

Εφαρμοσμένη Μικροβιολογία Β' Μέρος

Μικροβιολογία Τροφίμων

Μαντώ Κυριακού
Καθηγήτρια
ΤΕΔΔ, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ασφάλεια τροφίμων φυτικής προέλευσης

Λαχανικά , φρούτα, σιτηρά

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά

- ✿ Τεράστιο οικονομικό πρόβλημα από τις μικροβιολογικές μολύνσεις και αλλοιώσεις
- ✿ $\frac{1}{4}$ της παραγωγής αλλοιώνεται πριν από την κατανάλωση
- ✿ Μη σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία του καταναλωτή

Άνεμος αλλαγών...

- ❑ Τα τελευταία χρόνια παρατηρούνται αλλαγές:
 - ✓ στις διατροφολογικές συνήθειες
 - ✓ στη διακίνηση των τροφίμων
 - ✓ στη διαδικασία παραγωγής
 - ✓ στην εντατικοποίηση της παραγωγής
- ➔ Νέοι τύποι αλλοιώσεων πιο επικίνδυνοι

Λαχανικά - φρούτα, καρποί

- ❑ Καρποί είναι όλα τα όργανα των φυτών που φέρουν σπόρους: φρούτα αλλά και καρποί που θεωρούνται λαχανικά (τομάτες, αγγούρια, πιπεριές)
- ❑ Λαχανικά είναι όλα τα υπόλοιπα μέρη των φυτών που τρώγονται (φύλλα, σπόροι, ρίζες)

Είδη αλλοίωσης των τροφίμων φυτικής προέλευσης

- ✓ Αλλοιώσεις (μεταβολές σε χρώμα , γεύση, οσμή, υφή) που προκύπτουν πριν από την συγκομιδή: φυτοπαθογόνοι μο
- ✓ Αλλοιώσεις που προκύπτουν μετά την συγκομιδή: αλλοιογόνοι μο (μικροβιολογία τροφίμων)

Είδη αλλοίωσης των τροφίμων φυτικής προέλευσης

- ✓ Ενεργός αλλοίωση: προκαλείται από φυτοπαθογόνους μο που δρουν σε υγιή προϊόντα
- ✓ Παθητική αλλοίωση: οι μο εισέρχονται μέσα μετά από βλάβη του επιδερμικού ιστού. Προκαλείται από:
 - ο κακό εξοπλισμό κατά τη συγκομιδή,
 - ο προσβολή από έντομα ή
 - ο μετά από προσβολή από φυτοπαθογόνο μο

Πρόελευση των αλλοιογόνων μο

- ✿ Κανονικός μικροβιόκοσμος των φυτικών προϊόντων προέρχεται από το χώμα, τον αέρα, τη σκόνη, το νερό, το μέσο λίπανσης
- ✿ Μετά την συλλογή τους: μικροβιόκοσμος δοχείων και χώρων που αποθηκεύονται

Βακτήρια	Gram - βάκιλλοι	Γένος
	Βακτήρια του γαλακτικού οξέος	<i>Pseudomonas</i> <i>Alcaligenes</i> <i>Chromobacterium</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Enterobacter</i>
		<i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i>
	Gram +	<i>Bacillus</i> <i>Micrococcus</i> <i>Corynebacterium</i>
Μύκητες		<i>Aspergillus</i> <i>Fusarium</i> <i>Alternaria</i> <i>Aureobasidium</i> <i>Penicillium</i> <i>Sclerotinia</i> <i>Botrytis</i> <i>Rhizopus</i>
Ζύμες		Μεγάλη ποικιλία

Αλλοιώσεις

Αλλοίωση περιγράφεται από τα συμπτώματα που εμφανίζονται συχνά σε ένα συγκεκριμένο προϊόν π.χ. κρεμύδια
γλυκοπατάτες: μαύρη σήψη (*Aspergillus niger*, *Ceratocystis fimriata*)



Ceratocystis fimriata



Λάχανο: σήψη γκρι μούχλας - *Botrytis*



Σήψη γκρι μούχλας: *Botrytis cinerea*

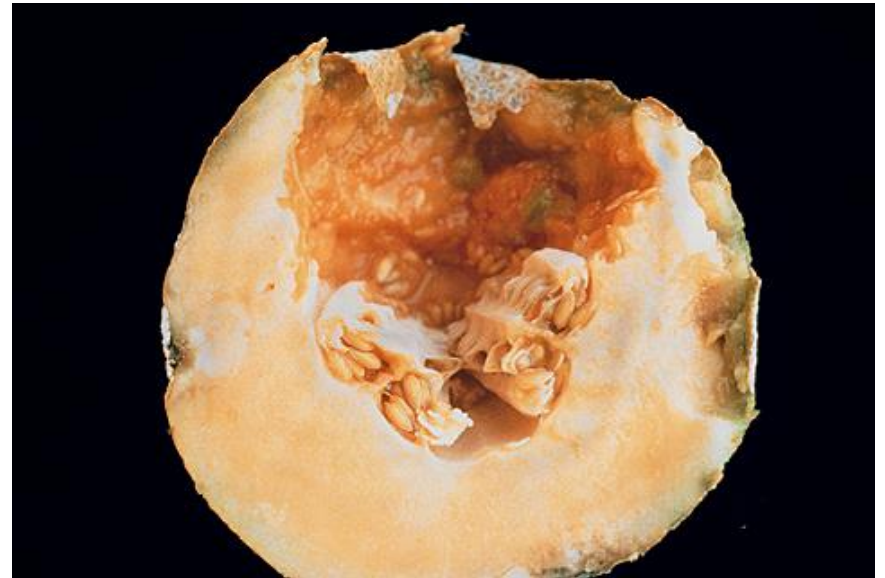


Μαλακή σήψη

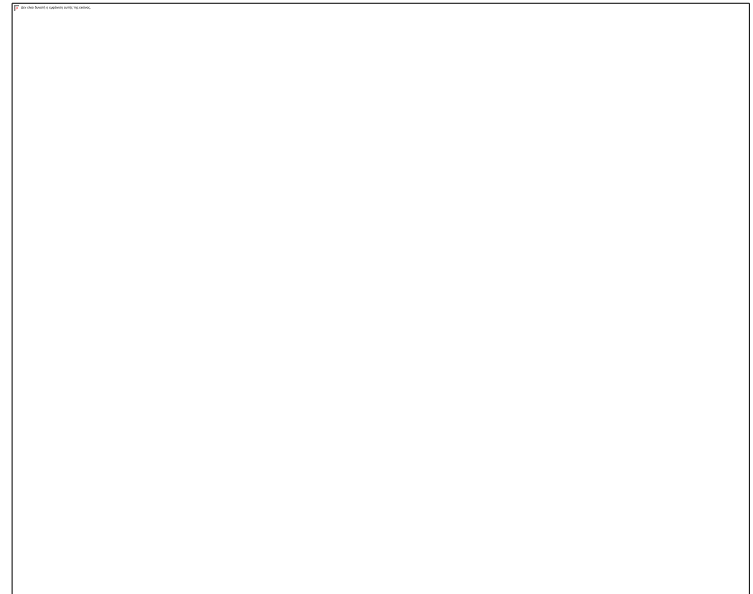
Erwinia carotovora

Bacillus spp.

Clostridium sp



Erwinia carotovora



Μηχανισμοί αλλοίωσης

- Εξουδετέρωση των μηχανισμών άμυνας των υγιών φυτικών κυττάρων (τραυματισμός)
- Επιδερμική στρώση κυττάρων (επιδερμίδα, φλοιός ή κέλυφος) που αποτελείται από κυτταρίνη, πηκτίνη και πιθανά ένα στρώμα κεριού (κουτίνη)
- Ένζυμα αλλοιογόνων μο: πηκτινάσες, κυτταρινάσες, πρωτεάσες, φωσφατάσες,

Φυσική κατάσταση του φυτού

- ❖ Καλή φυσιολογική υγεία του φυτού: Μηχανισμοί άμυνας πιο αποδοτικοί
- ❖ Μη-κλιμακτηριακά προϊόντα: δεν παρουσιάζουν καμία απότομη άνοδο του ρυθμού αναπνοής μετά τη συγκομιδή τους (φράουλες, φασόλια, μαρούλι)
- ❖ Κλιμακτηριακά : συνεχίζουν να ωριμάζουν και να αναπτύσσονται μετά τη συγκομιδή μέχρι την γήρανση (μπανάνες, τομάτες)
- Πιο ευάλωτα προϊόντα λόγω της συσσώρευσης αποικοδομητικών ενζύμων

Λαχανικά (μέθοδοι συντήρησης)

I) Ασηψία

- ❖ Συνθήκες υγιεινής κατά τη συλλογή, επεξεργασία, συντήρηση (χώροι, δοχεία, άνθρωποι)
- ❖ Ξέπλυμα. Νερό!!! Υψηλής μικροβιολογικής ποιότητας
- ❖ Προσθήκη χλωρίνης στο νερό (5-250mg/L)
- ❖ 10^2 - 10^7 κυτ/g στα φρέσκα λαχανικά
- ❖ Συγκράτηση υγρασίας, ευνοεί την αλλοίωση από μο

Λαχανικά (μέθοδοι συντήρησης)

II) Χρήση Θέρμανσης

- ✓ Επεξεργασία μέσα σε δοχεία σε υψηλές θερμοκρασίες ($>120^{\circ}\text{C}$)
- ✓ Συχνά πριν από κάποια επεξεργασία (αφυδάτωση, κατάψυξη, κονσερβοποίηση) τοποθετούνται σε βραστό νερό για λίγα λεπτά → μείωση του μικροβιακού φορτίου κατά 1000 έως 10.000 φορές



Λαχανικά (μέθοδοι συντήρησης)

III) Χρήση χαμηλών θερμοκρασιών

- ❑ Διαφορετικά είδη → διαφορετικές θερμοκρασίες
- ❑ Κατάψυξη: μειώνει κατά 50% το μικροβιακό φορτίο. Εξαρτάται από την αρχική μικροβιολογική ποιότητα!
- ❑ Για τα κατεψυγμένα λαχανικά προτιμώνται οι μικρές συσκευασίες για να χρησιμοποιείται ολόκληρη η συσκευασία κατευθείαν, χωρίς να αποψύχονται αργά. Παράδειγμα: μόλυνση καλαμποκιού από *Staphylococcus aureus* που παράγει τοξίνη εάν αποψυχθεί από την προηγούμενη ημέρα

Χρήση χαμηλών θερμοκρασιών



Λαχανικά (μέθοδοι συντήρησης)

IV) Αφυδάτωση - Ξήρανση

- ❑ Διαδικασία που θανατώνει τις ζύμες και τα περισσότερα βακτήρια, δεν καταστρέφει όμως τις ανθεκτικές μορφές
- ❑ Αύξηση στην αγορά αφυδατωμένων λαχανικών
- ❑ Η διαδικασία περιλαμβάνει: τεμαχισμό, μερική αφυδάτωση, εφαρμογή θέρμανσης+ πίεσης σε κλειστούς περιστρεφόμενους θαλάμους. Διακοπή της πίεσης $\Rightarrow$ απώλεια ξανά υγρασίας, δημιουργία πορώδους δικτύου που επιτρέπει την καλή ανάκτηση του προϊόντος

Αφυδάτωση - Ξήρανση



Λαχανικά (μέθοδοι συντήρησης)

V) προσθήκη συντηρητικών ουσιών

- ❖ Δεν συνηθίζεται
- ❖ Πιθανά επεξεργασία της επιφάνειας σε μαρούλι, σπανάκι κλπ, με άλατα ψευδαργύρου για τους μύκητες. Ατμοί διφαινυλίου προστατεύουν τις πατάτες από μόλυνση με *Fusarium* spp.
- ❖ Αλάτι σε ζυμωμένα λαχανικά

Λαχανικά (μέθοδοι συντήρησης)

Τροποποιημένη ατμόσφαιρα

- ο Συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα: μείωση της συγκ. O_2 και αύξηση της συγκ. CO_2 (min 5%)
- ο Μείωση της διαδικασίας αναπνοής και γήρανσης

Λαχανικά (αλλοιώσεις)

- ❖ Μετασυλλεκτικές αλλοιώσεις: μεταξύ συγκομιδής και κατανάλωσης
- ❖ Φυτοπαθογόνοι μο ή σαπροφυτικοί. Εξαρτάται από τις συνθήκες συντήρησης (υγρασία-θερμοκρασία)
- ❖ Μαλακή σήψη (*Erwinia carotovora*)
- ❖ *Pseudomonas* spp.

Trichothecium roseum

Μύκητες κυρίως:
Geotrichum candidum,
Botrytis cinerea,
Rhizopus spp., *Penicillium*
spp., *Trichothecium*
roseum,
Alternaria spp.



Alternaria spp., *Penicillium* spp



Geotrichum candidum



Κίνδυνος για παραγωγή
μυκοτοξινών και στα
αφυδατωμένα προϊόντα,
από τις αλλοιώσεις των
μυκήτων

Λαχανικά (παθογόνοι μο)

- Τελευταία και στις ανεπτυγμένες χώρες άρχισαν να εμφανίζονται
- *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Aeromonas* spp.
- Ιοί
- Πρωτόζωα
- Χαμηλής ποιότητας νερό άρδευσης, κοπριά μη-χωνεμένα ή κομποστ που δεν έχει ωριμάσει

Φρούτα

- Διαθέτουν αντίστοιχο μικροβιόκοσμο με των λαχανικών
- Όξινο pH, +οξειδοαναγωγικό δυναμικό, υψηλή συγκέντρωση σακχάρων → ανάπτυξη μυκήτων
- Μέθοδοι συντήρησης αντίστοιχοι

Σπόροι

Διαφέρουν από φρούτα και λαχανικά:

- ❑ επεξεργάζονται πάντα πριν από την κατανάλωση από τον άνθρωπο (αλεύρι, προϊόντα ζυμαρικών, δημητριακά για σνακ ή πρωινό)
- ❑ χαμηλό υδατικό δυναμικό $a_w < 0.65$: δεν ευνοείται η μικροβιολογική ανάπτυξη

Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί

- ❑ Φυσικός μικροβιόκοσμος: κυρίως μυκηλιακοί μύκητες (μούχλες), βακτήρια
- ❑ Επηρεάζεται από: την ποικιλία του φυτού (γενετικοί παράγοντες), τις συνθήκες συντήρησης (υγρασία!!, υγιεινή χώρου φύλαξης, τρωκτικά, έντομα)
- ❑ Επεξεργασία: άλεση και διάφορα άλλα στάδια
→ μείωση του μικροβιακού φορτίου

Μυκοτοξίνες

- ✓ Δευτερογενείς μεταβολίτες που παράγονται από συγκεκριμένα είδη μυκήτων που ανήκουν κυρίως στα γένη: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*
- ✓ *Aspergillus*, *Penicillium*: συνήθως μετασυλλεκτικές μολύνσεις (ξηράνση, αποθήκευση) και παραγωγή μυκοτοξινών
- ✓ *Fusarium*, *Alternaria*: μολύνσεις πριν/κατά τη διάρκεια της συγκομιδής και παραγωγή μυκοτοξινών

Μυκοτοξίνες

FAO: ~400 διαφορετικοί δευτερογενείς μεταβολίτες με τοξική δράση από ~ 100 μυκηλιακούς μύκητες (μούχλες)

25% παγκόσμιας πρωτογενούς παραγωγής

Μυκοτοξίνες: οι σημαντικότερες κατηγορίες

Οργανικές ενώσεις με μεγάλη ποικιλία δομής

- Αφλατοξίνες (Aflatoxins AFs)
- Φουμονισίνες (Fumonisin FBs)
- Ωχρατοξίνες (Ochratoxins)
- Τριχοθηκένια (Trichothecenes)
- Ζεαλενόνε (Zearalenone)
- Πατουλίνη, Κιτροβιριδίνη, Γκριζεοφουλβίνη κ.α

«Αναδυόμενες Μυκοτοξίνες»

Μυκοτοξίνες που λίγα στοιχεία υπήρχαν για τη βιολογική δράση τους και είναι αντικείμενο έρευνας (fusaproliferin, beauvericin, enniatins, moniliformin)

Αφλατοξίνες

- ❑ AFB_1 , AFB_2 , AFG_1 , AFG_2
- ❑ *A.flavus*, *A.parasiticus*
- ❑ Μολύνουν μεγάλη ποικιλία πρώτων υλών και τροφίμων
- ❑ περίοδοι ξηρασίας + υψηλές θερμοκρασίες αυξάνει την παραγωγή τους
- ❑ 40° Β - 40° Ν γεωγραφικό πλάτος: «καυτή ζώνη» : 4.5 εκατομμύρια άνθρωποι

Αφλατοξίνες

- ✓ AFB₁: πιο γνωστή, ηπατοκαρκινογόνο, *Group 1* καρκινογόνο, ανοσοκατασταλτικό, προφλεγμονώδες, αναστολέας αύξησης σε ανθρώπους και ζώα
- ✓ Άμεση κατανάλωση υψηλής δόσης αφλατοξινών: αφλατοξίκωση και θάνατο (ηπατική νέκρωση, υπερπλασία χοληδόχου πόρου, οίδημα, λήθαργος)
- ✓ 25.200-155.000 νέες περιπτώσεις καρκίνου του ήπατος ετησίως (συνολικά 550.000-600.000) μπορεί να οφείλονται σε έκθεση στις αφλατοξίνες (4,6-28,2%)

Αφλατοξίνες: Τρόφιμα που πλήττονται

- Σπόροι - Πρώτες ύλες : σιτηρά, καλαμπόκι κ.α.
- Τρόφιμα που επηρεάζονται: αλεύρι και ζυμαρικά, παιδικές τροφές
- Ξηροί καρποί: φιστίκια (αραχίδες), φιστίκια Αιγίνης κ.α.
- Αποξηραμένα φρούτα π.χ. σύκα

Φουμονισίνες (Fumonisin FBs)

Fusarium verticillioides, F.proliferatum

- Καλαμπόκι και άλλα δημητριακά
- Υγρά κλίματα και υψηλές θερμοκρασίες
- Συνυπάρχουν με αφλατοξίνες συχνά σε τρόφιμα (καλαμπόκι)

Φουμονισίνες (Fumonisin FBs)

- Fumonisin B₁: πιο συχνή, ηπατοτοξικό, νεφροτοξικό για αρκετά είδη, *Group 2B* ανθρώπινο καρκινογόνο (καρκίνος ήπατος και οισοφάγου)
- Παράγοντες κινδύνου για νευρο-εκφυλιστικές νόσους στον άνθρωπο (παρεμποδίζουν την πρόσληψη και τον μεταβολισμό του φυλικού οξέος)

Ωχρατοξίνες

- ❖ Ωχρατοξίνη Α (ΟΤΑ), *Aspergillus ochraceus*
- ❖ Είδη των γενών *Aspergillus*, *Penicillium*: ωχρατοξίνες Α, Β, C
- ❖ Τρόφιμα από όλα τα κλίματα (κυρίως σπόροι, καφέ, κακάο, κρασί, μπύρα, τρόφιμα ζωϊκής προέλευσης - χοιρινό)
- ❖ ΟΤΑ: Νεφροτοξικό, *Group 2B* ανθρώπινο καρκινογόνο και σε πειραματόζωα ηπατοτοξικό, προκαλεί τερατογένεση, ανοσοτοξικό και καρκινογόνο

Τριχοθηκένια

- ❑ *Fusarium* spp.
- ❑ Προκαλούν αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης (60S ριβοσωμική υπομονάδα), νευροτοξικότητα, ανοσοκαταστολή και νεφρική τοξικότητα
- ❑ Σχετίζονται με την ασθένεια που αποκαλείται Damp building related illness

Τριχοθηκένια

Deoxynivalenol (DON): το πιο γνωστό τριχοθηκένιο

Προκαλεί ανορεξία, απώλεια βάρους, ενδοκρινολογικές και ανοσολογικές διαταραχές, γαστρεντερικές δηλητηριάσεις σε παιδιά

Ανθεκτικό στην επεξεργασία των τροφίμων

Ζεαραλενόνε (Zearalenone)

- Οιστρογόνο, προκαλεί πρόωμη ήβη σε κορίτσια, τοξικότητα μέσω της παραγωγής ROS
- Είδη του γένους *Fusarium*, ανιχνεύεται στο καλαμπόκι κυρίως
- Υγρές συνθήκες και κανονική θερμοκρασία και κυρίως υγρασία στον χώρο φύλαξης

Ομάδες υψηλού κινδύνου

- ✓ Αγροτικοί πληθυσμοί που η διατροφή τους εξαρτάται από καλλιέργειες βασικών προϊόντων
- ✓ Ασθενέστερα οικονομικά στρώματα που καταναλώνουν χαμηλότερης ποιότητας τρόφιμα
- ✓ Παιδιά και βρέφη

Στρατηγικές πρόληψης παραγωγής μυκοτοξινών

- ❖ Οι μυκοτοξίνες μπορεί να παραχθούν πριν από τη συγκομιδή των προϊόντων, κατά τη συγκομιδή και μετά τη συγκομιδή
- ❖ Codex Alimentarius: κώδικες για την πρόληψη και την μείωση των μυκοτοξινών στα δημητριακά, φιστίκια, μήλα και προϊόντα τους και σε αρκετές πρώτες ύλες
- ❖ Good Agricultural Practices (GAP) και Good Manufacturing Practices (GMP)

Οικονομικό κόστος

Ανάκληση τροφίμων που έχουν ήδη παραχθεί (Κίνα, αφλατοξίνη σε βρεφικό γάλα, 2012)

Περιορισμοί σε εξαγωγές και εισαγωγές (εισαγωγές τροφίμων από αναπτυσσόμενες χώρες, συχνά ανίχνευση μυκοτοξινών)

Ρύζι, καλαμπόκι και σιτάρι: η κύρια τροφή του πλανήτη
ΗΠΑ (2003): καλαμπόκι, φιστίκια, σιτάρι μολυσμένα με μυκοτοξίνες: 0.5-1.5 εκατομμύρια \$ κόστος



Ευχαριστώ!!!