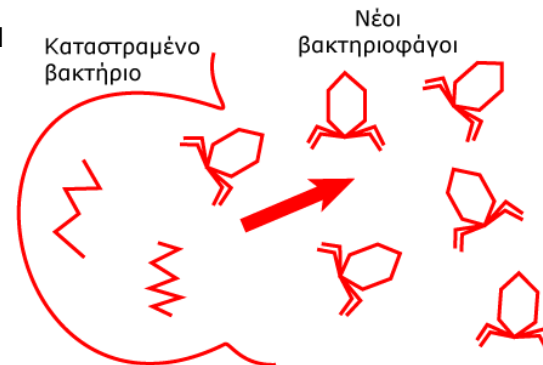
Κύκλος Προσβολής ενός Βακτηρίου από τους Φάγους 1/2

1. Προσβολή βακτηρίου με προσκόλληση του φάγου.



2. Λύση προσβεβλημένου βακτηρίου και ελευθέρωση των φάγων.

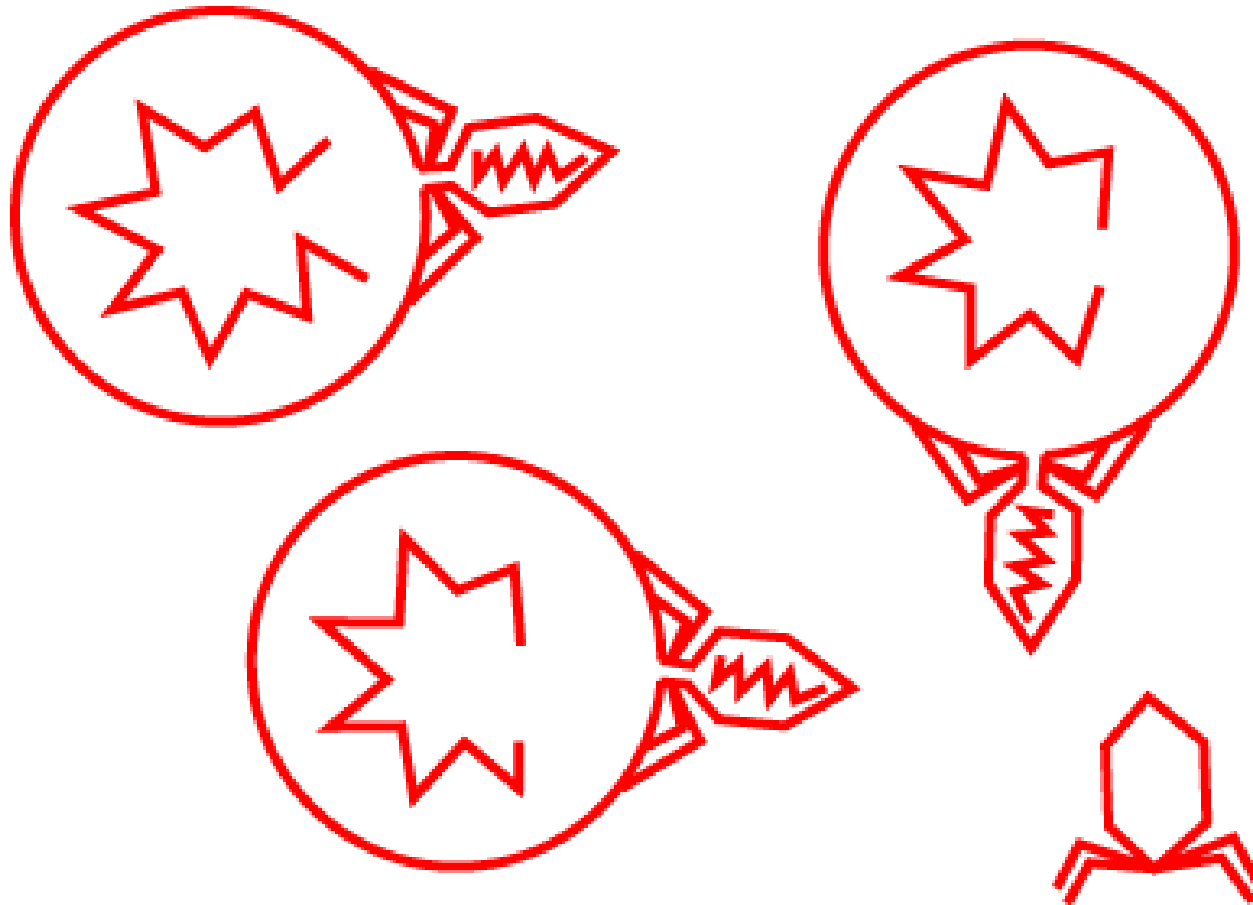
- Εισαγωγή στο βακτήριο του DNA του φάγου και αναπαραγωγή του.
- Σύνθεση διαφόρων ενζύμων και στοιχείων που συνθέτουν το φάγο.
- Σύνθεση των πλήρων ιών.
- Διάλυση του τοιχώματος.
- Ελευθέρωση νέων φάγων





Κύκλος Προσβολής ενός Βακτηρίου από τους Φάγους 2/2

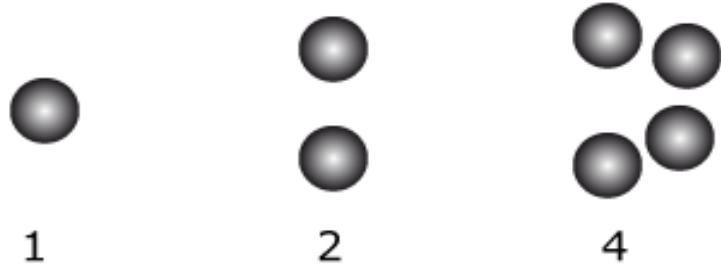
3. Προσβολή νέων βακτηρίων.



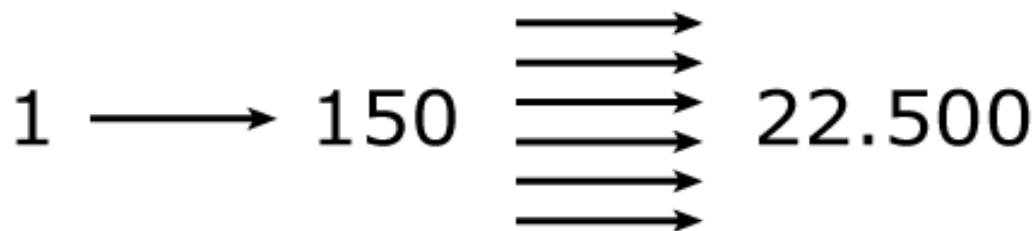


Συγκριτικός Ρυθμός Πολλαπλασιασμού Βακτηρίων και Φάγων

Οξυγαλακτική καλλιέργεια



Βακτηριοφάγοι





Μέτρα Αντιμετώπισης των Φάγων

- Χρησιμοποίηση ανθεκτικών στους φάγους καλλιεργειών.
- Απομόνωση, ασηψία και απολύμανση με υποχλωριώδη (100 ppm χλωρίου) των χώρων που παρασκευάζονται οι καλλιέργειες.
- Διατήρηση των καλλιεργειών σε μέσο χωρίς ιόντα Ca, πράγμα που δυσκολεύει την αναπαραγωγή τους.
- Χρησιμοποίηση νέων στελεχών βακτηρίων στις καλλιέργειες. (εξειδίκευση φάγων με στελέχη βακτηρίων).



Μικροβιακές Καλλιέργειες στην Παρασκευή Γαλακτοκομικών Προϊόντων 1/2

Ομάδες μικροοργανισμών	Είδος μικροοργανισμού	Γαλακτοκομικά Προϊόντα	Τύπος ζύμωσης	Άριστη θ/α (°C)	Χαρακτηριστικά
Θετικοί κατά Gram κόκκοι	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> (<i>Str. lactis</i>)	Μαλακά τυριά, τυριά χωρίς οπές	Ομο-	30°C	Γαλακτικό οξύ, πρωτεόλυση
	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> (<i>Str. cremoris</i>)	Μαλακά τυριά Κρέμα	Ομο-	25-30°C	Γαλακτικό οξύ, διακετύλιο, πρωτεόλυση στελέχη του σχηματίζουν πολυσακχαρίτες
	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	τυριά με μικρές οπές	Ετερο-	30°C	Γαλακτικό οξύ, πρωτεόλυση, διακετύλιο
	<i>Leuc. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> (<i>Leuc. citrovorum</i>)	Κρέμα	Ετερο-	20-25°C	διακετύλιο
	<i>Str. thermophilus</i>	Γιαούρτη, σκληρά τυριά	Ομο-	40-43°C	Γαλακτικό οξύ, δεν ζυμώνει τη γαλακτόζη, ευαίσθητο στα αντιβιοτικά και στο αλάτι



Μικροβιακές Καλλιέργειες στην Παρασκευή Γαλακτοκομικών Προϊόντων 2/2

Ομάδες μικροοργανισμών	Είδος μικροοργανισμού	Γαλακτοκομικά Προϊόντα	Τύπος ζύμωσης	Άριστη θ/α (°C)	Χαρακτηριστικά
Θετικοί κατά Gram βάκιλλοι	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp <i>bulgaricus</i>	Γιαούρτη, σκληρά τυριά	Ομο-	40-45°C	Γαλακτικό οξύ, πρωτεόλυση
	<i>Lb helveticus</i>	τυριά με μεγάλες οπές (Emmental, Gruyere), σκληρά τυριά	Ομο-	40-42°C	Πολύ γαλακτικό οξύ, πρωτεόλυση(ισχυρή ενδοπεπτιδασική δραστηριότητα)
	<i>Lb. casei</i> subsp <i>casei</i>	Μαλακά τυριά, ημίσκληρα τυριά	Προαιρετικά Ετερο-	30°C	Θερμοάντοχο (72°C/40 min), ανθεκτικό στα αντιβιοτικά, και στο αλάτι , πρωτεολυτικό
	<i>Propiobacterium shermanii</i>	τυριά με μεγάλες οπές (Emmental, Gruyere)	Ετερο-	20-25°C	Μεταβιλίζει το γαλακτικό οξύ προς προπιονικό, οξικό και CO ₂
	<i>Bifitobacterium bifidus</i>		Ετερο-	37°C	Παράγει αρκετό οξικό οξύ, αναερόβιο, απαντά στο έντερο



Μύκητες

- Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την τυροκομία παρουσιάζουν κάποιοι μύκητες του γένους *Penicillium*, που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή ειδικών τύπων τυριών.



Penicillium Roqueforti 1/3

Penicillium roqueforti



- Το *Penicillium roqueforti* είναι μύκητας με πρασινογκρίζο χρώμα.
- Παράγει μπλε – πράσινες αποικίες και αναπτύσσεται στη μάζα των τυριών.
- Αποτελεί βασική χλωρίδα στα τυριά Roquefort, Blue veined cheese, Gorgonzola, Stilton, κ.ά.





Penicillium Roqueforti 2/3

- Είναι μικροαερόφιλο και μπορεί να ανεχθεί υψηλές συγκεντρώσεις CO₂.
- Έχει έντονη πρωτεολυτική δράση (όξινη πωτεάση με opt pH 3,5-4,0, και αμινοπεπτιδάση με opt pH 7,5-8,0).
- Έχει έντονη εξωκυτταρική λιπολυτική δραστηριότητα με 2 λιπάσες, μια όξινη και μια αλκαλική.
- Μετατρέπει τα ελεύθερα λιπαρά οξέα σε β-κετονοξέα και έπειτα σε μεθυλοκετόνες, οι οποίες βοηθούν την ανάπτυξη του αρώματος τυριών τύπου Roquefort.



Penicillium Roqueforti 3/3

- Είναι σχετικά ανθεκτικός στο αλάτι.
- Εμβολιάζεται στο γάλα της τυροκόμησης αφού τα σπόριά του αραιωθούν σε απεσταγμένο νερό ή ενσωματώνονται στο τυρόπηγμα.
- Η ανάπτυξη του μικκυλίου του γίνεται στο εσωτερικό του τυριού. Βοηθείται η ανάπτυξη του μύκητα με τρύπημα του τυριού.
- Υπάρχουν και λευκά στελέχη τα οποία δεν χρωματίζουν το τυρί.
- Η ωρίμανση των τυριών αυτών γίνεται σε συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας.

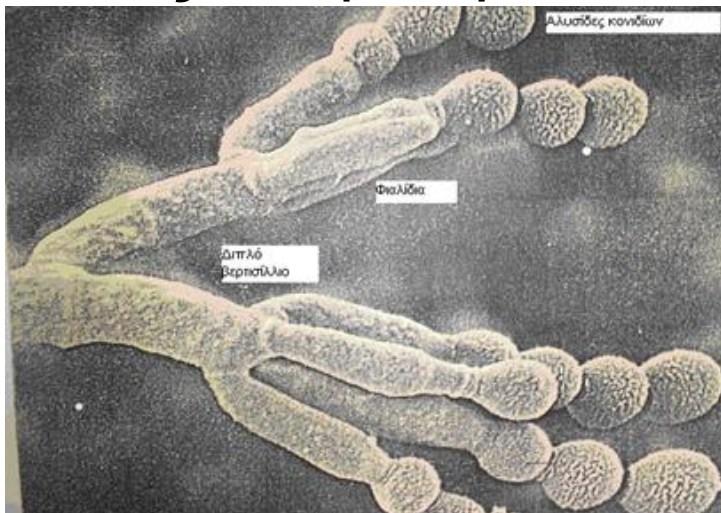


Penicillium Camemberti

- Αποτελεί βασική χλωρίδα στα τυριά Camembert, Brie, Saint-Maure κ.ά.



- Οι αποικίες του μύκητα αυτού είναι λευκές.





Penicillium Camemberti x7500

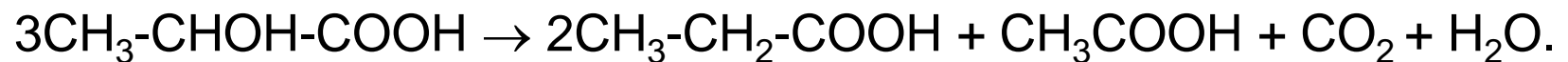
- Αναπτύσσει λευκές μικηλιακές υφές στην εξωτερική επιφάνεια του τυριού.
- Εμβολιάζεται με τα κονίδια του μύκητα που προστίθενται στο γάλα της τυροκόμησης ή ψεκάζονται στην επιφάνεια του τυριού ή αναμιγνύονται με το αλάτι.
- Παράγει ενδοπεπτιδάσες με άριστο pH δράσης 5,0-6,0, καρβοξυπεπτιδάσες, αμινοπεπτιδάσες
- Έχει εξωκυτταρική λιπολυτική δραστηριότητα.



Προπιονικά Βακτήρια 1/3

Γενικά

- Είναι θετικά κατά Gram βακτήρια, αναερόβια ή αεροανεκτικά, ακίνητα, μη σπορογόνα.
- Βακτήρια του γένους *Propionibacterium* (παρ. 6.5.2) ζυμώνουν διάφορα υποστρώματα (γλυκόζη, πυροσταφυλικό κ.ά.) και κυρίως το γαλακτικό οξύ προς προπιονικό οξύ, οξικό οξύ, CO₂ και H₂O:





Προπιονικά Βακτήρια 2/3

Γενικά

- Το αέριο CO₂ που παράγεται συγκεντρώνεται στη μάζα του τυριού Emmental και δημιουργεί χαρακτηριστικές λείες οπές.
- Είδη του γένους *Propionibacterium* είναι το *P. freundenreichii* subsp. *shermanii*, *P. jensenii*, *P. acidipropioni*, *P. thoeni*, κ.α.
- Η προπιονική ζύμωση είναι επιθυμητή για τα τυριά Ελβετικού τύπου (swiss cheese) π.χ. Emmental.



Προπιονικά Βακτήρια 3/3

Γενικά

- Αναπτύσσονται στα τυριά με πολύ βραδύ ρυθμό όταν η Θ/α του θαλάμου ωρίμανσής τους είναι $< 15^{\circ}\text{C}$.
 - Για το τυρί Compte (πολύ λίγες οπές) στους $16-18^{\circ}\text{C}$.
 - Για το τυρί Γραβιέρα στους 18°C .
 - Για το τυρί Emmental στους $20-24^{\circ}\text{C}$.
- Αναπτύσσονται σε $\text{pH} > 5,0$, στην πράξη $5,2- 5,4$.
- Παρεμποδίζεται η ανάπτυξή τους σε αλάτι $> 3\%$.



Βιβλιογραφία 1/3

- Ανυφαντάκης, Ε. Μ. (1992). Οι μικροβιακές καλλιέργειες στη βιομηχανία γάλακτος και η σημασία τους για την ποιότητα των γαλακτοκομικών προϊόντων. Επιμορφωτικά Σεμινάρια στη Γαλακτοκομία με τίτλο “Οι οξυγαλακτικές καλλιέργειες στη βιομηχανία γάλακτος” σελ. 15-27. Αθήνα: Εθνική Επιτροπή Γάλακτος.
- Bulletin (1988). Fermented milks science and technology. Starters for fermented milks. No 227, pp 7-34. Brussels: International Dairy Federation.
- Cogan, T. M. & Hill, C. (1993). Cheese starter cultures. In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology (Ed. Fox P F) Vol. 1, , pp 179- 239, London: Chapman and Hall.



Βιβλιογραφία 2/3

- Hickey, M. W., Hillier, A. J. & Jago, G.R. (1986). Transport and metabolism of lactose, glucose and galactose in homofermentative lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 825-831
- Καλατζόπουλος, Γ. (1986). Μαθήματα εφαρμοσμένης μικροβιολογίας γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Σελ. 52-98, 187-208. Αθήνα: Εκδόσεις Καραμπερόπουλος Α.Ε.
- Law, B. A. (1987). Proteolysis in relation to normal and accelerated cheese ripening. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (Ed. Fox P F) Vol. 1, pp 365- 392, London: Elsevier Applied Science.



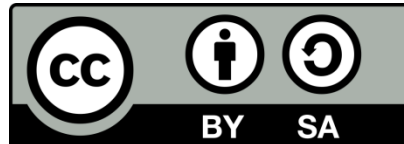
Βιβλιογραφία 3/3

- Oberg-Broadbent (1993) Thermophillic starter. *Journal of Dairy Science* 76, 2392-2404.
- Ramet, J.P. (1986). Lactic Starters. In *Cheesemaking. Science and Technology* (Ed. Eck, A.) pp 108- 125, Paris: Lavoisier Publishing Inc.
- Tamime, A. Y. 1981 Microbiology of starter cultures. In *Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk Products* (Ed. R. K. Robinson) Vol. 2., pp. 113-156. London: Applied Science Publishers.
- Anifantakis, E.M. and Kaminarides S.E.(1987). Effect of various starters on the quality of Kefalotyri cheese. *Le lait* 67, 527-536.
- Kaminarides S.E. and Anifantakis E.M. (1989) Evolution of the microflora of Kopanisti cheese during ripening. Study of the yeast flora. *Lait* 69, 537-546



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





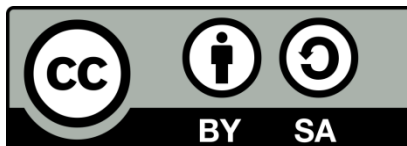
Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Καμιναρίδης Στέλιος, Ακτύπης Αναστάσιος, «Μικροβιολογία Τροφίμων III». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: <http://oceclass.aua.gr/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων, π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Η άδεια αυτή ανήκει στις άδειες που ακολουθούν τις προδιαγραφές του Ορισμού Ανοικτής Γνώσης [2], είναι ανοικτό πολιτιστικό έργο [3] και για το λόγο αυτό αποτελεί ανοικτό περιεχόμενο [4].

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

[2] <http://opendefinition.org/okd/ellinika/>

[3] <http://freedomdefined.org/Definition/EI>

[4] <http://opendefinition.org/buttons/>



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει) μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.