



Τεχνολογικό
Πανεπιστήμιο
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών
Επιστημών και
Διαχείρισης Περιβάλλοντος

Μεταπτυχιακή διατριβή

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΩΝ
ΕΞΑΓΩΓΗΣ DNA ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ
ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΚΥΠΡΙΑΚΩΝ
ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΑΛΛΑΝΤΙΚΩΝ**

Μαρίνα Ευθυμίου

Λεμεσός, Μάιος 2019

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΩΝ ΕΞΑΓΩΓΗΣ DNA
ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΚΥΠΡΙΑΚΩΝ
ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΑΛΛΑΝΤΙΚΩΝ

της

Μαρίας Ευθυμίου

Λεμεσός, Μάιος 2019

Έντυπο έγκρισης

Μεταπτυχιακή διατριβή

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΩΝ ΕΞΑΓΩΓΗΣ DNA
ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΚΥΠΡΙΑΚΩΝ
ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΩΝ ΑΛΛΑΝΤΙΚΩΝ

Παρουσιάστηκε από την

Μαρίνα Ευθυμίου

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Δημήτρης Τσάλτας, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Γεωπονικών Επιστημών Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων.

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Δρ. Γιώργος Μπότσαρης, Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος Γεωπονικών Επιστημών Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων.

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Δρ. Νικόλαος Νικολουδάκης, Ειδικό Εκπαιδευτικό Προσωπικό του Τμήματος Γεωπονικών Επιστημών Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων.

Υπογραφή _____

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Μάιος 2019

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Μαρίνα Ευθυμίου, 2019

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας Και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας χρειάστηκε τόσο εκπαιδευτική και ακαδημαϊκή καθοδήγηση όσο και πνευματική υποστήριξη και γι' αυτό υπάρχουν αρκετά άτομα που θα ήθελα να ευχαριστήσω.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου Δρ. Δημήτρη Τσάλτα για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στο ερευνητικό του εργαστήριο και να εξοικειωθώ με την επιστήμη των τροφίμων. Η πόρτα του γραφείου του ήταν πάντοτε ανοικτή και με καθοδηγούσε καθ' όλη τη διάρκεια του έτους.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου και ιδιαίτερα στην Έλενα Καμηλάρη για την απρόσκοπτη και πολύτιμη βοήθεια, υπομονή και γνώση που μου προσέφεραν.

Τέλος, είμαι ευγνώμων προς την οικογένεια και τους συμφοιτητές μου οι οποίοι με ενθάρρυναν κατά τη διετή φοίτησή μου στο Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου. Η ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας θα ήταν ανέφικτη χωρίς τα άτομα αυτά. Σας ευχαριστώ όλους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα παραδοσιακά τρόφιμα αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της πολιτιστικής κληρονομιάς, της ιστορίας και της ταυτότητας μιας περιοχής ή μιας χώρας. Από βιοτεχνολογικής άποψης, χαρακτηρίζονται από μια αντιπροσωπευτική μικροβιακή χλωρίδα η οποία είναι χαρακτηριστική της περιοχής και της μεθοδολογίας με την οποία παρασκευάζονται. Τα κυπριακά παραδοσιακά αλλαντικά αποτελούν προϊόντα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τόσο λόγω των μεθόδων παραγωγής, όσο και της ζύμωσης στην οποία υπόκεινται από ιθαγενή μικροβιακά στελέχη, γεγονός που τα καθιστά στενά συνυφασμένα με το κυπριακό περιβάλλον και παράδοση. Η μελέτη της βιοποικιλότητας των μικροοργανισμών που βρίσκονται στα Κυπριακά Παραδοσιακά Λουκάνικα Πιτσιλιάς και Πάφου μπορεί να συμβάλει στην καλύτερη κατανόηση του ρόλου τους στο οργανοληπτικό προφίλ, στην ποιότητα, στην ασφάλεια αλλά και στη δημιουργία νέων καινοτόμων προϊόντων. Οι τεχνικές αλληλούχησης επόμενης γενιάς σε συνδυασμό με τις κλασσικές μοριακές και μικροβιολογικές τεχνικές επιτρέπουν τον προσδιορισμό της μικροβιακής οικολογίας των παραδοσιακών προϊόντων. Η εξαγωγή των νουκλεϊκών οξέων είναι το πρώτο βήμα στις πλείστες μοριακές εφαρμογές. Επομένως, ο προσδιορισμός της καταλληλότερης μεθόδου απομόνωσης DNA είναι εξαιρετικά σημαντικός για τις μετέπειτα μοριακές διαδικασίες ταυτοποίησης μικροοργανισμών. Στόχο της παρούσας μελέτης αποτελεί η επιλογή του αποδοτικότερου πρωτοκόλλου απομόνωσης DNA προκειμένου να επιτευχθεί η ανάλυση του μικροβιώματος των κυπριακών παραδοσιακών λουκάνικων με μικροβιολογικές και μοριακές μεθόδους.

Λέξεις κλειδιά: παραδοσιακά λουκάνικα, οξυγαλακτικά βακτήρια, ζύμες, σταφυλόκοκκοι αρνητικοί στην κοαγκουλάση, μικροβιακή καλλιέργεια, εξαγωγή DNA, μοριακή ανάλυση, qPCR

ABSTRACT

Traditional foods are a fundamental part of the culture, history, identity and lifestyle of a region or a country. From a biotechnological point of view, traditional foods are characterized by a representative microflora that is a characteristic of the area and the methodology by which they are produced. Cypriot traditional cured meats are products with unique characteristics due to the production methods and the fermentation into which they are subjected by indigenous microbial strains, which make them closely related to the Cypriot environment and tradition. The study of the biodiversity of microorganisms found in sausages can contribute to a better understanding of their role in the organoleptic profile, quality, safety and the development of innovative products. The Next Generation Sequencing techniques in combination with classical molecular and microbiological techniques allow the identification of the microbial ecology of the traditional Cypriot sausages from Pitsilia and Pafos regions. The extraction of nucleic acids is the first step in most molecular applications. Therefore, determining the most suitable DNA isolation method is very important for the subsequent molecular procedures for microorganisms' identification. The aim of this study is the selection of the most effective microbial DNA isolation protocol for the analysis of the microbiome existed in Cypriot sausages as estimated via microbiological and molecular methods.

Keywords: traditional sausages, lactic acid bacteria, yeasts, coagulase-negative staphylococci, microbial culture, DNA extraction, molecular analysis, qPCR