

Εφαρμοσμένη Μικροβιολογία Β' Μέρος

Μικροβιολογία Τροφίμων

Μαντώ Κυριακού

Καθηγήτρια

ΤΕΔΔ, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο



Μικροβιολογία Τροφίμων

- ❑ Το τρόφιμο ως οικοσύστημα
- ❑ Μέθοδοι συντήρησης των τροφίμων
- ❑ Κατηγορίες τροφίμων (Φυτικής προέλευσης τρόφιμα, Κρέας, Ψάρια και Θαλασσινά, Γάλα και γαλακτοκομικά, Αυγό)
- ❑ Ζυμωμένα Τρόφιμα
- ❑ Προβιοτικά - Πρεβιοτικά
- ❑ Τροφογενείς ασθένειες

Το τρόφιμο ως οικοσύστημα

- ✓ Το περιβάλλον του τροφίμου με τους ενδογενείς παράγοντες
- ✓ Οι μικροοργανισμοί που εντοπίζονται στο τρόφιμο
- ✓ Εξωγενείς παράγοντες που επηρεάζουν το τρόφιμο
- ✓ Η μελέτη των **αλληλεπιδράσεων** μεταξύ των δομικών, φυσικών, χημικών παραμέτρων του τροφίμου και της σύνθεσης του συγκεκριμένου μικροβιακού πληθυσμού του
- ✓ Ετερογένεια σε μικρομετρικό επίπεδο μέσα στο ίδιο το τρόφιμο

Οι μικροοργανισμοί των τροφίμων

- ❑ Βακτήρια, Ιοί, Μύκητες (μούχλες και ζύμες)
- ❑ Προέρχονται από διάφορες πηγές ανάλογα με το τρόφιμο:
 - ✓ Έδαφος και νερό
 - ✓ Φυτά και φυτικά προϊόντα
 - ✓ Σκεύη τροφίμων
 - ✓ Εντερική οδός ανθρώπου και ζώων
 - ✓ Άτομα που επεξεργάζονται τα τρόφιμα
 - ✓ Κτηνοτροφές
 - ✓ Δέρμα των ζώων
 - ✓ Αέρας και σκόνη

Αποτελέσματα της μικροβιακής αύξησης στα τρόφιμα

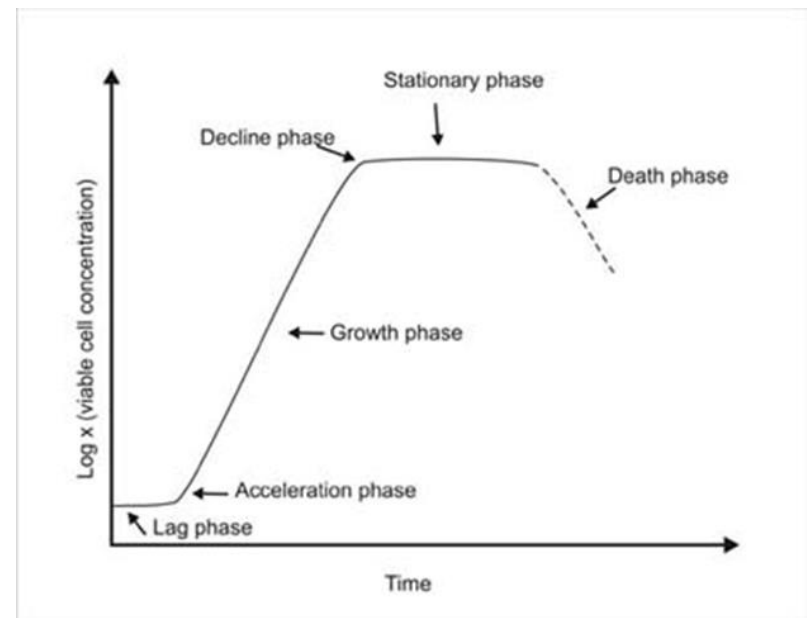
- ✓ Αλλοιώσεις στο τρόφιμο: μεταβολή των οργανοληπτικών ιδιοτήτων που οφείλονται στη δράση των μικροοργανισμών
- Διαφορές ανάλογα με τα πολιτισμικά δεδομένα
- Ζυμωμένα τρόφιμα
- ✓ Μη ασφαλές τρόφιμο: η κατανάλωσή του μπορεί να προκαλέσει παθολογία, λόγω της δράσης των μικροοργανισμών που έχουν αναπτυχθεί ή των προϊόντων τους

Μορφές που εντοπίζονται οι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα και μηχανισμοί που ευθύνονται

Οι μικροοργανισμοί ελέγχονται στα τρόφιμα με καλλιεργητικές μεθόδους (καταμέτρηση σε τρυβλία, Πλέον Πιθανός Αριθμός, Εμπλουτισμός), όπου ανιχνεύονται - καταμετρώνται τα ενεργά μεταβολικά κύτταρα (ζωντανά)

Φυσιολογική κατάσταση των μικροβιακών κυττάρων

- Κλειστό σύστημα καλλιέργειας όπου συνυπάρχουν διαφορετικοί μικροοργανισμοί
- Καμπύλη αύξησης με τις διαφορετικές φάσεις: προσαρμογής ή λανθάνουσα, εκθετική, στασιμότητας, θανάτου. Αντιπροσωπεύει περισσότερο τα βακτήρια ή και την κατάσταση των συνολικών μικροβιακών πληθυσμών



Φυσιολογική κατάσταση των μικροβιακών κυττάρων

- Κινητική της αύξησης. Πιθανές μεταβολές λόγω της συνύπαρξης περισσότερων μικροβιακών πληθυσμών και των σχέσεων που αναπτύσσονται μεταξύ τους
- Για την εξέλιξη του χρόνου ζωής του τροφίμου: σημαντική η χρονική διάρκεια όλων των φάσεων για την αλλοίωση και την ασφάλεια του τροφίμου

Τραυματισμένα κύτταρα

Μικροβιακά κύτταρα που δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε εκλεκτικά υποστρώματα, μετά από έκθεση σε μη-θανατηφόρο στρες, αλλά μπορούν να αναπτυχθούν σε μη-εκλεκτικά μέσα

ΠΡΟΒΛΗΜΑ! Δε ανιχνεύονται μέσω των μεθόδων που χρησιμοποιούν την καταμέτρηση αποικιών, αλλά μπορούν να ανακτηθούν όταν αλλάξουν οι συνθήκες και να προκαλέσουν ασθένεια. **ΥΠΟΕΚΤΙΜΗΣΗ!**

Παράγοντες που προκαλούν το φαινόμενο: Υψηλή θερμοκρασία, ακτινοβολία, ψύξη, οξέα, απολυμαντικά

Τραυματισμένα κύτταρα

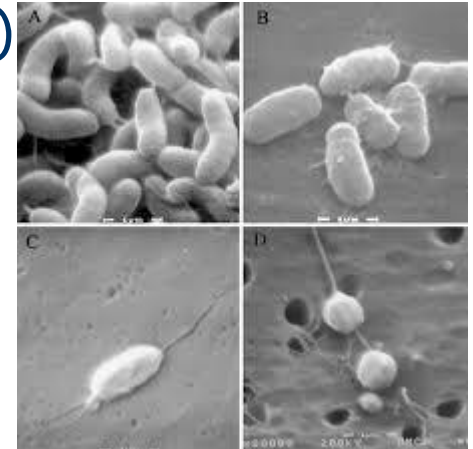
- ✓ Διαδικασία αποκατάστασης των μικροβιακών κυττάρων σύνθετη και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες

Listeria monocytogenes: τραυματισμός στους 55°C για 20min

- Αποκατάσταση στους 37°C αμέσως και ανάκαμψη πλήρης σε 9 ώρες
- Αποκατάσταση στους 4°C καθυστέρησε για 8-9 ημέρες και ανάκαμψη πλήρης σε 16-19 ημέρες

Βιώσιμα αλλά μη-καλλιεργήσιμα κύτταρα (VBNC)

- Τα κύτταρα αυτά δεν μπορούν να καλλιεργηθούν σε κανένα υπόστρωμα, λόγω της βλάβης που έχουν υποστεί από κάποιο στρεσογόνο παράγοντα (θερμοκρασία, έλλειψη θρεπτικών, χλωρίωση) → δεν μπορούν να ανιχνευτούν με καλλιεργητικές τεχνικές
- Πολλά εντερικά και τροφογενή παθογόνα (*Salmonella*, *Escherichia*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Vibrio*)
- Κατάσταση λήθαργου: στρατηγική επιβίωσης σε κύτταρα που δεν σχηματίζουν σπόρια. Τα ραβδόμορφα συρρικνώνονται σε σφαιρικά
- Μηχανισμοί άγνωστοι



Μεταγωγή σήματος

Τύπος ρύθμισης στα μικροβιακά κύτταρα, ως απόκριση στις αλλαγές περιβάλλοντος

Συστήματα μεταγωγής σήματος δύο συστατικών: υποδοχέας μεμβράνης ιστιδίνης - κινάσης και ρυθμιστής ενδοκυτταρικής απόκρισης.

Το σήμα δρα στην εξωτερική πλευρά της κινάσης και η κινάση μεταδίδει το σήμα μέσω της κυτ.μεμβράνης με διαμορφωτική αλλαγή. Προκαλείται αύξηση της δραστηριότητας της ενδοκυτταρικής κινάσης που φωσφορυλιώνει τη ρυθμιστική πρωτεΐνη απόκρισης στο κύτταρο και προκαλεί ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, ενζυμικής δραστηριότητας

Quorum sensing: τρόπος επικοινωνίας των βακτηρίων

- Ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης ως απάντηση στις αλλαγές των βακτηριακών πληθυσμών. Αυτο-επαγωγικές ενώσεις διαχέονται στο κύτταρο που όταν φτάσουν μία συγκεκριμένη συγκέντρωση (λόγω αύξησης του πληθυσμού), προκαλούν φυσιολογική απόκριση
- Χρησιμοποιούν το φαινόμενο για να προσδιορίσουν εάν ο πληθυσμός τους είναι αρκετά μεγάλος (απαρτία) και να δικαιολογήσουν κάποια ενέργεια (π.χ. έκφραση παθογένειας, έκκριση τοξίνης)

Quorum sensing: τρόπος επικοινωνίας των βακτηρίων

- Χαμηλός πληθυσμός χαμηλή συγκέντρωση στο μόριο σήμα, διαχέεται μακριά από το κύτταρο. Υψηλός πληθυσμός, αυξάνεται η συγκέντρωση του μορίου σήματος και επιστρέφει στο κύτταρο, συνδέεται με μια ενδοκυτταρική ρυθμιστική πρωτεΐνη που επηρεάζει τη μεταγραφή ενός ρυθμιστή για να προκαλέσει την κυτταρική απόκριση
- Δεν υπάρχουν πολλές μελέτες/δεδομένα για τον ρόλο του φαινομένου στην αλλοίωση των τροφίμων
- *Campylobacter*, *Salmonella*, *E.coli* O157:H7, *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes* κ.α. φαίνεται ότι εμφανίζουν τέτοια σήματα σε τρόφιμα και πιθανόν μόρια από τα τρόφιμα να επηρεάζουν το φαινόμενο

Δημιουργία βιοφίλμ

Βιοφίλμ (Βιοϋμένιο): συσσώρευση μικροβιακών κυττάρων
διαφόρων ειδών σε σύνθετες δομές σε στερεές επιφάνειες

Πολλά στάδια για τη δημιουργία του

Το Quorum sensing παίζει ρόλο!

Δημιουργία ενός πρωτόγονου κυκλοφορικού συστήματος

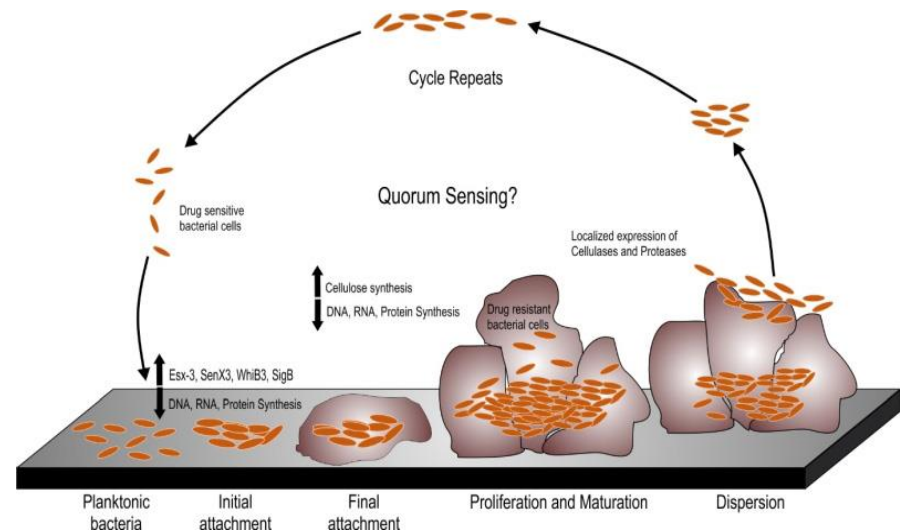
Τα κύτταρα εντός του βιοφίλμ είναι πιο ανθεκτικά στη θερμότητα,
στις χημικές ουσίες (αντιβιοτικά, απολυμαντικά)

Η ανθεκτικότητα οφείλεται πιθανόν στην αργή ανάπτυξη των
κυττάρων, κάποια είναι σε κατάσταση VBNC

Πρόκληση για τη Βιομηχανία Τροφίμων

Δημιουργία βιοφίλμ

- Σχηματισμός βιοπολυμερών για την προσκόλληση των κυττάρων στην στερεή επιφάνεια
- σχηματισμός μικροσκοπικών αποικιών με καθορισμένα όρια που επιτρέπουν σε κανάλια υγρών να περνούν μέσα από τα στρώματα των κυττάρων
- Αποκόλληση των κυττάρων και να φτιάξουν ένα νέο βιοφίλμ ή να μετακινηθούν



Φυσικά προϊόντα για την αναστολή του QS και δημιουργίας βιοφίλμ

- ✓ Αναστολή του QS: πιθανόν έλεγχος δημιουργίας βιοφίλμ σε τρόφιμα, συσκευασίες, επιφάνειες παραγωγής και επεξεργασίας τροφίμων
 - ✓ Φυσικά προϊόντα για την αναστολή του φαινομένου QS.
 - ✓ Κάποια φυσικά προϊόντα χρησιμοποιούνται από τη Βιομηχανία Τροφίμων ειδικά σε τρόφιμα που έχουν ελάχιστη επεξεργασία (απολύμανση επιφανειών στην γραμμή παραγωγής, καθαρισμός)
- Σημαντικό: δεν βοηθάει το φαινόμενο της ανάπτυξης αντίστασης από τα τροφογενή παθογόνα και αλλοιογόνα των τροφίμων

Φυσικοί αναστολείς του QS εγκεκριμένοι για χρήση στην Ευρώπη

Εκχυλίσματα από δενδρολίβανο (E392)

Κουρκουμίνη (E100)

Ασκορβικό οξύ (E300)

Νισίνη (E234)

Γαλακτικό οξύ (E270)

Κιτρικό οξύ (E330)

Οξικό οξύ (E260)

Δημιουργία ανθεκτικών μορφών

Σπορογόνα βακτήρια (ενδοσπόριο) και θερμοανθεκτικοί μύκητες

Ιδιαίτερα σημαντικά για τα τρόφιμα: τροφογενή παθογόνα
(*Clostridium perfringens*, *Cl. botulinum*, *Bacillus cereus*)
εκκρίνουν τοξίνες

Σπορογόνα που αλλοιώνουν τα τρόφιμα (*Geobacillus*,
Sporolactobacillus)

Κίνδυνος για τα τρόφιμα χαμηλής οξύτητας ($pH > 4,6$) που είναι
συσκευασμένα σε ερμητικά κλεισμένες συσκευασίες υπό κενό
(κονσέρβες, μπουκάλια)

Γιατί; Έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία και έχουν θανατωθεί
τα βλαστικά κύτταρα, ενώ έχουν δημιουργηθεί ανθεκτικές
μορφές

Τρόφιμα χαμηλής οξύτητας ($\text{pH} > 4.6$)

- ✓ Συσκευάζονται σε ερμητικά κλειστούς περιέκτες (κονσέρβες)
- ✓ Θερμική επεξεργασία με στόχο την «εμπορική αποστείρωση»
- ✓ Στόχος είναι : απενεργοποίηση των τροφογενών παθογόνων και των αλλοιογόνων μο. Επιβιώνει ένας αμελητέος αριθμός μικροβιακών κυττάρων και το προϊόν είναι σταθερό στο ράφι
- ✓ Συχνά γίνεται συνδυασμός με τεχνικές συντήρησης όπως η οξίνιση ή μείωση της ενεργότητας του νερού (a_w), έτσι ώστε να μειωθεί και η ένταση της θερμικής επεξεργασίας
- ✓ Στάδια για την επεξεργασία: 1) αποστείρωση του προϊόντος εκτός του περιέκτη 2) πλήρωση προ-αποστειρωμένων περιεκτών με το προϊόν 3) ερμητικό σφράγισμα υπό ασηπτικές συνθήκες

Δημιουργία ανθεκτικών μορφών

- ✓ Τρόφιμα υψηλής οξύτητας ($\text{pH} < 4.6$) αλλοιώνονται από
 - Σπορογόνα βακτήρια
 - Μύκητες με θερμοανθεκτικά ασκοσπόρια
- ✓ Ενδοσπόρια: ληθαργικές μορφές, όχι μεταβολικά ενεργές
- ✓ Ανθεκτικότητα σε θέρμανση, κατάψυξη, αφυδάτωση, υψηλή πίεση, ακτινοβολίες (γ , UV), χημικούς παράγοντες

Ενδογενείς παράγοντες του τροφίμου που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών

Βιολογική δομή

pH

Χημική σύσταση

Ενεργότητα του νερού (a_w)

Οξειδοαναγωγικό δυναμικό

Πως επηρεάζουν οι ενδογενείς παράγοντες την ανάπτυξη των μο;

Επιδρούν στην ταχύτητα των ενζυμικών αντιδράσεων των μο → στον μεταβολισμό τους → στην κυτταρική διαίρεση

- στην αύξησή τους
- στον τελικό πληθυσμό τους στο τρόφιμο

Το αρχικό μικροβιακό φορτίο επηρεάζεται στα εξής σημεία στην καμπύλη αύξησης:

- ✓ στη διάρκεια της φάσης υστέρησης,
- ✓ στην κλίση της εκθετικής αύξησης,
- ✓ στη διάρκεια και τη μέγιστη τιμή της φάσης στασιμότητας

Βιολογική δομή του τροφίμου

Προστατευτικές δομές σε κάποια τρόφιμα που δεν επιτρέπουν την είσοδο των μο (κέλυφος, φλοιός των καρπών, εσωτερική δομή των ζωικών ιστών)

συλλογή καρπών και επεξεργασία συχνά μεταβάλλει ή τραυματίζει τη δομή αυτή → πιο ευαίσθητα τρόφιμα

Όπλα των μο : εξωκυτταρικά ένζυμα για την κατάλυση της βιολογικής δομής

Σημαντική επίσης η δομή και η φυσικοχημική κατάσταση του τροφίμου (ζελατινώδης μορφή, γαλάκτωμα)

Χημική σύνθεση του τροφίμου

Κύρια συστατικά ενός θρεπτικού υλικού για τους μο: νερό, πηγή C, πηγή N, ιχνοστοιχεία, αυξητικοί παράγοντες, οξυγόνο

Πηγή C: χρησιμοποιούν πιο εύκολα τα σάκχαρα, από τα λιπαρά οξέα ή τις αζωτούχες ενώσεις

Πηγή N: ελεύθερα αμινοξέα πρώτα, μετά οι πρωτεΐνες

Αυξητικοί παράγοντες: (βιταμίνες, νουκλεοτίδια) υπάρχουν αρκετά στα τρόφιμα για να καλύψουν τις ανάγκες των μο

Φυσικά συντηρητικά των τροφίμων

Αναστολή της αύξησης των μο παρατηρείται από κάποιες ενώσεις που περιέχονται σε τρόφιμα όπως:

- Σκόρδα (allicin)
- Κανέλλα (κιναμική αλδεύδη)
- Φασκόμηλο (eugenol, thymol)
- Ρίγανη (isothymol, thymol)
- Αγελαδινό γάλα (λακτοφερίνη)
- Αυγά (λυσοζύμη)
- Φρούτα -λαχανικά (φαινολικές ενώσεις, παράγωγα του υδροξυ-κιναμικού οξέος)

pH του τροφίμου

Χαμηλό pH → υψηλή οξύτητα

Υψηλό pH → χαμηλή οξύτητα

Όσο χαμηλότερο το pH, τόσο περισσότερη ενέργεια ξοδεύει το κύτταρο για να διατηρήσει κοντά στο ουδέτερο το ενδοκυτταρικό του pH → λιγότερη ενέργεια για την αύξησή του και την παραγωγή τοξινών

pH του τροφίμου

pH	Τρόφιμο (α)
>7.0	Ασπράδι αυγού, καβούρι, καλαμπόκι
7.0-6.5	Γάλα, ζαμπόν, μπέικον, πουλερικά, ψάρια, γαρίδες
6.5-5.3	Ωμό βόειο κρέας, λαχανικά, κρέας συσκευασμένο στο κενό, πεπόνια
5.3-4.5	Τυρί cottage, λαχανικά ζυμωμένα, αλλαντικά, πολλές σάλτσες, σούπες
<4.5	Ντομάτες, φρούτα και χυμοί φρούτων, γιαούρτι, τουρσιά, ξινολάχανο, τυρί φέτα

Πως επηρεάζει η μεταβολή του τροφίμου την αύξηση των μο;

Τρόφιμα πρωτεϊνούχα παρουσιάζουν ρυθμιστικές ιδιότητες στις αλλαγές του pH

Η επίδραση του pH του τροφίμου στην αύξηση των μο μπορεί να γίνει σε τρία επίπεδα:

- ✓ Στο τρόφιμο-υπόστρωμα
- ✓ Στην διαπερατότητα των μεμβρανών
- ✓ Στη μεταβολική δραστηριότητα του μο

Πως επηρεάζει η μεταβολή του τροφίμου την αύξηση των μο;

- ❑ Μεταβάλλεται η διαλυτότητα κάποιων μετάλλων που είναι απαραίτητα για την αύξηση των μο π.χ. Mg^{2+} σε όξινο pH γίνονται αδιάλυτα (Τρόφιμο - υπόστρωμα για τους μο)
- ❑ Όταν μειώνεται το pH αυξάνονται τα H^+ και οι περμεάσες των μεμβρανών που δεσμεύουν τα κατιόντα, πληρούν τις αντίστοιχες θέσεις με H^+ Διακόπτεται η μεταφορά άλλων σημαντικών για τα μικροβιακά κύτταρα ιόντων (Διαπερατότητα των μικροβιακών μεμβρανών)

Πως επηρεάζει η μεταβολή του τροφίμου την αύξηση των μο;

Οι ενζυμικές αντιδράσεις των μο επηρεάζονται από το κυττοπλασματικό pH.

Τα ασθενή ιόντα είναι πιο αποτελεσματικά γιατί :

- ✓ Η μη-ιονισμένη μορφή διαπερνά πιο εύκολα τις μεμβράνες των μο (pH 5-6)
- ✓ Παρουσιάζουν ειδική τοξική δράση στις μεταβολικές οδούς των μο (γαλακτικό, οξικό, κιτρικό ~1%, ενώ σορβικό, θειώδες, νιτρώδες 0.05%-0.2%)

Πως επηρεάζει η μεταβολή του pH του τροφίμου την αύξηση των μο;

- Υπάρχουν προστατευτικοί μηχανισμοί των ενζύμων (μεμβράνη δεν επιτρέπει εύκολα την είσοδο σε ιόντα, ρυθμιστική δυνατότητα του κυτταροπλάσματος)
- Το *Salmonella enterica* Typhimurium διαθέτει 3 μηχανισμούς διαδοχικά αυξανόμενης ασφάλειας για τη διατήρηση του pH ενδοκυτταρικά: αντίδραση ομοιόστασης ($\text{pH} > 6$), αντίδραση οξυαντοχής ($\text{pH} 5.5-6$), σύνθεση πρωτεϊνών όξινου σοκ ($\text{pH} 3-5$)

Ενεργότητα νερού (a_w)

Η ποσότητα του μη-δεσμευμένου ή του διαθέσιμου νερού καθορίζει την αύξηση των μο στο τρόφιμο

Η ενεργότητα νερού (a_w) είναι το μέτρο του διαθέσιμου νερού ή πιο σωστά της ενέργειας του νερού στο τρόφιμο

Ο λόγος της τάσης ατμών του νερού στο τρόφιμο (P) προς την τάση ατμών καθαρού νερού (P_0), στην ίδια θερμοκρασία:
$$a_w = P/P_0$$

Επίσης σε γραμμομοριακή βάση: $a_w = n_1/(n_1+n_2)$, n_1 : moles H_2O , n_2 : moles δμ. ουσίας

Για 1L νερό, $a_w = 55,5/(55,5+n_2)$

Ενεργότητα νερού (a_w)

- Η μετακίνηση των υδρατμών από το τρόφιμο στον αέρα εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε υγρασία, τη σύνθεση του τροφίμου, τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία (ERH)
- $a_w = \text{ERH} (\%) / 100$

Τιμές a_w σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων

Τρόφιμα	a_w
Φρέσκα νωπά φρούτα, λαχανικά, Κρέας και ψάρια	>0.98
Μαγειρεμένο κρέας, ψωμί	0.95-0.98
Παστά προϊόντα κρέατος, τυριά	0.87-0.91
Μαρμελάδες	0.75-0.80
Γλυκά	0.65-0.75
Αποξηραμένα φρούτα	0.60-0.65
Αποξηραμένα ζυμαρικά, μπαχαρικά	0.20-0.60
Σκόνη γάλακτος	0.20-0.60

Πως μειώνουμε την a_w στα τρόφιμα;

Νερό $a_w=1$

Προσθήκη: αλατιού (NaCl) ή ζάχαρης

$a_w=0.94$ NaCl 9.5%, Ζάχαρη:55.3%

$a_w=0.86$ NaCl 21%

Ποιες οι συνέπειες της μείωσης του a_w στους μο;

Προκαλεί μείωση του κυττοπλασματικού τους όγκου, αλλαγή στο μεταβολισμό

Σημαντικό σημείο: η ταχύτητα με την οποία γίνεται η μεταβολή αυτή. Όσο πιο αργά, τόσο πιο ανθεκτικοί γίνονται οι μο

Ενεργοποιούν μηχανισμούς ρύθμισης που συσσωρεύουν διαλυμένες ουσίες, με σκοπό να διατηρήσουν σταθερό τον όγκο του κυττάρου και να περιορίσουν την αποδιάταξη των βιομορίων, λόγω των ιοντικών δυνάμεων

Οσμω-προστατευτικές ενώσεις: γλουταμινικό κάλιο στην αρχή, προλίνη, βεταΐνη, τρεχαλόζη

Σε πόσο a_w αντέχουν οι μικροοργανισμοί;

Η απαίτηση σε a_w ακολουθεί περίπου την σειρά:

Gram-βακτήρια (>0.93) $>$ Gram+ βακτήρια (>0.90) $>$ ζύμες (~ 0.88)
 $>$ μύκητες (0.80)

Εξαίρεση στα Gram+ βακτήρια: σταφυλόκοκκοι a_w 0.86! Δεν παράγουν όμως τοξίνες $a_w < 0.93$

Τα περισσότερα βακτήρια που σχηματίζουν ενδοσπόρια δεν αναπτύσσονται σε $a_w < 0.93$

Οσμώφιλες ζύμες $a_w = 0.60$

Ξηροφιλικοί μύκητες $a_w = 0.65$

Επίδραση του οξυγόνου των τροφίμων και του οξειδωτικού στρες στην αύξηση των μο

Το οξυγόνο επιδρά στον μεταβολισμό των μο ως εξής:

Τροποποιεί το οξειδοαναγωγικό δυναμικό. $+O_2$: Θετικό, $-O_2$: αρνητικό (οργανικά υποστρώματα πλούσια σε αναγωγικές ενώσεις)

Είναι ο τελικός αποδέκτης e^- για τους αερόβιους μο

Δημιουργεί ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες

Δεν είναι όλοι οι μο ίδιοι...απέναντι στο οξυγόνο

Χωρίζονται σε κατηγορίες: αερόβιοι, προαιρετικά αναερόβιοι, μικροαερόφιλοι, αυστηρά αναερόβιοι

Οι αερόβιοι διαθέτουν τα ένζυμα καταλάση και δισμουτάση του υπεροξειδίου που διασπούν το H_2O_2 και τις ρίζες οξυγόνου. Αναπτύσσονται στην επιφάνεια των τροφίμων (*Pseudomonas* spp, *Bacillus* spp, *Micrococcus* spp)

Οι προαιρετικά αναερόβιοι διαθέτουν τα ένζυμα της αναπνοής αλλά και των ζυμωτικών αντιδράσεων (εντεροβακτήρια, σταφυλόκοκκοι)

Τα αυστηρά αναερόβια διαθέτουν ζυμωτικό ενζυμικό μηχανισμό (*Clostridium* spp, *Peptococcus* spp, *Propionibacterium* spp)

Αεροανθεκτικοί μο (αναερόβιοι) δεν διαθέτουν την καταλάση, αλλά κάποιο άλλο ένζυμο όπως μία υπεροξειδάση (οξυγαλακτικά βακτήρια)

Τι οξυγόνο διαθέτουν τα τρόφιμα;

Είναι φτωχά σε οξυγόνο, διότι δεν διαλύεται εύκολα σε νερό
Είναι πλούσια σε αναγωγικές ενώσεις → έχουν αρνητικό οξειδοαναγωγικό δυναμικό

Εξωτερικά: μολύνσεις από αερόβιους μο

Εσωτερικά: προαιρετικά αναερόβιους και αναερόβιους

Φρέσκα φυσικά προϊόντα: + οξειδ/αναγ. λόγω δομής αναπνέουν. Εάν αλλάξει αυτό λόγω επεξεργασίας γίνεται αρνητικό

Τρόφιμα σκόνη: αλλοιώνονται από αερόβιους μο

Εξωγενείς παράγοντες

Θερμοκρασία,
σχετική υγρασία,
τροποποιημένη ατμόσφαιρα

Θερμοκρασία

Επηρεάζει σημαντικά:

- την αύξηση και τη φυσιολογία των μικροοργανισμών
- Η πτώση της Θερμοκρασίας επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης
- τη γενετική έκφραση, την έκφραση της μολυσματικότητας
 - τη θερμική ευαισθησία

Θερμοκρασία: επηρεάζει σημαντικά

- τη γενετική έκφραση, την έκφραση της μολυσματικότητας
- Τα κύτταρα για να διατηρήσουν την ρευστότητα της μεμβράνης τους σε χαμηλές θερμοκρασίες, συνθέτουν μονο-και δι-ακόρεστα λιπαρά οξέα (ομοιόμορφη προσαρμογή)
- Συσσωρεύουν διαλυτές συμβατές στερεές ουσίες, όπως στην κατάσταση χαμηλού a_w , από τα τρόφιμα (αμινοξέα, πεπτίδια, βεταΐνη, σάκχαρα κ.α.)
- Διαθέτουν πρωτεΐνες ψυχρού σοκ, που λειτουργούν ως chaperone RNA (ελαχιστοποιώντας την αναδίπλωση του mRNA)
- Η θερμοκρασία μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση της μολυσματικότητας. Η έκφραση γονιδίων μολυσματικότητας σε αρκετά τροφογενή παθογόνα είναι υψηλή στους 37°C, αλλά μειώνεται με τη πτώση της θερμοκρασίας και πολλές φορές στους 4 °C είναι σχεδόν αμελητέα (*Y.enterocolitica*, *L.monocytogenes*, *Shigella*)

Θερμοκρασία: επηρεάζει σημαντικά

- τη θερμική ευαισθησία

Κύτταρα του *L.monocytogenes* που καλλιεργήθηκαν στους 48 °C για 2 ώρες έχουν αυξημένη ανθεκτικότητα και στους 64 °C κατά 2,4 φορές

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ που συντίθενται προφυλάσσουν και από άλλους στρεσογόνους παράγοντες (πολύ χαμηλό a_w)

Έλεγχος Θερμοκρασίας στα τρόφιμα

Βασικός παράγοντας για την ασφάλεια τροφίμων

Ο κανόνας 40-140°F ή 4,4-60 °C

Τα τρόφιμα συντηρούνται <4.4°C ή σε >60°C

Τα τρόφιμα πρέπει να περνούν από τη ζώνη θερμοκρασιακής καταπόνησης πολύ γρήγορα! Η αργή ψύξη πολύ συχνά χειρότερη από την ακατάλληλη θέρμανση! (Ο ρόλος των δοχείων στη ψύξη)

Τα τρόφιμα που βρίσκονται στη ζώνη 25-50 °C μπορεί να γίνουν επικίνδυνα σε λίγες ώρες. Εκείνα που θα διατηρηθούν σε ακόμη πιο στενή θερμοκρασιακή ζώνη (30-45 °C), βρίσκονται σε ακόμη μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν κάποιο/α παθογόνο/α σε λιγότερο χρόνο

Ανάλυση επικινδυνότητας ενός τροφίμου σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία και τον χρόνο έκθεσης (Frank Bryan)

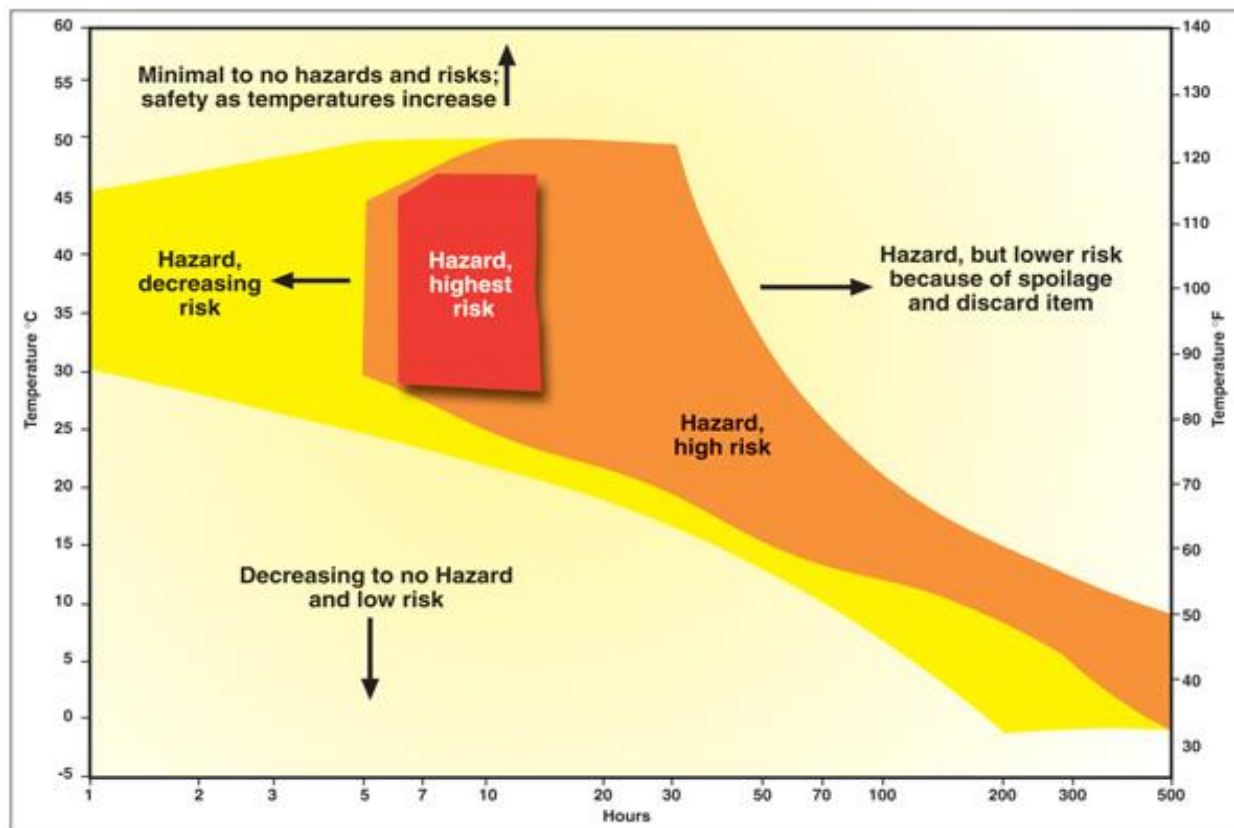


Figure 3. Effects of time-temperature exposures on vegetative bacteria in moist foods, including "danger zones."

Θερμοκρασία συντήρησης τροφίμων

- Ψυχρόφιλοι, μεσόφιλοι, θερμόφιλοι
- Ψυχρόφιλοι: *Alcaligenes* spp, *Pseudomonas* spp, *Streptococcus* spp. Είδη από τα γένη *Brochothrix*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus* αναπτύσσονται σε ψυγεία και αλλοιώνουν κρέατα, κοτόπουλα, ψάρια, αυγά
- Μεσόφιλοι: αναπτύσσονται και στις θερμοκρασίες ψυγείου συχνά και ανήκουν περίπου στα ίδια γένη
- Θερμόφιλοι: κυρίως από τα γένη *Clostridium*, *Bacillus* (κρίσιμο σημείο: δημιουργία ενδοσπορίων)

Ποια Θερμοκρασία συντήρησης επιλέγουμε για τα τρόφιμα;

Μύκητες: μεγάλο εύρος Θερμοκρασιών (στελέχη από τα γένη *Aspergillus*, *Thamnidium*, *Cladosporium*, αναπτύσσονται και στο ψυγείο)

Ζύμες: μεσόφιλες και ψυχρόφιλες

Η επιλογή της Θερμοκρασίας συντήρησης πρέπει να λαμβάνει υπόψη της:

- Ασφάλεια του τροφίμου
- Διατήρηση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων

Σχετική υγρασία του χώρου συντήρησης των τροφίμων (ERH)

Επηρεάζει το υδατικό δυναμικό των τροφίμων:

$$ERH=100 \cdot a_w$$

Τρόφιμα με χαμηλό υδατικό δυναμικό όταν βρεθούν σε περιβάλλον με υψηλή υγρασία απορροφούν υγρασία



Ομοιόσταση και Τεχνολογία παρεμποδιστών

○ Νέες τάσεις στα τρόφιμα για ελάχιστη επεξεργασία

○ Τροποποίηση στα άκρα μεμονωμένων ενδογενών παραγόντων (οξύτητα, αλάτι) για τον περιορισμό της ανάπτυξης των μ τροποποίηση περισσότερων παραγόντων σε λιγότερο ακραίες τιμές

Συνδυασμός pH και a_w	Προτεινόμενη θερμοκρασία συντήρησης (°C)	Κατηγοριοποίηση τροφίμων
pH >5 και a_w >0.95	<4	Αλλοιώνονται εύκολα
pH 5-5.2 και a_w 0.90-0.95	<10	Αλλοιώσιμα
pH <5.2 και a_w <0.95	Μπορεί να μην απαιτείται ψύξη	Σταθερά στο ράφι
pH <5	Μπορεί να μην απαιτείται ψύξη	Σταθερά στο ράφι
a_w <0.90	Μπορεί να μην απαιτείται ψύξη	Σταθερά στο ράφι

Διατήρηση της ομοιόστασης: απαιτεί κατανάλωση ενέργειας

- ✓ Καλύτερα αποτελέσματα για τον περιορισμό των μο όταν χρησιμοποιούνται αναστολείς με διαφορετικούς μηχανισμούς:
- ✓ Πτώση του pH στο τρόφιμο: οι μο καταναλώνουν ενέργεια για τη διατήρηση του ενδοκυτταρικού pH με άντληση πρωτονίων στο εξωτερικό
- ✓ Μείωση της a_w στο τρόφιμο: οι μο καταναλώνουν ενέργεια για τη συσσώρευση ενδοκυτταρικών συμβατών διαλυτών ενώσεων.
- ✓ Κατανάλωση της ενέργειας για τη διατήρηση της ομοιόστασης → μείωση της αύξησης του μο → εάν είναι μεγαλύτερη από αυτή που παράγει, θάνατος των μικροβιακών κυττάρων

Τεχνολογία παρεμποδιστών

- ✓ Ρύθμιση pH
- ✓ Ρύθμιση του a_w
- ✓ Αντιμικροβιακοί παράγοντες
- ✓ Ακτινοβολία
- ✓ Τροποποιημένη ατμόσφαιρα με όζον

Τα αποτελέσματα μπορεί να είναι πρόσθετα ή και συνεργιστικά



Ευχαριστώ για την προσοχή σας!