



**VILNIAUS UNIVERSITETAS**

**GAMTOS MOKSLŲ FAKULTETAS**

Mikrobiologijos ir biotechnologijos katedra

Dieninių studijų skyriaus

II kurso mikrobiologijos studentė

**Eglė Paškevičiūtė**

**GRAM TEIGIAMŲ MAISTO PATOGENŲ  
FOTOSENSIBILIZACIJA MAISTO MATRICOSE**

Magistro studijų baigiamasis darbas

Magistrinio darbo vadovė:

Habil. dr. Živilė LUKŠIENĖ

Vilnius

2009

# TURINYS

Sutrumpinimų sąrašas .....	4
<b>IVADAS</b> .....	5
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA</b> .....	7
1.1. Maisto produktų saugos problemos .....	7
1.1.1. <i>Listeria monocytogenes</i> ir listeriozė .....	8
1.1.2. <i>Bacillus cereus</i> ir jo sukeltos infekcijos .....	9
1.2. Naujos technologijos maisto produktų saugai .....	10
1.2.1. Jonizuojanti spinduliuotė .....	10
1.2.2. Ultragaras .....	11
1.2.3. Impulsinis elektrinis laukas .....	12
1.2.4. Aukštas hidrostatinis slėgis .....	13
1.2.5. Galinga impulsinė šviesa .....	14
1.3. Fotosensibilizacija .....	15
1.3.1. Fotosensibilizacijos indukuotos reakcijos .....	15
1.3.2. Pažeidimų pobūdis .....	16
1.3.3. Bakterijų jautrumas fotosensibilizacijai .....	17
1.3.4. Fotosensibilizatoriai.....	19
1.3.5 Šviesos šaltiniai fotosensibilizacijoje.....	21
<b>2. EKSPERIMENTINĖ DALIS</b> .....	22
2.1. Tyrimo objektai .....	22
2.2. Reagentai .....	22
2.3. Terpės ir tirpalai .....	22
2.4. Darbo metodikos .....	23
2.4.1. Bakterijų auginimas ir suspensijų paruošimas.....	23
2.4.2. <i>Bacillus cereus</i> ATCC 12826 sporų suspensijos paruošimas .....	24
2.4.3. Pakuočių paruošimas ir inokuliacija .....	24
2.4.4. <i>Listeria monocytogenes</i> ATC <sub>L3</sub> C 7644 bioplėvelių auginimas ant pakuočių paviršiaus .....	25
2.4.5. Maisto matricų paruošimas ir inokuliacija .....	25

2.4.6. Inkubavimas su fotosensibilizatoriumi .....	26
2.4.7. Apšvita .....	26
2.4.8. Gyvybingumo nustatymas .....	26
<b>3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....</b>	<b>28</b>
3.1. <i>Listeria monocytogenes</i> ATC <sub>L3</sub> C 7644 inaktyvacija <i>in vitro</i> .....	28
3.2. <i>Bacillus cereus</i> ATCC 12826 inaktyvacija <i>in vitro</i> .....	30
3.3 <i>Bacillus cereus</i> ATCC 12826 sporų inaktyvacija.....	31
3.4 <i>Listeria monocytogenes</i> ATC <sub>L3</sub> C 7644 bioplėvelių inaktyvacija ant pakuočių paviršiaus .....	33
3.5 <i>Bacillus cereus</i> ATCC 12826 adhezija ant maisto matricų ir fotoinaktyvacijos efektyvumas .....	35
3.6. <i>Listeria monocytogenes</i> ATC <sub>L3</sub> C 7644 adhezija ant maisto matricų ir fotoinaktyvacijos efektyvumas .....	41
<b>4. IŠVADOS .....</b>	<b>42</b>
<b>SANTRAUKA .....</b>	<b>43</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>44</b>
<b>PADĖKA .....</b>	<b>45</b>
<b>LITERATŪROS SĄRAŠAS .....</b>	<b>46</b>

## Sutrumpinimų sąrašas

IR – jonizuojanti spinduliuotė (angl. ionizing radiation)  
HHP – aukštas hidrostatinis slėgis (angl. high hydrostatic pressure)  
PEF – impulsinis elektrinis laukas (angl. pulsed electric field)  
kfv/ml – kolonijas formuojančių vienetų skaičius mililitre  
aps/min – apsisukimai per minutę  
Gram (+) – Gram teigiamas  
Gram (-) – Gram neigiamas  
ALA – aminolevulininė rūgštis (angl. aminolevulinic acid)  
Pp IX – protoporfirinogenas  
PMBN – polikatijoninis peptidas polimiksinas B  
LPS – lipopolisacharidas  
LTR – lipoteicho rūgštis  
EDTA – etilendiaminotetraacetatas  
Tyr – tirozinas  
Met - metioninas  
His - histidinas  
Mg – magnis  
Zn – cinkas  
Cu – varis  
Na<sup>+</sup> - natrio jonai  
K<sup>+</sup> - kalio jonai  
O<sub>2</sub><sup>-</sup> - superoksido radikalas  
HO• - hidroksido radikalas  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – vandenilio peroksidas  
<sup>1</sup>O<sub>2</sub> – singletinis deguonis  
OT – optinis tankis  
LB - Luria Bertani terpė  
LBA - Luria Bertani Agar terpė

## IVADAS

Maistas yra esminė pasaulio kultūros ir civilizacijos dalis, turinti didžiulę reikšmę tiek ekonomikai, tiek visuomenės sveikatos apsaugai. Atvirame ir globalizuotame pasaulyje svarbu garantuoti, kad gyventojai būtų užtikrinti, jog jų vartojami maisto produktai yra saugūs. Maisto saugumo problema tampa vis aktualesnė dėl vis gausesnio svetimų gamtai cheminių medžiagų vartojimo, didėjančios oro, vandens bei dirvožemio taršos, augančio vartojimo.

Naujos technologijos, naudojamos maisto produktų saugai užtikrinti turi pasižymėti ne tik geru antimikrobiniu efektu, bet taip pat pailginti produktų galiojimo trukmę bei nekeisti nei fizikinių, nei cheminių maisto parametrų. Apsaugos metodai, tokie kaip veikimas karščiu bei cheminiais preparatais, ilgą laiką naudojami pramonėje dažnai siejami su tokiais maisto produktų pakitimais kaip organoleptinių savybių pokyčiai bei maistinės vertės sumažėjimas. Veikimas karščiu gali pakeisti sensorines maisto savybes ir net palyginti žemoje temperatūroje sukelia skonio ir aromato pokyčius (Lee, 2004). Didėjantys reikalavimai verčia mokslo visuomenę ieškoti naujų, alternatyvių metodų, kurie būtų nekenksmingi nei žmogui, nei jo aplinkai. Pagrindinės neterminės ir necheminės technologijos, pasižyminčios geru efektyvumu ir saugumo santykiu yra: jonizuojanti spinduliuotė, ultragarsas, aukštas hidrostatinis slėgis, impulsinis elektrinis laukas, impulsinė UV šviesa. Teoriškai fotosensibilizacija atitinka visus keliamus reikalavimus – tai saugus, greitas ir efektyvus metodas.

Fotosensibilizacijos esmę sudaro trijų komponentų: fotosensibilizatoriaus, matomos šviesos ir deguonies sąveika. Deguonies turinčioje aplinkoje indukuojamos radikalinės citotoksinės reakcijos, dėl kurių sutrinka ląstelių veikla ir jos žūva. Fotosensibilizacija pagrįsti metodai plačiai taikomi onkologijoje, gydant aterosklerozę, artritus. Žudantis šviesos poveikis mikroorganizmams parodytas jau seniai. Antimikrobiniu fotosensibilizacijos veikimu susidomėta dar ir todėl, kad šio metodo efektyvumas nepriklauso nuo mikroorganizmo jautrumo antibiotikams taip pat nėra pavojaus, kad mikroorganizmai tokiam poveikiui taps atsparūs.

## IŠVADOS

1. Gauti rezultatai rodo, kad fotosensibilizacija su chlorinu e6 yra tinkamas metodas Gram teigiamų maisto patogenų *Listeria monocytogenes* ir *Bacillus cereus* inaktyvacijai *in vitro*:

- gauta 7 log *Bacillus cereus* ATCC 12826 inaktyvacija;
- gauta 7 log *Listeria monocytogenes* ATCL3C 7644 inaktyvacija.

2. Šių patogenų adhezija ant poliolfeno ir tolesnė visiška inaktyvacija fotosensibilizacijos būdu įgalina daryti išvadą, kad šis metodas gali būti taikomas maisto pakuočių sterilizacijai.

3. *Bacillus cereus* ATCC 12826 ir *Listeria monocytogenes* ATCL<sub>3</sub>C 7644 inokuliuoti ant maisto matricos paviršiaus gali būti inaktyvuoti fotosensibilizacijos pagalba 99-99,9%. Tai atveria galimybes naujo maisto saugos metodo vystymui.