

‘Μικροβιακή αλλοίωση και προσδιορισμός ποιότητας και εμπορικού χρόνου ζωής της νωπής τσιπούρας με την εφαρμογή μοντέρνων μοριακών και αναλυτικών μεθόδων’

(ΑγροΕΤΑΚ/ΚΥΠΕ 3522/180)

Δρ. Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη
Μικροβιολόγος Τροφίμων
(parla.fay@hotmail.com)

Σκοπός

Η παραγωγή κατάλληλης γνώσης η οποία θα διαχθεί προς την παραγωγική βάση και θα αφορά τις κατάλληλες μεταχειρίσεις/συνθήκες αποθήκευσης και διανομής των αλιευμάτων έτσι ώστε να παρέχει ποιοτικότερα αλιευτικά προϊόντα και με μεγαλύτερο εμπορικό χρόνο ζωής.

Τα παραπάνω θα πραγματοποιηθούν με τη συστηματική ολοκλήρωση των παρακάτω στόχων:

- ✓ Προσδιορισμό της αρχικής και αλλοιωγόνου μικροβιακής ποικιλότητας και αφθονίας, με έμφαση στους Ειδικούς Αλλοιωγόνους Μικροοργανισμούς (ΕΑΜ), των αλιευτικών προϊόντων υπό μικρές μεταβολές στη θερμοκρασία συντήρησης και διακίνησης
- ✓ Ποσοτικοποίηση των παραγόμενων μεταβολικών προϊόντων των ΕΑΜ και συσχέτιση αυτών με την ποιότητα και τον εναπομένοντα εμπορικό χρόνο ζωής του προϊόντος
- ✓ Εφαρμογή του καταλληλότερου συστήματος συντήρησης στην αλιευτική παραγωγική αλυσίδα.

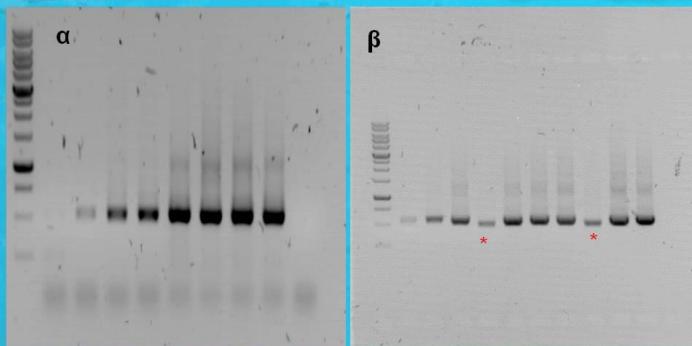
Γενική Μεθοδολογία

Ολόκληροι ιχθύες τσιπούρας από ελληνικές υδατοκαλλιέργειες του Ιονίου και του Αιγαίου αποθηκεύθηκαν στους 0 (πάγος), 4 και 8οC. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα πραγματοποιούνταν τα εξής:

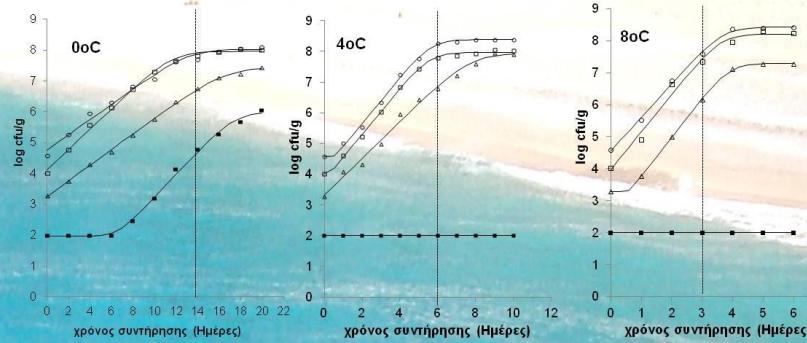
-Οργανοληπτική αξιολόγηση
-Μικροβιολογική ανάλυση & υπολογισμός κινητικών παραμέτρων

❖ Δείγματα σάρκας 25 g στην αρχή και στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής (για κάθε θερμοκρασία) των ιχθύων χρησιμοποιήθηκαν για μεταγονιδιωματική ανάλυση (Next Generation Sequencing-Illumina) για τη διερεύνηση της μικροβιακής ποικιλότητας και αφθονίας, με έμφαση στους ΕΑΜ.

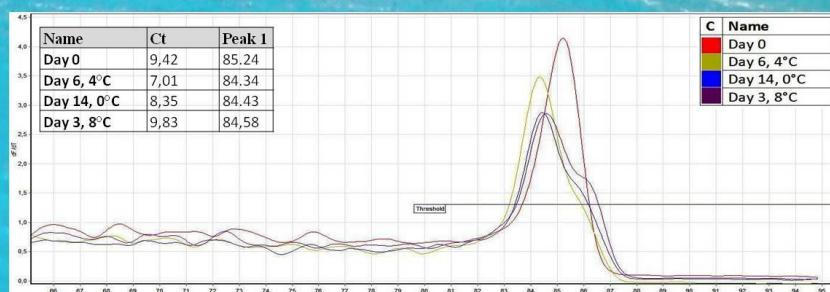
❖ Ποιοτικός & ποσοτικός προσδιορισμός μεταβολικών προϊόντων των βακτηρίων με αέρια χρωματογραφία- φασματοσκοπία μάζας (GC-MS)



Εικόνα 3 PCR προϊόντα (αλληλουχίες γονιδίου 16S rRNA) πριν (α) και μετά (β) το καθαρισμό των παραπράσινων με το 'Index PCR clean up with beads' της Illumina καθώς και μετά (β) την Index PCR για τη δημιουργία βιβλιοθήκης για MiSeq (μεταγονιδιωματική ανάλυση με NGS-Illumina), του βακτηριακού DNA από ιχθύες τσιπούρας στην αρχή (Day 0) και στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής τους υπό συντήρηση στους 0, 4 και 8οC. * Προϊόντα μετά τον καθαρισμό και πριν την Index PCR



Εικόνα 1. Πληθυμιακές μεταβολές των μικροοργανισμών σε ιχθύες τσιπούρας (για n=3 επαναλήψεις), κατά τη διάρκεια της συντήρησης στους 0, 4 και 8οC. Τα σημεία αντιστοιχούν στα δεδομένα που προέκυψαν από την απαριθμηση των μικροοργανισμών, ενώ οι καμπύλες στην προσαρμογή των μετρήσεων με τη χρήση του πρωτογενούς μοντέλου Baranyi (Baranyi & Roberts 1994). Οικικός πληθυμός (○), *Pseudomonas* spp. (□), βακτήρια που παράγουν H2S (Δ), *B. thermosphacta* (■). Η κάθετη διακεκομένη γραμμή δείχνει τον χρόνο οργανοληπτικής απόρριψης των ιχθύων.



Εικόνα 2. Μελέτη των καμπυλών τήξης (Melting curves) των προϊόντων (αλληλουχίες του γονιδίου 16S rRNA) με Real-Time PCR, μετά την απομόνωση του βακτηριακού DNA από ιχθύες τσιπούρας στην αρχή (Day 0) και στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής τους υπό συντήρηση στους 0, 4 και 8οC.

Συμπεράσματα

Οι μικρές μεταβολές στη θερμοκρασία συντήρησης προκάλεσαν

➢ δραματική αύξηση του ρυθμού αύξησης των κυρίαρχων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών με αποτέλεσμα την απόρριψη του αλιευτικού προϊόντος πολύ νωρίτερα σε σχέση με τον χρόνο απόρριψης στον πάγο.

Τα *Pseudomonas* spp. και τα υδροθειούχα βακτήρια αποτέλεσαν τους κυρίαρχους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς στο τέλος του εμπορικού χρόνου ζωής των ιχθύων από τις υδατοκαλλιέργειες του Αιγαίου και του Ιονίου.

Τα είδη των μικροοργανισμών που επικρατούν κατά την αλλοίωση των ιχθύων στις τρεις θερμοκρασίες συντήρησης (0, 4 και 8οC) και συγκεκριμένα των ΕΑΜ, τόσο για τους ιχθύες του Αιγαίου όσο και του Ιονίου, θα είναι γνωστά μετά την ολοκλήρωση της μεταγονιδιωματικής ανάλυσης.

Η διερεύνηση της εφαρμογής ενός ορθότερου συστήματος συντήρησης στα πρώτα στάδια της παραγωγικής αλυσίδας είναι πρωτεύοντος σημασίας για την παραγωγή και διάθεση υγιεινών και ποιοτικών αλιευτικών προϊόντων.

Ευχαριστίες

Το έργο εντάσσεται στην Πράξη «Εκπόνηση σχεδίων Ερευνητικών & Τεχνολογικών Αναπτυξιακών Έργων Καινοτομίας (ΑγροΕΤΑΚ) MIS 453350, στο πλαίσιο του ΕΠ «ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ, (ΕΠΑΝΑΔ, ΕΣΠΑ 2007-2013). Το έργο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και από Εθνικούς πόρους (ΕΣΠΑ 2007-2014), το οποίο συντονίζεται από το ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, ΙΝΑΛΕ Καβάλα/Υπεύθυνος Παρακολούθησης Δρ Γρηγόρης Κρέη

