ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

Μικροβιολογία Τροφίμων Ι Εργαστήριο

Ενότητα 7:

Κλασσικές & Σύγχρονες (Ταχείες) Μέθοδοι Μέτρησης Μικροβιακού Φορτίου (3/3), 2ΔΩ

Τμήμα: Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής Του Ανθρώπου

Διδάσκοντες: Ευστάθιος Ζ. Πανάγου

Πασχαλίτσα Τρυφινοπούλου

Αναστάσιος Σταματίου

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Μαθησιακοί Στόχοι

- Η εξοικείωση των φοιτητών με τις ταχείες μεθόδους απαρίθμησης του μικροβιακού φορτίου στα τρόφιμα.

Λέξεις Κλειδιά

- Ταχείες μέθοδοι απαρίθμησης μικροβιακού φορτίου
- Μέθοδος δεκαδικών αραιώσεων
- Μέθοδος οπτικής πυκνότητας
- Μέθοδος ηλεκτρικής αγωγιμότητας
- Αιματοκυτόμετρο
- Μέθοδος περισσότερο πιθανού αριθμού
- Σπειροειδής μέθοδος απαρίθμησης

Β. Σύγχρονες (Ταχείες) μέθοδοι

(β) Βιοφυσικές μέθοδοι

- Οπτική πυκνότητα

Μέθοδος αγωγιμότητας ή αντίστασης

- Direct EpiFluorescence Technique (DEFT)
- Πορτοκαλόχρουν της ακριδίνης
- Χρώση RNA-DNA

Οπτική Πυκνότητα

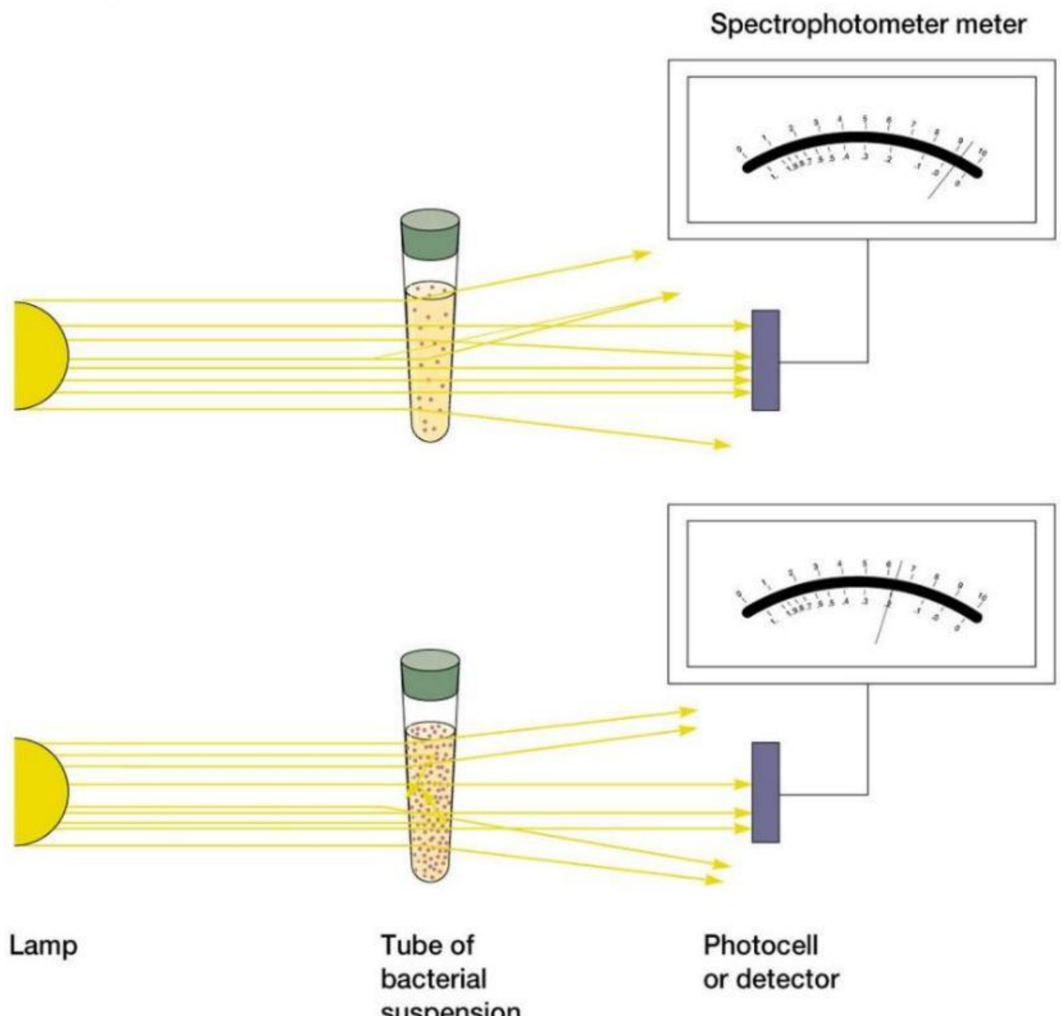


Figure 6.8

Μεταβολή Οπτικής Πυκνότητας

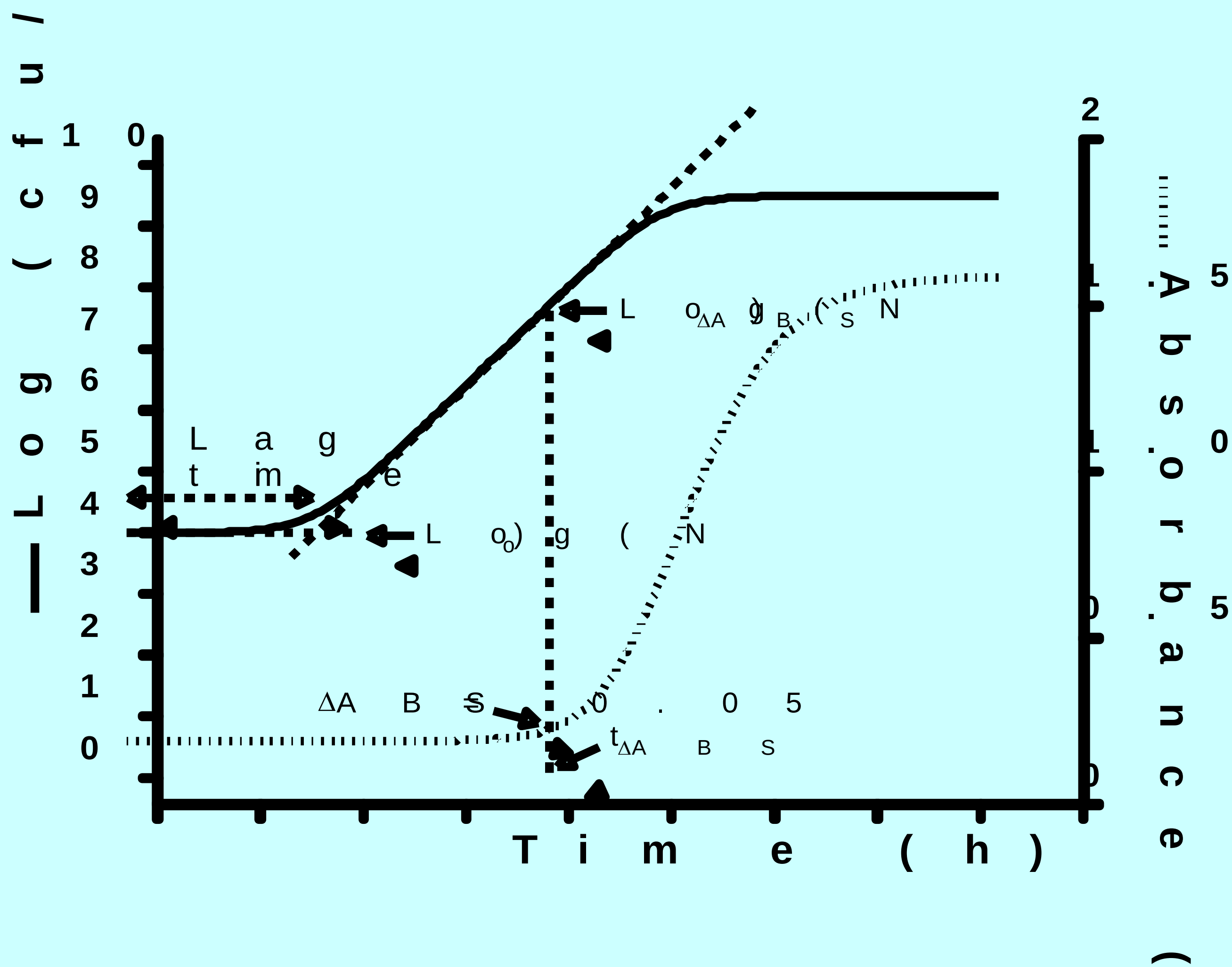
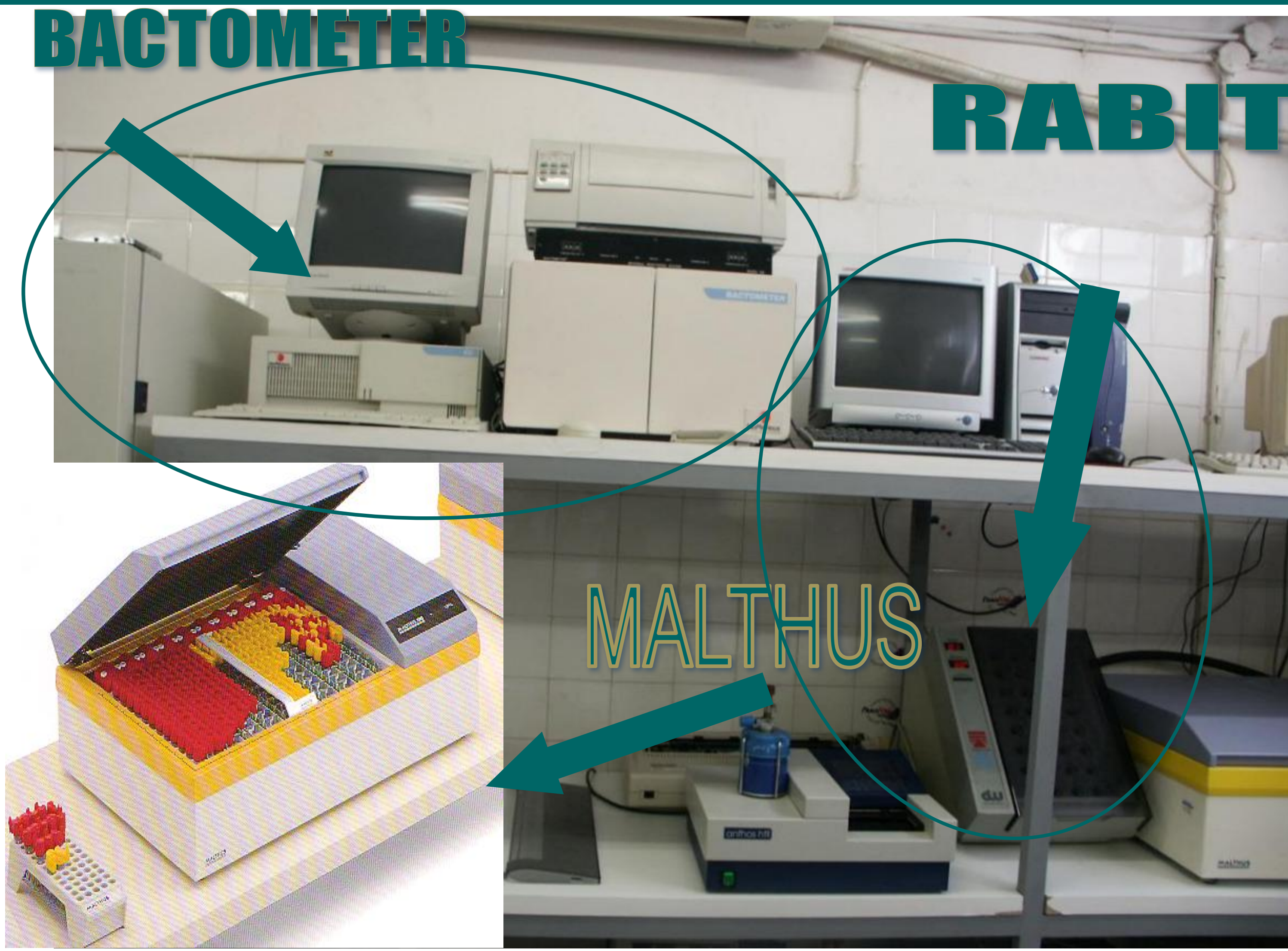


Fig. 1

Οργανα για Μετρηση της Μεταβολης της Ηλεκτρικης Αγωγιμοτητας



Πλεονεκτήματα Μεθόδου

Πλεονεκτήματα:

1. Ταχύτητα
2. Μειωμένο κόστος ελέγχου
3. Χαμηλές απαιτήσεις σε υλικά και εργασία
4. Δυνατότητα αυτοματοποίησης
5. Ακρίβεια και αξιοπιστία
6. Επαναληψιμότητα
7. Δυνατότητα ελέγχου μεγάλου αριθμού δειγμάτων
8. Δυνατότητα άμεσης ανάλυσης δειγμάτων

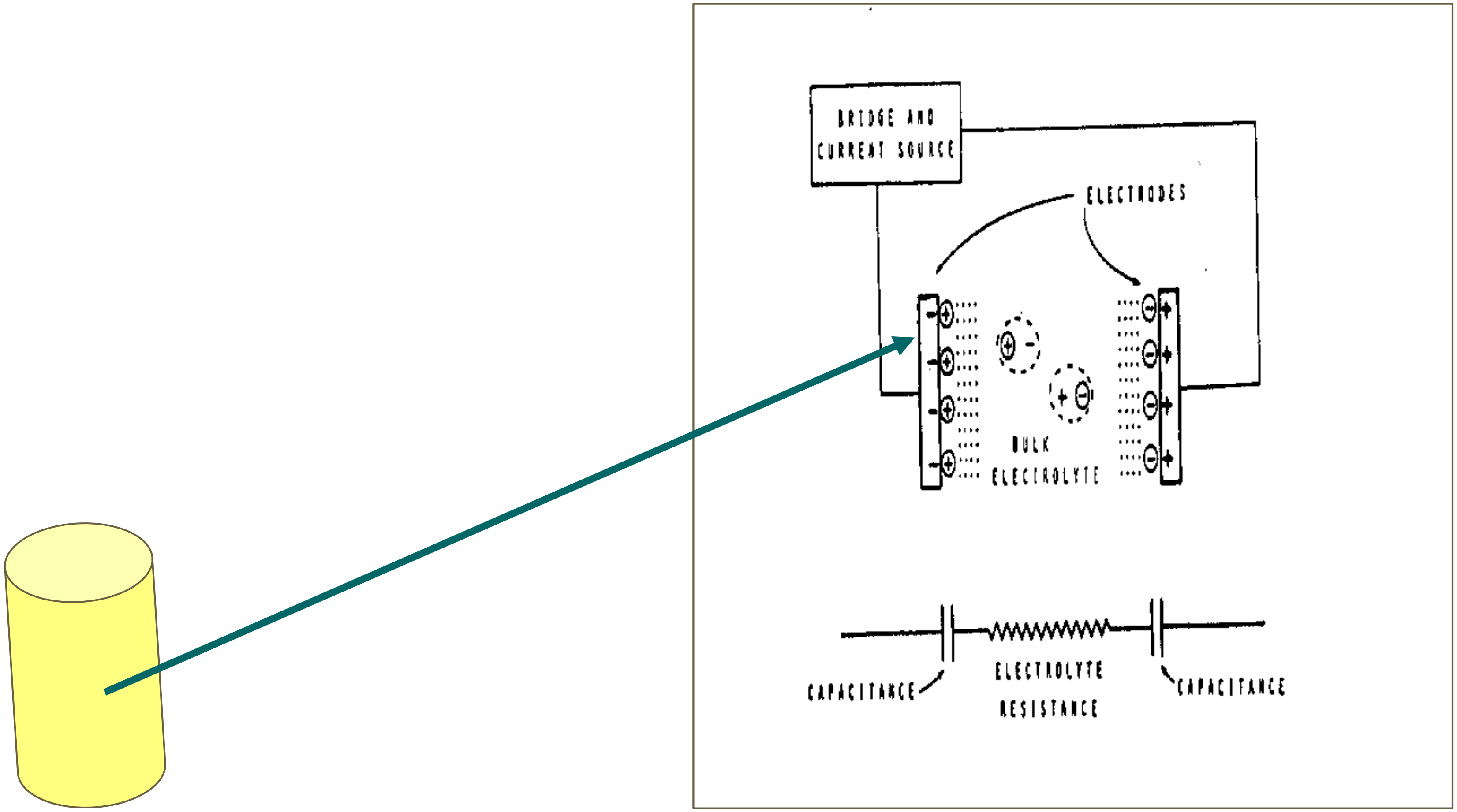
Μειονεκτήματα Μεθόδου

Μειονεκτήματα:

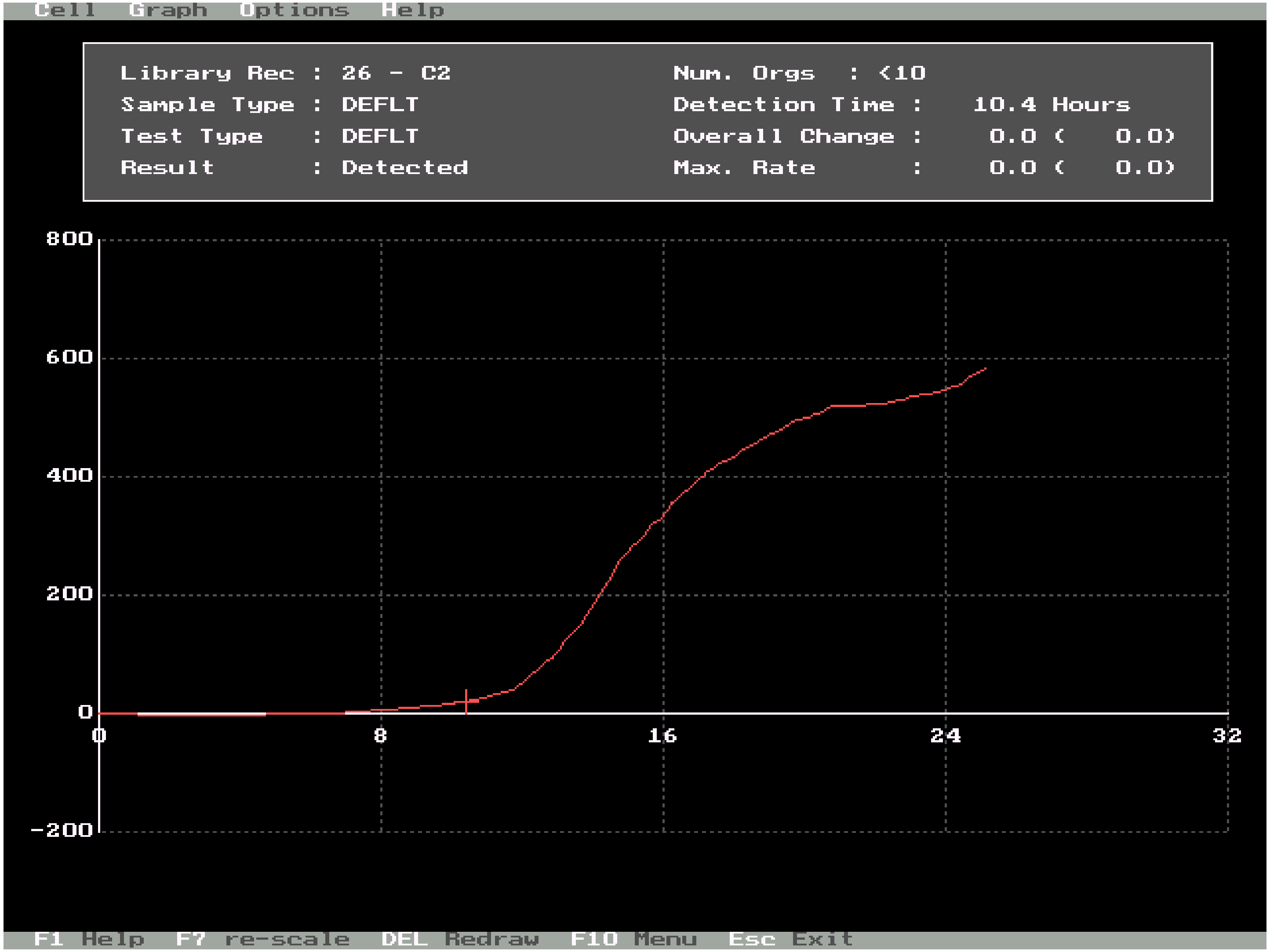
1. Υψκλό κόστος αγοράς
2. Απαίτηση σε εξειδικευμένο προσωπικό
3. Αδυναμία εφαρμογής σε όλες τις κατηγορίες μικροοργανισμών

Κυψελίδα Οργάνου Malthus

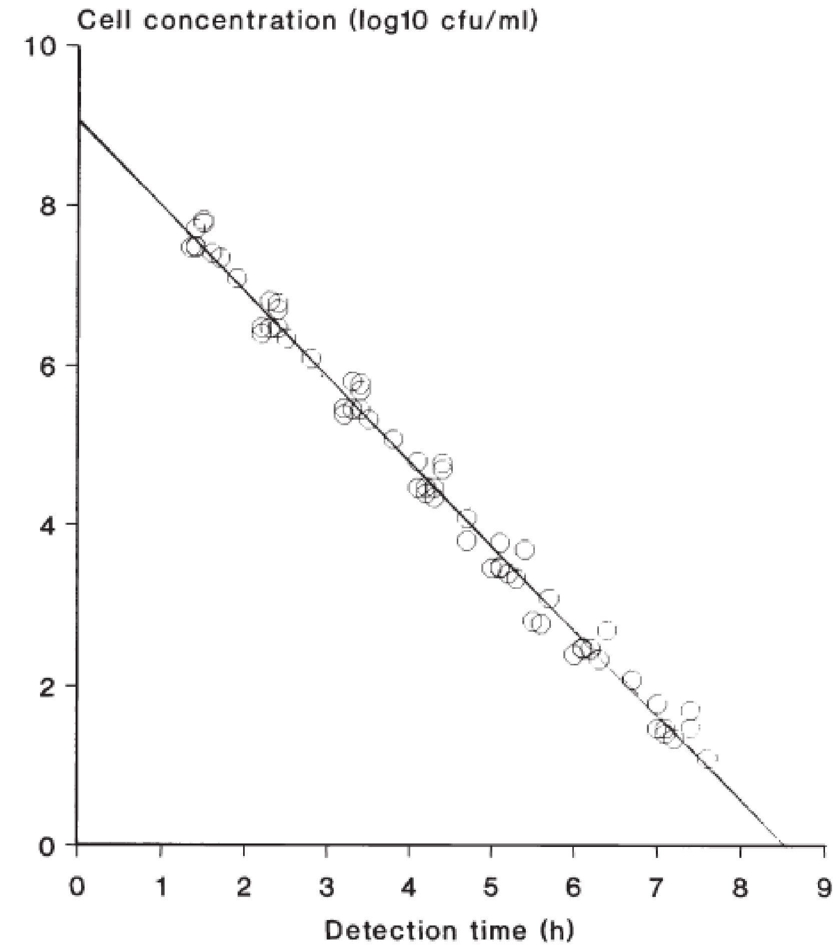
Αρχή Λειτουργίας Malthus



Μεταβολή Ηλεκτρικής Αγωγιμότητας



Καμπύλη Συσχέτισης Χρόνου Προσ-διορισμού Βακτηριακού Πληθυσμού



.3 *A calibration curve for* Salmonella *Enteritidis using a Bactometer*

Παράγοντες που Επηρεάζουν 1/2

το αποτέλεσμα της μεθόδου μέτρησης αγωγιμότητας.

Το θρεπτικό μέσο

I. θρεπτικά υλικά με χαμηλή αρχική ιοντική ισχύ επιτρέπουν μικρές μεταβολές αγωγιμότητας κατά τη διάρκεια της μικροβιακής ανάπτυξης,
II. η ανεπάρκεια θρεπτικών υλικών στα μέσα ανάπτυξης δυσχεραίνει την μικροβιακή ανάπτυξη και καθυστερεί τη λήψη χρόνου προσδιορισμού.

Παράγοντες που Επηρεάζουν 2/2

το αποτέλεσμα της μεθόδου μέτρησης αγωγιμότητας.

Οι ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες του υποστρώματος (θερμοκρασία, pH, aw, συντηρητικά κά)

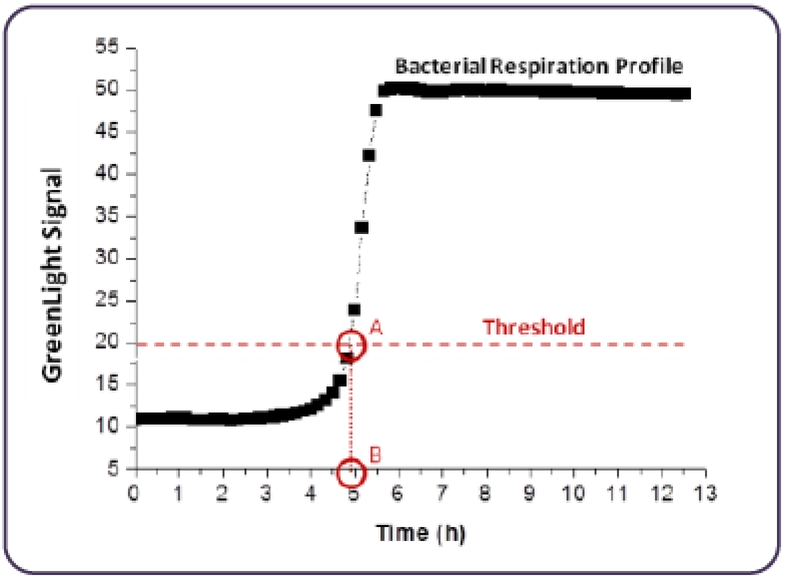
επηρεάζουν τις κινητικές παραμέτρους ανάπτυξης των μικροοργανισμών, όπως ο χρόνος γενεάς καθορίζει εμμέσως και το χρόνο προσδιορισμού

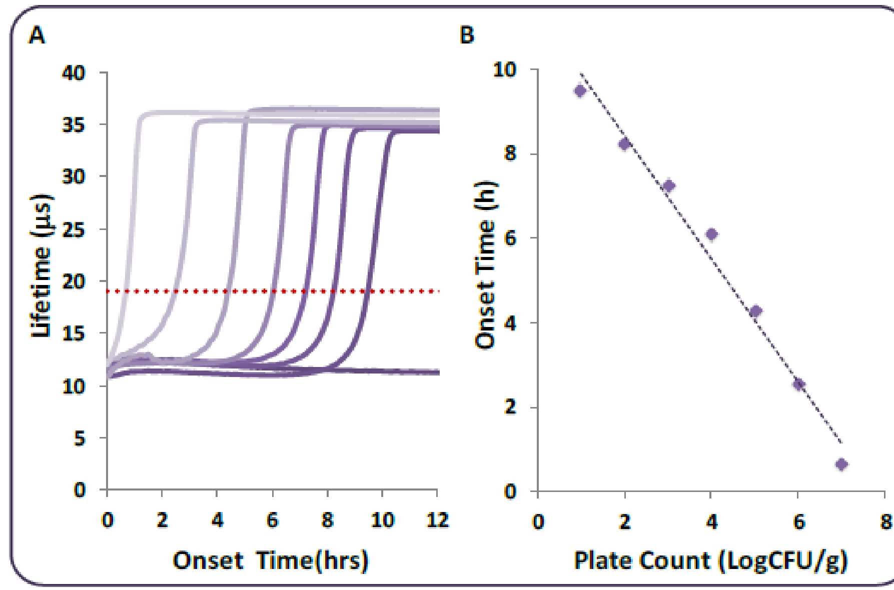
Ο μικροοργανισμός

Pseudomonas sp.> Enterobacteriaceae > LAB

Προσδιορισμός Μικροβιακού Φορτίου 1/2

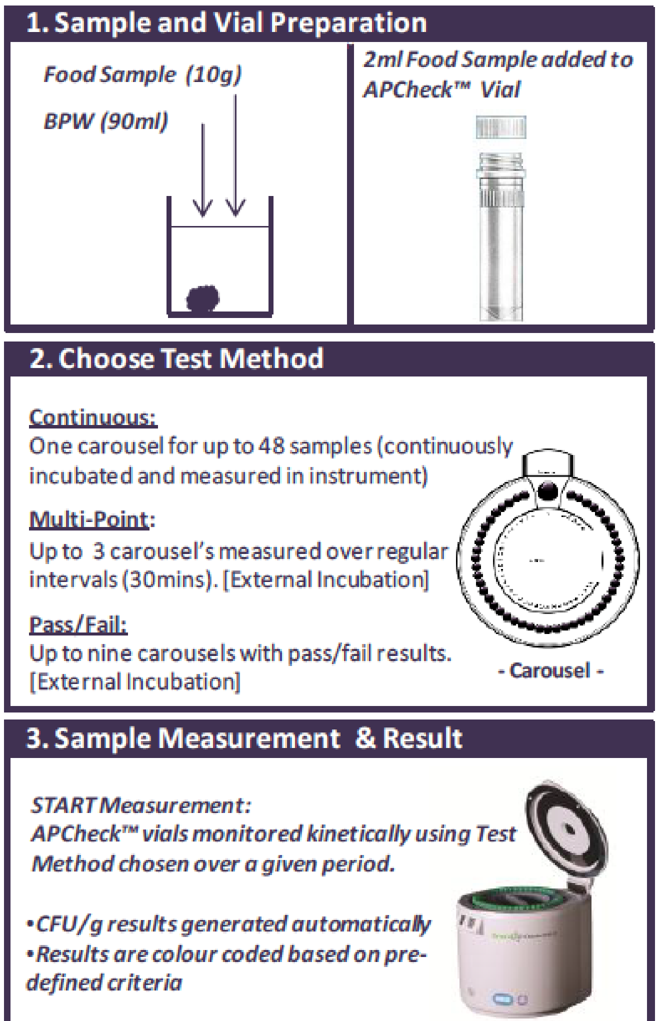
αερόβιων βακτηρίων με βάση την αναπνευστική τους δραστηριότητα.





Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την απαρίθμηση αερόβιων βακτηρίων μέσω της κατανάλωσης του O_2 στο μέσο ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Ο χρόνος που απαιτείται για τη μείωση του O_2 σε μια προκαθορισμένη τιμή χρησιμοποιείται για να υπολογιστεί ο πληθυσμός σε CFU/g ή ml με τη χρήση μιας γραμμής βαθμονόμησης.

Προσδιορισμός Μικροβιακού Φορτίου 2/2



αερόβιων βακτηρίων με βάση την αναπνευστική τους δραστηριότητα.

Table 1: *Relationship between bacterial load and time-to-result*

Log CFU/g	≥ 7	≥ 6	≥ 5	≥ 4	≥ 3	≥ 2	≥ 1
Onset time (hrs)	0 - 1.3	1.4 - 3.5	3.6 - 5.7	5.8 - 7.9	8.0 - 10.1	10.2 - 12.3	12.4 - 14.5

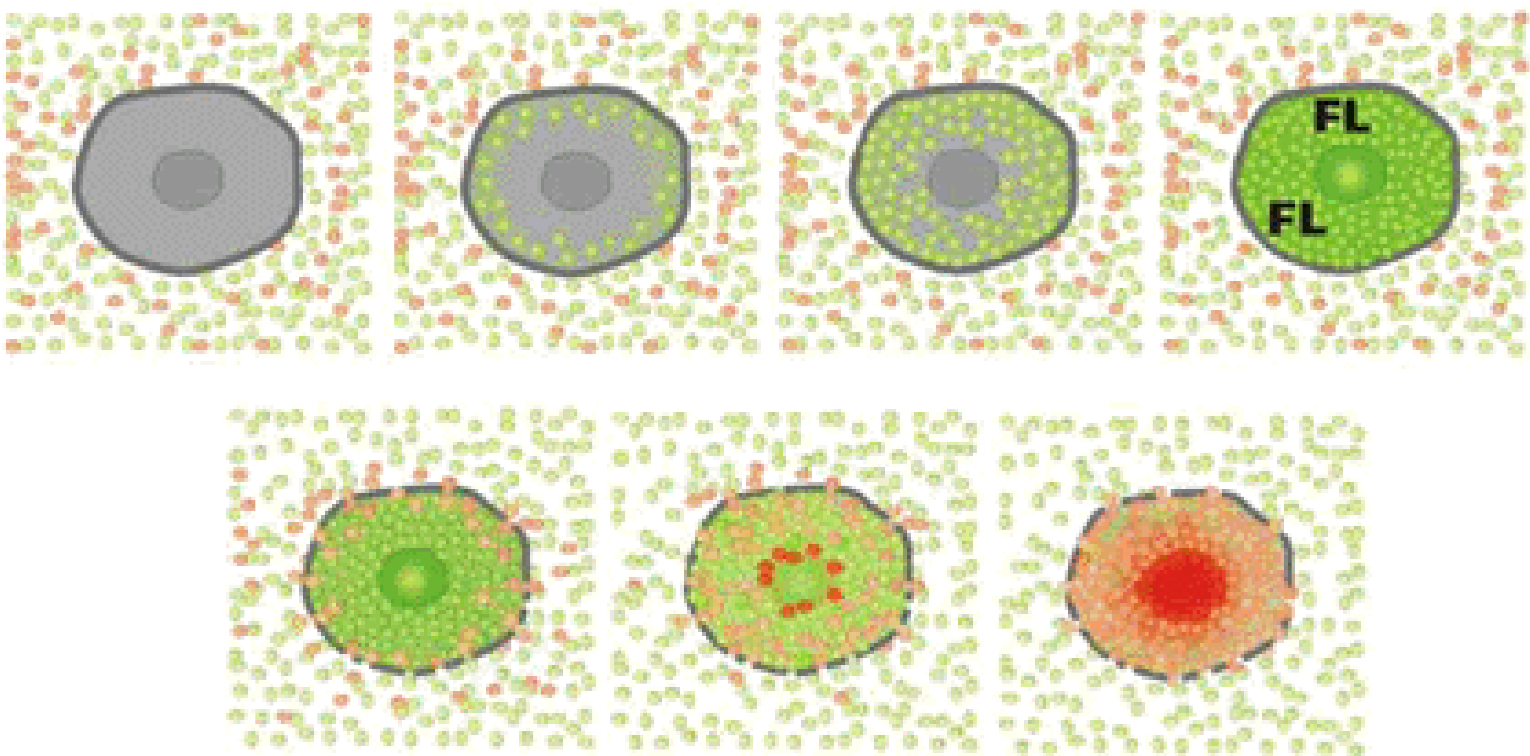
Direct Epifluorescence Filter Technique (DEFT)

- Η μέθοδος χρησιμοποιεί φθορίζουσες χρωστικές οι οποίες «βάφουν» το DNA ή το RNA των κυττάρων.
- Ακολουθεί μικροσκοπική παρατήρηση κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία.
- Η κυριότερη χρωστική είναι το πορτοκαλόχρουν της ακριδίνης (acridine orange) το οποίο όταν «βάφει» το DNA δίνει πράσινο χρώμα, ενώ όταν «βάφει» το RNA δίνει πορτοκαλί χρώμα.
- Άλλες χρωστικές που χρησιμοποιούνται είναι το Ethidium bromide και το propidium iodide. Οι δύο χρωστικές «βάφουν» τα νουκλεικά οξέα.

FDA (Fluorescein diacetate)
PI (Propidium iodide)

Intact cell –
PI and FDA is added

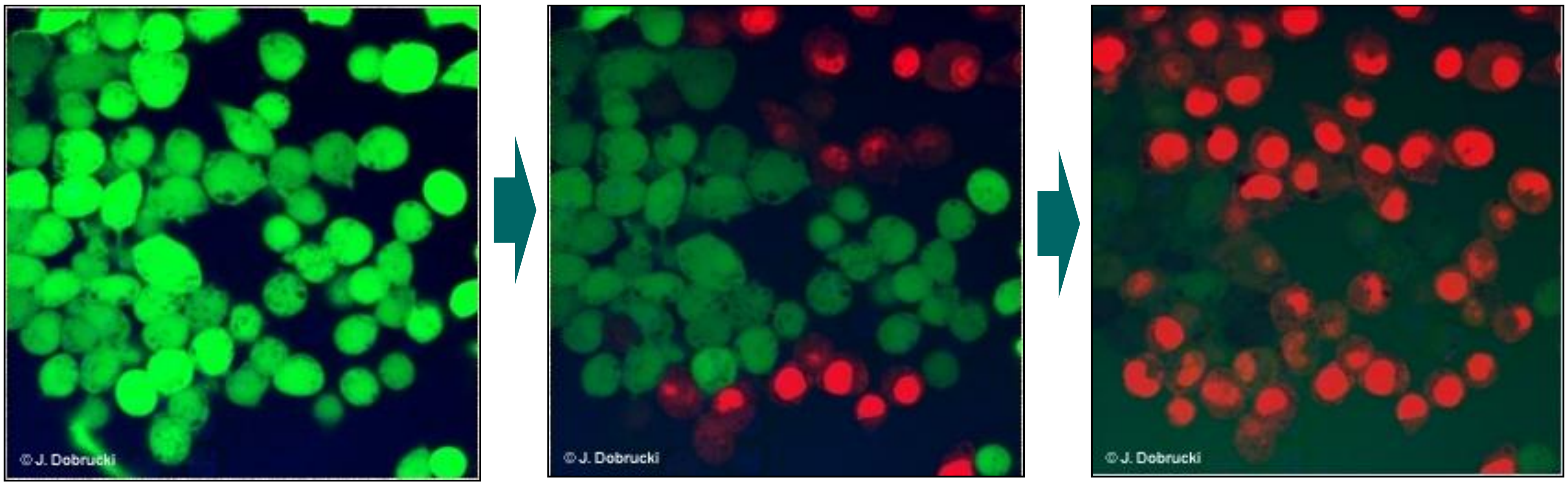
Fluorescein in
intact cells



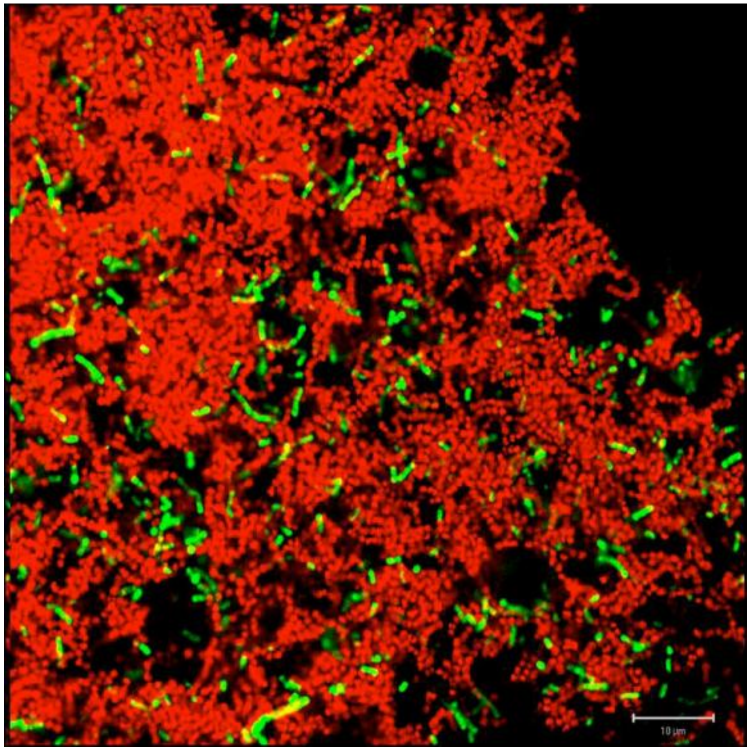
Membrane is damaged, fluorescein leaks out

PI enters and strains
nucleic acids

Παράδειγμα Μεταβολής Φθορισμού σε Βακτηριακά Κύτταρα

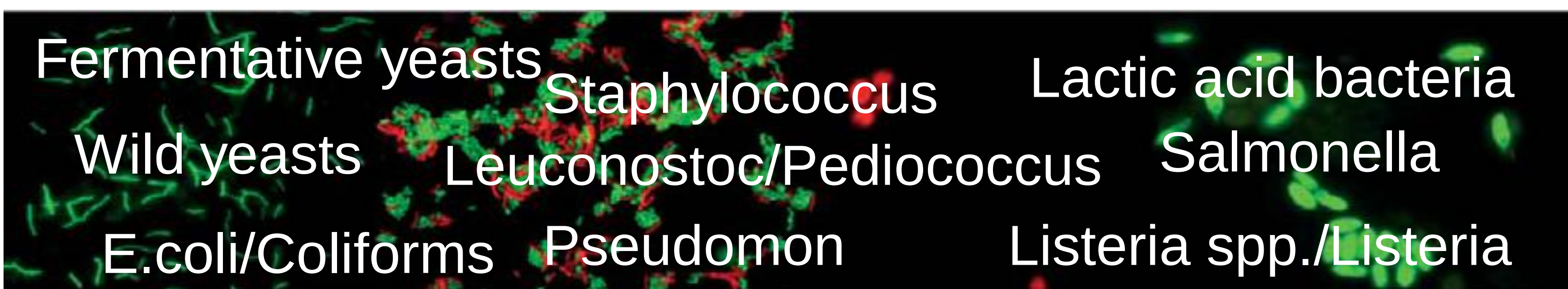


Μοριακές Μέθοδοι Απαρίθμησης Βακτηρίων 1/2

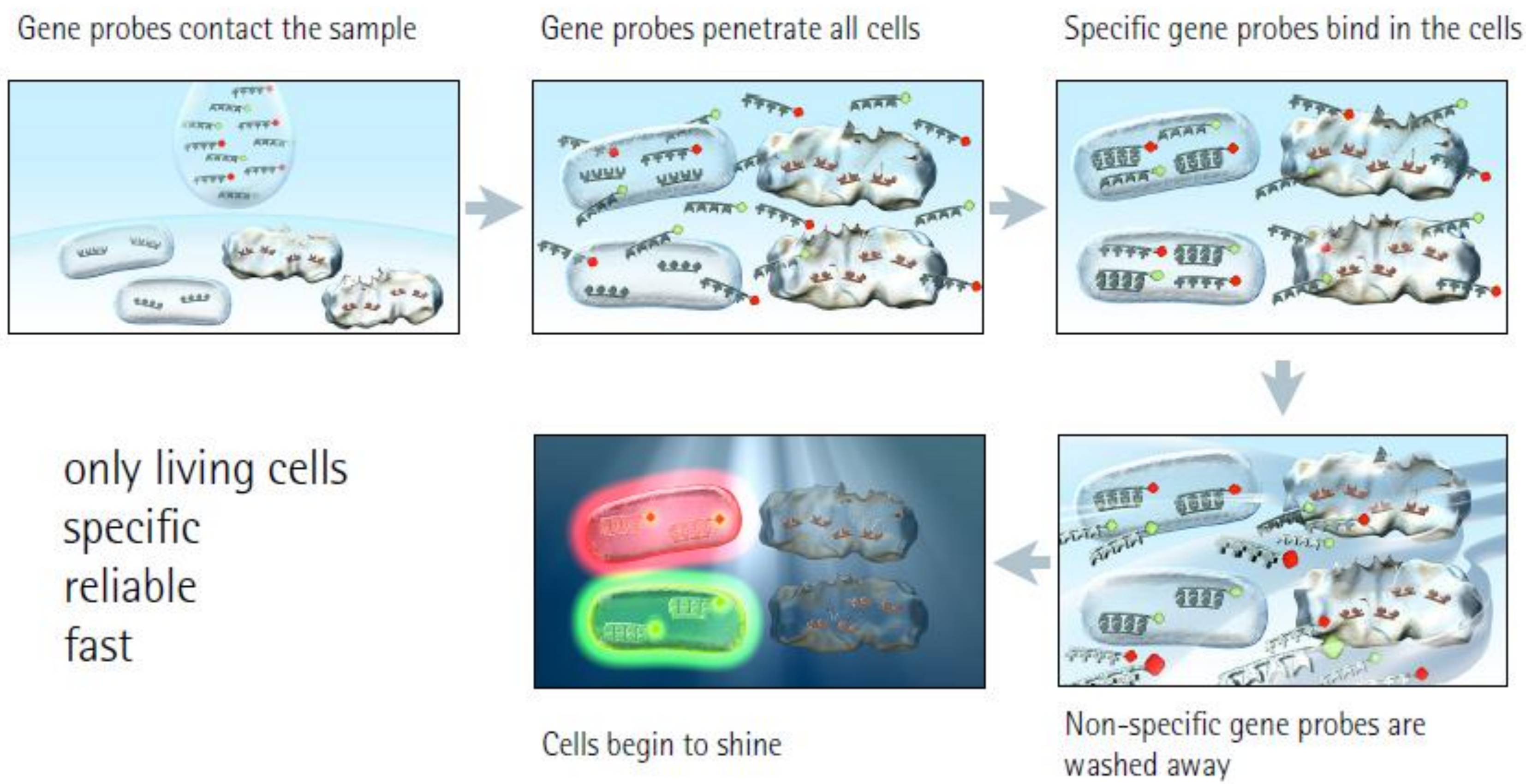


Ανιχνεύστε και δείτε τα μικρόβια που δημιουργούν το πρόβλημα.

Μοριακές Μέθοδοι Απαρίθμησης Βακτηρίων 2/2



VIT® Vermicon Identification Technology

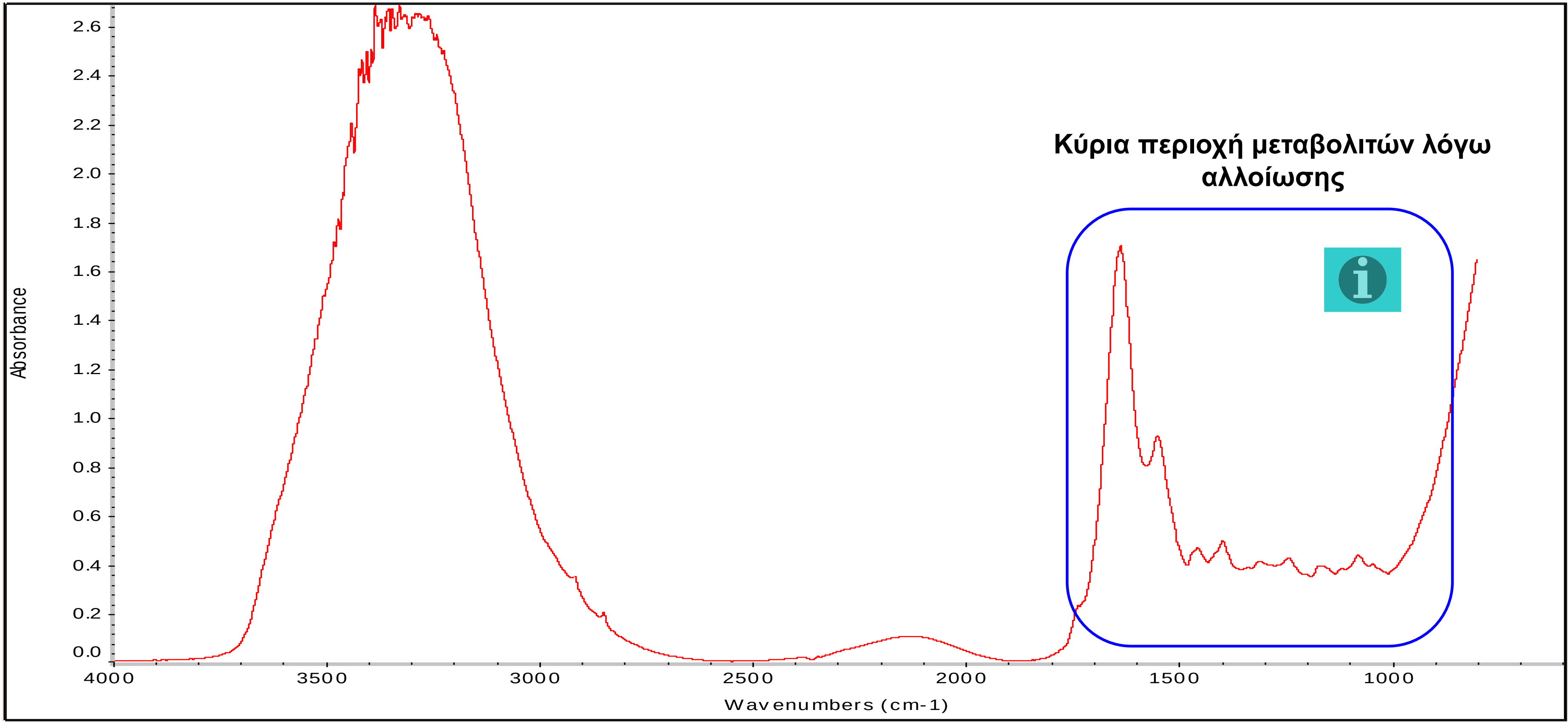


- only living cells
- specific
- reliable
- fast

Εφαρμογή Ταχέων Αναλυτικών Ενόργανων Τεχνικών

για τον προσδιορισμό του μικροβιακού φορτίου

Τυπικό Φάσμα FTIR 1/2



Χαρακτηριστικές ομάδες

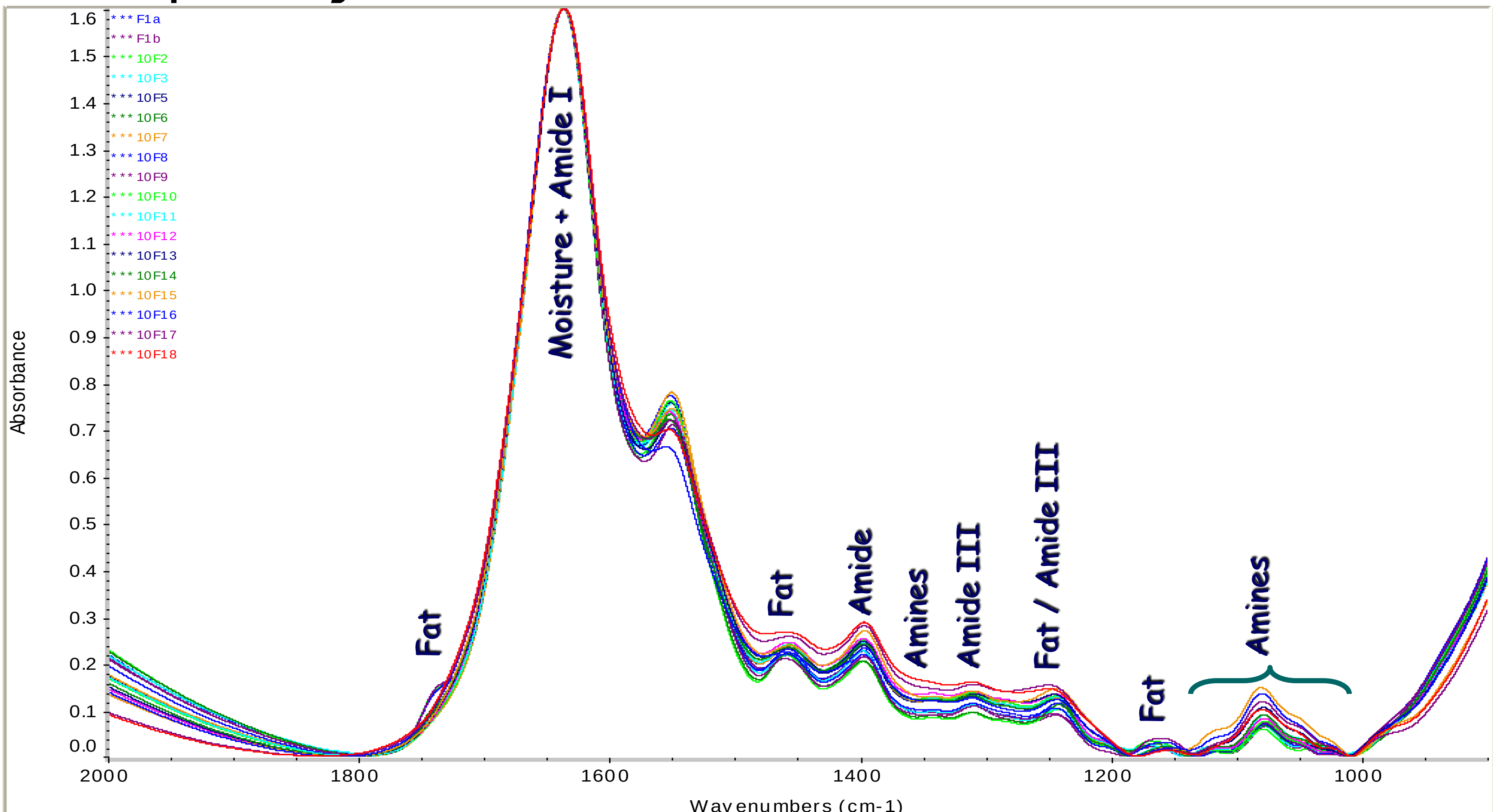
(4000 – 1400 cm^{-1})

Περιοχή αποτυπωμάτων

(1400 - 600 cm^{-1})

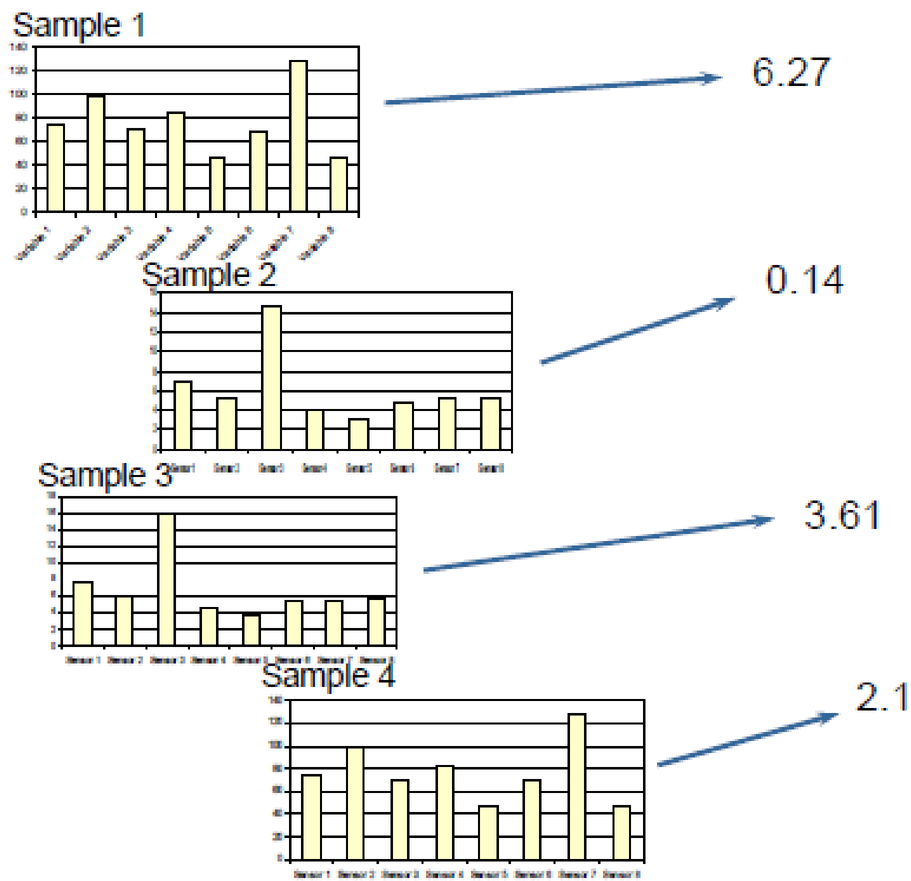
Τυπικό Φάσμα FTIR 2/2

στην περιοχή 1800 to 1000 cm^{-1} από δείγματα φιλέτων βοείου κρέατος.



Πολυμεταβλητή Ανάλυση

- Aim is to produce a generic link between observations and values.

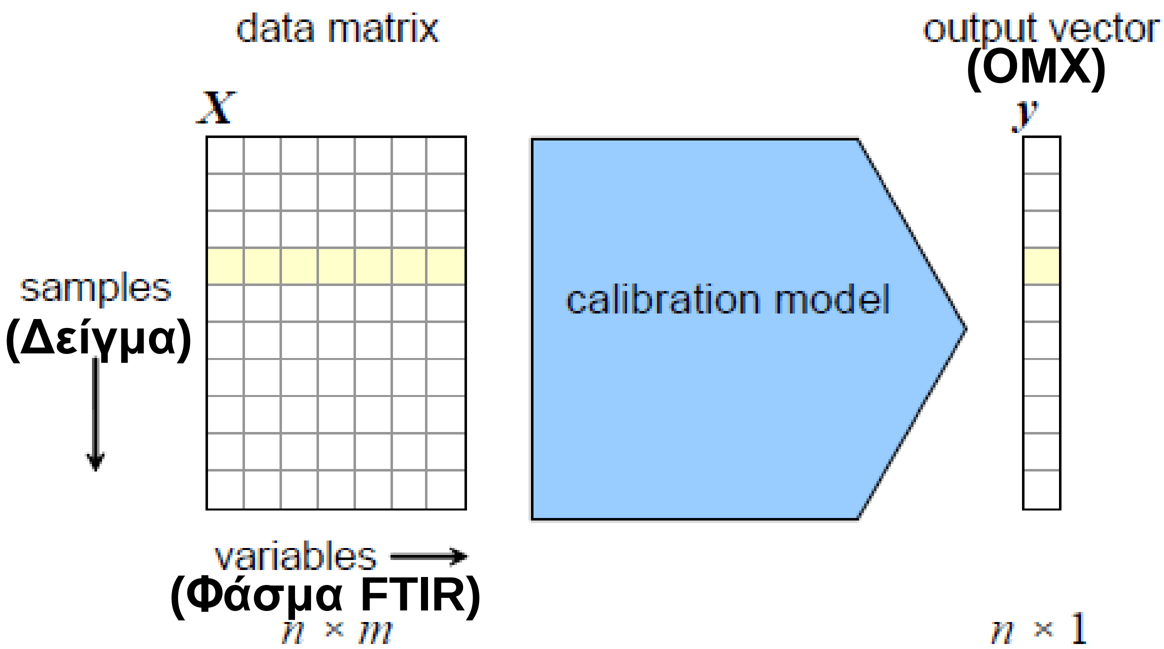


e.g.

Concentration of a particular analyte.

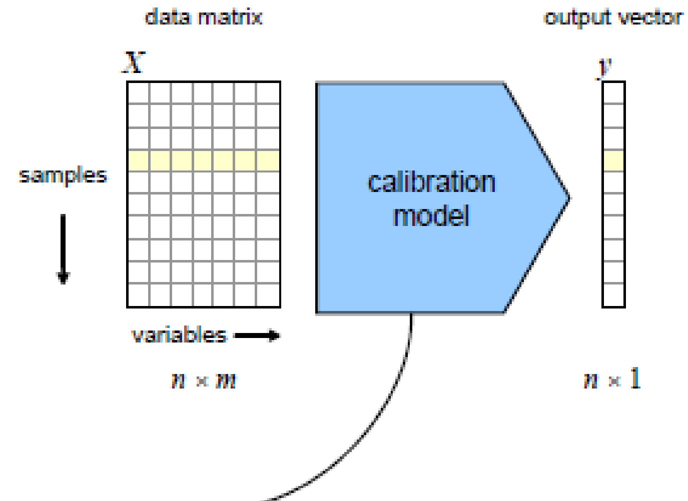
Some kind of quality index.

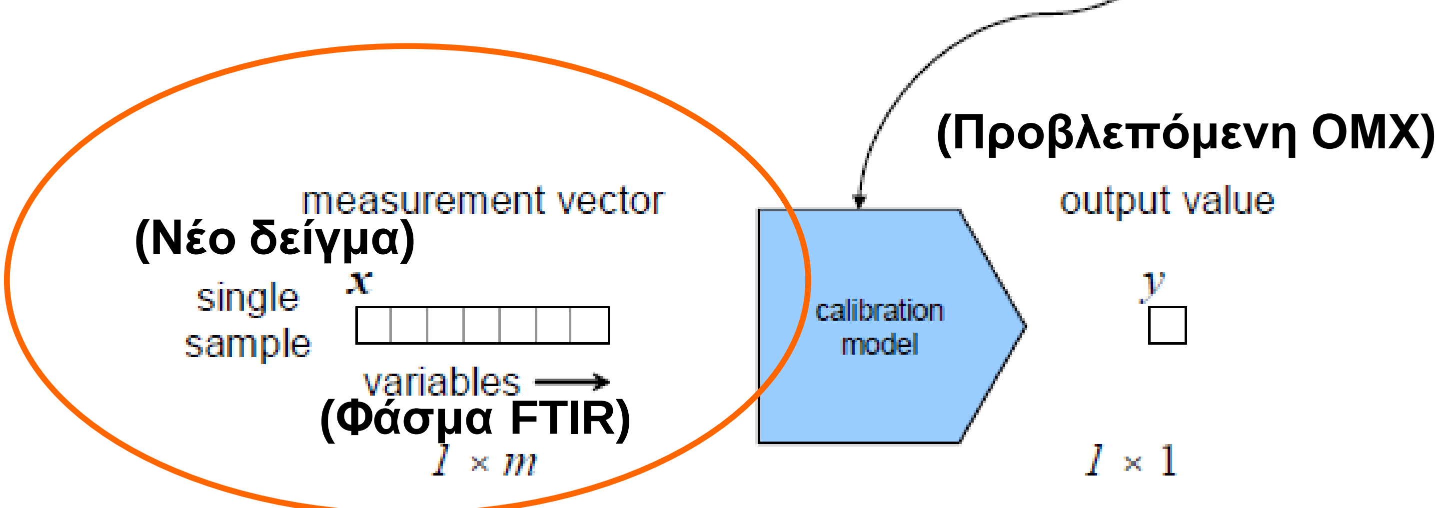
Ανάπτυξη Μοντέλου (Συσχέτιση Φάσματος με ΟΜΧ)



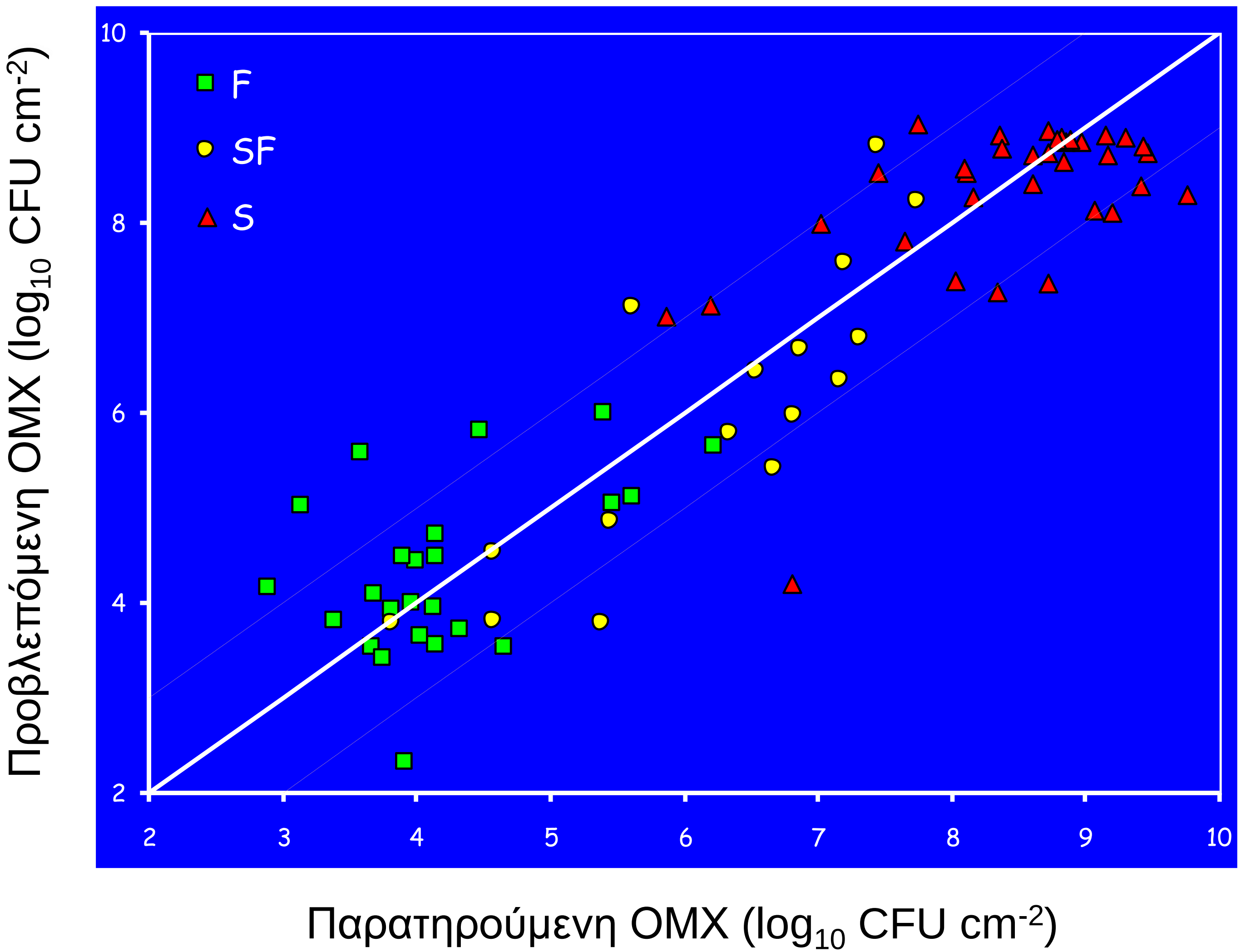
Επικύρωση Μοντέλου-Πρόβλεψη ΟΜΧ Τυχαίου Δείγματος από το Φάσμα του

- Once we've built a calibration model from known data, we can apply it to newly acquired data.





Συσχέτιση Μεταξύ Προβλεπόμενης και Παρατηρούμενης ΟΜΧ



Βιβλιογραφία

- Νυχάς, Γ.Ι. Σημειώσεις στη Μικροβιολογία Τροφίμων. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Martin R. Adams and Maurice O. Moss (2008) Food Microbiology, 3rd Edition, RSC Publishing, London, UK.
- Jay, J.M. (2000) Modern Food Microbiology, 6th Edition, Aspen Publishers, Maryland, USA.

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.

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2015. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Ευστάθιος Πανάγου/ Πασχαλίτσα Τρυφινοπούλου/ Αναστάσιος Σταματίου, «Μικροβιολογία Τροφίμων Ι Εργαστήριο». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: https://mediasrv.aua.gr/eclass/

Σημείωμα Αδειοδότησης

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

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

[3] http://freedomdefined.org/Definition/El

[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.