



ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**“ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΙΜΑ ΦΙΛΜ ΑΠΟ
ΠΟΛΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΑΥΤΩΝ ΣΕ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΡΕΑΤΟΣ.”**

**“ANTIMICROBIAL AND BIODEGRADABLE POLYLACTIC ACID FILMS AND
STUDY OF THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN PACKAGED MEAT
PRODUCTS.”**



ΦΟΙΤΗΤΕΣ

ΑΠΟΣΤΟΛΙΔΟΥ ΔΗΜΗΤΡΑ-ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΑΜ: 2819115

ΓΟΥΖΕΛΗΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ

ΑΜ: 2819006

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΓΙΑΒΑΣΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2024

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα προπτυχιακή πειραματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλουμε στον καθηγητή κ. Ιωάννη Γιαβάση, τόσο για την εμπιστοσύνη που μας έδειξε αναθέτοντάς μας την εργασία αυτή, όσο και για την καθοδήγηση, τις γνώσεις και την πολύτιμη βοήθεια που μας παρείχε.

Θα θέλαμε επίσης να ευχαριστήσουμε το προσωπικό του εργαστηρίου, την κ. Χρυσάνθη Μιτσάγγα και την κ. Παρασκευή Μπούκη για την προθυμία τους να συνεργαστούν μαζί μας, καθώς και την πολύτιμη βοήθεια και υποστήριξη τους σε αυτό το εξαιρετικά σημαντικό ταξίδι γνώσεων και απόκτησης εμπειριών.

Τέλος, θα θέλαμε να αφιερώσουμε τη πτυχιακή μας εργασία με μεγάλη αγάπη και ευγνωμοσύνη στους υπέροχους γονείς μας, οι οποίοι στάθηκαν στο πλευρό μας όλα τα χρόνια σπουδών, αλλά και στους καθηγητές μας που υπήρξαν πολύτιμοι αρωγοί και καθοδηγητές καθόλη την διάρκεια των φοιτητικών μας χρόνων.

Αποστολίδου Δήμητρα Χριστίνα

Γουζέλης Απόστολος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας ολοκληρώθηκε μία σειρά πειραμάτων, στα οποία μελετήθηκε η επίδραση των αντιμικροβιακών παραγόντων, που ενσωματώνονται σε μεμβράνες PLA, στη διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος.

Τα προϊόντα κρέατος που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή αυτών των πειραμάτων ήταν νωπός χοιρινός κιμάς, εμβολιασμένος με παθογόνες καλλιέργειες μικροοργανισμών και μη, παστεριωμένες φέτες γαλοπούλας και ζυμούμενο σαλάμι αέρος. Τα προαναφερθέντα προϊόντα συσκευάστηκαν υπό κενό σε τέσσερις διαφορετικές συνθήκες συσκευασίας, δύο απλές και δύο ενεργές: πολυγαλακτικό οξύ (PLA), πολυαμίδιο/πολυαιθυλένιο (PA/PE), PLA ενισχυμένο με 10% πολυφαινόλη πολυφαινόλη Medoliva Plus, PLA ενισχυμένο με 2,5% πολυφαινόλη Medoliva Plus και 7,5% ε-PL (ε-πολυλυσίνη) και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασίες 4°C και 10°C. Ανάλογα με το είδος του τροφίμου, η αντιμικροβιακή δράση της κάθε συσκευασίας εξετάστηκε στους ακόλουθους μικροοργανισμούς: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX), *Enterobacteriaceae*, Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas spp.*, Μύκητες (ζύμες-μούχλες).

Με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν, το μίγμα πολυφαινόλης Medoliva Plus - ε-PL συμβάλλει στην διαμόρφωση καταλληλότερων συνθηκών αποθήκευσης σε νωπά, ζυμούμενα και παστεριωμένα προϊόντα κρέατος, αναστέλλοντας αλλοιγόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς. Η αναστολή αυτή υποβοηθάται μέσω της συντήρησης σε χαμηλότερες θερμοκρασίες της τάξεως των 4°C, συγκριτικά με τους 10°C. Πιο συγκεκριμένα, για τον μη εμβολιασμένο νωπό χοιρινό κιμά και για τις παστεριωμένες φέτες γαλοπούλας, παρουσιάστηκε αντιμικροβιακή δράση για όλους τους μικροοργανισμούς, εκτός των LAB. Για τον εμβολιασμένο κιμά παρατηρήθηκε ανασταλτική δράση των αντιμικροβιακών έναντι των παθογόνων, με εξαίρεση την *Escherichia coli*, όπου προκλήθηκε διέγερση της ανάπτυξης από την συσκευασία με την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus. Ακόμη, για το σαλάμι αέρος η συσκευασία που περιέχει την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus δρα αποτελεσματικότερα έναντι της ανάπτυξης των μυκήτων. Αν και η εφαρμογή των ενεργών αντιμικροβιακών συσκευασιών συνοδεύεται από πλεονεκτήματα, η εφαρμογή της σε βιομηχανική κλίμακα απαιτεί περαιτέρω έρευνα.

ABSTRACT

In the context of this thesis, a series of experiments were conducted to study the effect of antimicrobial agents, incorporated into PLA membranes, on the shelf life of meat products.

The meat products, used in these experiments, were fresh pork mince, both inoculated with pathogenic microorganisms and non-inoculated, pasteurized turkey slices, and fermented salami. These products were vacuum-packaged under four different packaging conditions, two simple and two active: polylactic acid (PLA), polyamide/polyethylene (PA/PE), PLA enhanced with 10% polyphenol Medoliva Plus polyphenol, and PLA enhanced with 2.5% polyphenol Medoliva Plus polyphenol and 7.5% ϵ -PL (ϵ -polylysine), and stored at temperatures of 4°C and 10°C. Depending on the type of food, the antimicrobial action of each packaging was examined against the following microorganisms: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Total Viable Count (TVC), *Enterobacteriaceae*, Lactic acid bacteria (LAB), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas spp.*, and fungi (yeasts and molds).

Based on the experimental results, the mix of polyphenol Medoliva Plus - ϵ -PL contributes to the creation of more suitable storage conditions for fresh, fermented, and pasteurized meat products by inhibiting spoilage and pathogenic microorganisms. This inhibition is enhanced through the storage at lower temperatures of 4°C compared to 10°C. Specifically, for non-inoculated fresh pork mince and pasteurized turkey slices, antimicrobial action was observed against all microorganisms apart from Lactic acid bacteria. For inoculated mince, antimicrobial agents inhibited pathogens except for *Escherichia coli*, where polyphenol Medoliva Plus caused growth. Additionally, for fermented salami, the packaging containing 10% polyphenol Medoliva Plus was more effective against the growth of fungi. While the application of active antimicrobial packaging is followed by advantages, its industrial-scale implementation requires further research.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	I
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	II
ABSTRACT.....	III
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ.....	3
2.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί σε προϊόντα κρέατος.....	3
2.1.1 Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX).....	3
2.1.2 <i>Enterobacteriaceae</i>	4
2.1.3 Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB).....	4
2.1.4 Μύκητες (ζύμες, μούχλες).....	5
2.1.5 <i>Pseudomonas spp.</i>	5
2.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί σε προϊόντα κρέατος.....	6
2.2.1 <i>Escherichia coli</i>	7
2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	9
2.2.4 <i>Salmonella typhimurium</i>	10
3. ΕΝΕΡΓΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ....	12
3.1 Συσκευασία.....	12
3.2 Ενεργός συσκευασία.....	12
3.2.1 Βασικές κατηγορίες ενεργού συσκευασίας.....	14
3.2.2 Εφαρμογές ενεργούς συσκευασίας σε τρόφιμα.....	16
3.3 Βιοαποικοδομήσιμα φιλμ.....	17

3.4 Βασικές κατηγορίες βιοπολυμερών για συσκευασίες τροφίμων	18
3.4.1 Άμυλο.....	18
3.4.2 Χιτίνη και Χιτοζάνη.....	19
3.4.3 Κυτταρίνη.....	20
3.4.4 PLA.....	21
3.5 Αντιμικροβιακές ουσίες.....	22
3.5.1 Βασικές κατηγορίες αντιμικροβιακών ουσιών.....	22
3.5.2 Πολυφαινόλες.....	23
3.5.3 Πολυλυσίνη.....	24
3.5.4 Νισίνη.....	26
3.5.5 Χιτοζάνη.....	27
3.5.6 Θυμόλη.....	27
3.5.7 Λυσοζύμη.....	28
3.5.8 Λακτοφερρίνη.....	29
3.5.9 Αλλισίνη.....	30
3.5.10 Εφαρμογή βακτηριοφάγων.....	31
4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΥΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ PLA ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΡΕΑΤΟΣ.....	37
5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	39
5.1 Υλικά.....	39
5.1.1 Εργαστηριακά όργανα και συσκευές.....	39
5.1.2 Σκεύη.....	43
5.1.3 Υδατικά διαλύματα.....	44

5.1.4	Θρεπτικά υποστρώματα και συμπληρώματα.....	44
5.1.5	Υλικά συσκευασίας.....	46
5.1.6	Δείγματα συσκευασμένων προϊόντων κρέατος.....	46
5.2	ΜΕΘΟΔΟΙ.....	46
5.2.1	Εμβολιασμένος και μη χοιρινός κιμάς.....	47
5.2.2	Συσκευασία δειγμάτων.....	47
5.2.3	Ομογενοποίηση δειγμάτων.....	49
5.2.4	Προσδιορισμός <i>Escherichia coli</i>	49
5.2.5	Προσδιορισμός <i>Staphylococcus aureus</i>	50
5.2.6	Προσδιορισμός Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX).....	50
5.2.7	Προσδιορισμός <i>Enterobacteriaceae</i>	50
5.2.8	Προσδιορισμός Οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB).....	51
5.2.9	Προσδιορισμός <i>Listeria monocytogenes</i>	51
5.2.10	Προσδιορισμός <i>Salmonella typhimurium</i>	51
5.2.11	Προσδιορισμός Μύκητες (ζύμες, μούχλες).....	52
5.2.12	Προσδιορισμός <i>Pseudomonas spp</i>	52
6.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	53
6.1	Εισαγωγή.....	53
6.2	Νωπός χοιρινός κιμάς (φυσική μικροχλωρίδα).....	54
6.2.1	Ανάπτυξη <i>Escherichia coli</i>	54
6.2.2	Ανάπτυξη <i>Staphylococcus spp</i>	56
6.2.3	Ανάπτυξη Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX).....	58
6.2.4	Ανάπτυξη <i>Enterobacteriaceae</i>	60

6.2.5 Ανάπτυξη Οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB).....	62
6.3 Νωπός χοιρινός κιμάς (εμβολιασμένος με παθογόνα μικρόβια)....	64
6.3.1 Ανάπτυξη <i>Escherichia coli</i>	64
6.3.2 Ανάπτυξη <i>Staphylococcus spp.</i>	66
6.3.3 Ανάπτυξη <i>Listeria monocytogenes</i>	68
6.3.4 Ανάπτυξη <i>Salmonella typhimurium</i>	70
6.4 Παστεριωμένες φέτες γαλοπούλας.....	72
6.4.1 Ανάπτυξη Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX).....	72
6.4.2 Ανάπτυξη Οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB).....	74
6.4.3 Ανάπτυξη <i>Enterobacteriaceae</i>	76
6.4.4 Ανάπτυξη <i>Pseudomonas spp.</i>	78
6.5 Ζυμούμενο σαλάμι αέρος.....	80
6.5.1 Ανάπτυξη Μυκήτων (ζύμες).....	80
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	81
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	84

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η συσκευασία τροφίμων διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων, ενώ παράλληλα παρατείνει τη διάρκεια ζωής τους (Jiang et al, 2023). Σύμφωνα με τον Νόμο 2939/01 ως συσκευασία (μέσο) νοείται «κάθε προϊόν κατασκευασμένο από οποιοδήποτε είδος υλικού και προοριζόμενο να χρησιμοποιείται για να περιέχει αγαθά. Σκοπός της είναι η προστασία, διακίνηση, διάθεση και η παρουσίαση των αγαθών από τον παραγωγό μέχρι τον χρήστη ή τον καταναλωτή». Στην προκειμένη περίπτωση, η συσκευασία τροφίμων εξυπηρετεί διάφορες θεμελιώδεις λειτουργίες, όπως η προστασία, η συντήρηση και η παροχή πληροφοριών στους καταναλωτές. Εξασφαλίζει ότι τα τρόφιμα φτάνουν στους καταναλωτές σε βέλτιστη κατάσταση, αποτρέποντας τη αλλοίωση, τη μόλυνση και τη φθορά (Yan et al, 2022).

Οι συνήθεις μέθοδοι συσκευασίας του κρέατος και των προϊόντων αυτού περιλαμβάνουν τη συσκευασία υπό κενό, τη συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) και τη συρρίκνωση (Narasimha and Sachindra, 2002). Αυτές οι τεχνικές παρατείνουν τη διάρκεια ζωής στο ράφι μειώνοντας την έκθεση στο οξυγόνο, ελέγχοντας το μικροβιακό περιβάλλον εντός της συσκευασίας (Dawson, 2000). Η συσκευασία υπό κενό αφαιρεί τον αέρα από τη συσκευασία, η MAP αντικαθιστά τον αέρα με αέρια όπως διοξείδιο του άνθρακα και άζωτο και η συρρίκνωση περιλαμβάνει τη στενή περιτύλιξη του προϊόντος σε πλαστική μεμβράνη (Narasimha and Sachindra, 2002).

Η ενεργή συσκευασία επεκτείνει την έννοια της παραδοσιακής συσκευασίας με την ενσωμάτωση συστατικών που αλληλεπιδρούν ενεργά με το τρόφιμο ή το περιβάλλον, ενισχύοντας τη διάρκεια ζωής και την ασφάλεια του τροφίμου (Brody et al, 2001). Η συσκευασία αυτή περιλαμβάνει τη χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων που μπορούν να αναστέλλουν ή να σκοτώνουν παθογόνους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στα τρόφιμα (Yildirim et al, 2018). Μεταξύ των υλικών που χρησιμοποιούνται για ενεργή συσκευασία, τα φιλμ πολυγαλακτικού οξέος (PLA) κερδίζουν την προσοχή λόγω της βιοαποικοδομησιμότητάς τους και της δυνατότητάς τους να ενισχυθούν με αντιμικροβιακές ουσίες, γεγονός που τις καθιστά ιδανικές ενεργές συσκευασίες φιλικές προς το περιβάλλον (Gao et al, 2017). Το PLA είναι ένα βιοδιασπώμενο πολυμερές που προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές όπως το άμυλο καλαμποκιού ή το ζαχαροκάλαμο, κι αποτελεί μια

ελκυστική εναλλακτική λύση στα συμβατικά πλαστικά (Malek et al, 2021). Με την ενσωμάτωση αντιμικροβιακών παραγόντων, όπως πολυφαινόλες, πολυλυσίνη, θυμόλη κ.α. σε μεμβράνες PLA, η συσκευασία μπορεί να αναστείλει ενεργά την ανάπτυξη μικροβίων, παρατείνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής και εξασφαλίζοντας την ασφάλεια των προϊόντων κρέατος (Gao et al, 2017).

Ο στόχος αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι να αξιολογηθεί η επίδραση των αντιμικροβιακών παραγόντων που ενσωματώνονται σε μεμβράνες PLA στη διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος, τα οποία αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες 4°C και 10°C. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η επίδραση της διάρκειας ζωής των δύο συσκευασιών κενού PLA, PA/PE με δύο ενεργές συσκευασίες κενού με βάση το PLA, στις οποίες έχουν τοποθετηθεί μέσω ψεκασμού η πολυφαινόλη Medoliva Plus και μίγμα της πολυφαινόλης με πολυλυσίνη ε-PL. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι σε παστεριωμένη γαλοπούλα, ζυμούμενο σαλάμι αέρος και σε νωπό χοιρινό κιμά. Τα δείγματα κιμά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: σε αυτά που μελετήθηκε η επίδραση ενάντια στη φυσική μικροχλωρίδα και σε αυτά που έλαβε χώρα εμβολιασμός με παθογόνους μικροοργανισμούς. Αξιολογώντας την αντιμικροβιακή δράση και τη συνολική αποτελεσματικότητα αυτών των μεμβρανών, η μελέτη αποσκοπεί στον προσδιορισμό των δυνατοτήτων τους για την παράταση της διάρκειας ζωής και τη διατήρηση της ασφάλειας και της ποιότητας των συσκευασμένων προϊόντων κρέατος.

2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ

2.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί σε προϊόντα κρέατος

Στα προϊόντα κρέατος, η αλλοίωση είναι συνυφασμένη με την μεταβολή στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους, καθιστώντας τα μη ελκυστικά στον καταναλωτή. Κατά την αποθήκευση τους υφίστανται διαφορετικές αλλοιώσεις που σχετίζονται με την σύσταση και την μικροβιακή τους χλωρίδα. Στις αλλοιώσεις αυτών των τροφίμων περιλαμβάνονται η ανάπτυξη ανεπιθύμητης γεύσης ή οσμής (π.χ. όξυνση), οι μεταβολές χρώματος (π.χ. αποχρωματισμός) και οι αλλαγές στην υφή (π.χ. ανάπτυξη γλοιώδους υφής) (Matthews et al, 2021).

Πριν την επεξεργασία του κρέατος υπάρχει φυσικός υψηλός αριθμός βακτηρίων στο δέρμα, στις τρίχες και στις οπλές των ζώων. Πιο συγκεκριμένα, με την μικροχλωρίδα του δέρματος συνδέονται βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Staphylococcus* και *Pseudomonas*. Βέβαια, υπάρχουν και είδη που προέρχονται από περιττώματα και το έδαφος. Επιμόλυνση μπορεί να προκύψει και κατά την επεξεργασία του κρέατος λόγω της μη τήρησης συνθηκών υγιεινής στο περιβάλλον μεταποίησης (Hardin, 2024).

2.1.1 Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)

Η Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX) στο κρέας αντιπροσωπεύει ένα πληθυσμό αερόβιων μεσόφιλων βακτηρίων, με βέλτιστο θερμοκρασιακό εύρος 30 - 40 ° C. Αυτοί οι μικροοργανισμοί διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην αλλοίωση και την ασφάλεια του κρέατος, επηρεάζοντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και κατά συνέπεια τη διάρκεια ζωής του. Τα μικρόβια αυτά μπορούν να προκαλέσουν μια σειρά ανεπιθύμητων αλλαγών στα προϊόντα κρέατος, συμπεριλαμβανομένων των δυσάρεστων οσμών, του αποχρωματισμού και της αλλοίωσης της υφής (Diez-Gonzalez, 2014). Επιπλέον, ορισμένα βακτήρια μπορεί να παράγουν επιβλαβείς μεταβολίτες ή τοξίνες, θέτοντας σε κίνδυνο την υγεία των καταναλωτών. Οι βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης για τους οργανισμούς αυτούς περιλαμβάνουν ελαφρώς όξινο pH και υψηλή ενεργότητα νερού. Πέρα από αλλοίωση, η ανεύρεση ενός σημαντικά αυξημένου πληθυσμού μεσόφιλων βακτηρίων σε ένα δείγμα τροφίμου υποδηλώνει μη τήρηση των συνθηκών υγιεινής, αλλά και ανεπαρκείς συνθήκες επεξεργασίας και συντήρησης. Ακόμη, η OMX δεν συμπεριλαμβάνει υποχρεωτικά και

παθογόνα μικρόβια, χωρίς αυτό να σημαίνει πως δεν μπορούν να συνυπάρχουν στον πληθυσμό της OMX παθογόνοι μικροοργανισμοί (Bautista, 2014).

2.1.2 *Enterobacteriaceae*

Τα *Enterobacteriaceae*, συνιστούν μία οικογένεια μεσόφιλων Gram αρνητικών βακτηρίων, παθογόνων και μη, που απαντώνται σε προϊόντα κρέατος και είναι κυρίως γνωστά την αλλοιογόνο δράση τους. Γένη όπως όπως το *Enterobacter*, η *Klebsiella*, η *Escherichia coli* συμβάλλουν στην αλλοίωση του κρέατος με την παραγωγή δυσάρεστων οσμών, αποχρωματισμού και αλλοιώσεων της υφής, που έχουν ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής του προϊόντος (Eden, 2014). Αυτά τα βακτήρια ευδοκιμούν σε ουδέτερο έως ελαφρώς όξινο pH και απαιτούν υψηλό επίπεδο ενεργότητας νερού, συνήθως πάνω από 0.90, για να υποστηρίξουν τις μεταβολικές τους δραστηριότητες. Ενώ ορισμένα μέλη της οικογένειας *Enterobacteriaceae* μπορούν να δράσουν ως παθογόνα για την ανθρώπινη υγεία, όπως ορισμένα στελέχη της *Escherichia coli* και της *Klebsiella*, η παθογόνος δραστηριότητά τους στα προϊόντα κρέατος είναι δευτερεύουσα σε σχέση με το ρόλο τους ως αλλοιογόνα μικρόβια. (Patel et al, 2014).

2.1.3 Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB)

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), είναι κυρίως θετικοί κατά Gram μικροοργανισμοί, και αποτελούν αναπόσπαστο στοιχείο της βιομηχανίας κρέατος. Χαρακτηρίζονται ως οξυάντοχα, μη παθογόνα, μεσόφιλα, εκ των οποίων η πλειονότητα είναι προαιρετικά αναερόβια βακτήρια, τα οποία έχουν διττό ρόλο: είτε δρουν ως ζυμωτικοί παράγοντες σε ορισμένα τρόφιμα όπως γαλακτοκομικά προϊόντα, ελιές και τουρσί, είτε δρουν ως αλλοιογόνα βακτήρια σε τρόφιμα όπως νωπό γάλα, κρέας και αλλαντικά (Adams and Moss, 2008). Στην επεξεργασία κρέατος, τα LAB αξιοποιούνται συχνά για τις ζυμωτικές τους ικανότητες, βοηθώντας στην παραγωγή διαφόρων προϊόντων κρέατος που έχουν υποστεί ωρίμανση και ζύμωση, όπως λουκάνικα και αλλαντικά. Οι δραστηριότητές τους συμβάλλουν στην ενίσχυση της γεύσης, στην τροποποίηση της υφής και στη συντήρηση μέσω της οξίνισης, αναστέλλοντας έτσι την ανάπτυξη επιβλαβών παθογόνων μικροοργανισμών (Lücke, 2014).

Ωστόσο, όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι δυσμενείς, οι LAB μπορούν να ξεκινήσουν διεργασίες αλλοίωσης στα προϊόντα κρέατος. Ορισμένα είδη LAB, όπως ο *Lactobacillus sakei* και ο *Lactobacillus curvatus*, είναι γνωστά για τη δραστηριότητα αλλοίωσης σε προϊόντα κρέατος. Αυτή η αλλοίωση εκδηλώνεται συχνά ως ανεπιθύμητες αλλοιωμένες γεύσεις, αλλαγές στην υφή και αποχρωματισμό, κυρίως λόγω ανεπιθύμητης οξίνισης ή διόγκωσης/παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα, οδηγώντας σε ποιοτική υποβάθμιση και μείωση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Η ανάπτυξη των LAB στο κρέας εξαρτάται από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, το pH και η δραστηριότητα του νερού (Talon and Leroy, 2014).

2.1.4 Μύκητες (ζύμες, μούχλες)

Στην μικροχλωρίδα του κρέατος υπάγονται οι ζύμες του γένους *Candida*, *Torulopsis* και *Rhodotorula*. Αντίστοιχα, ως αλλοιογόνες μούχλες τα γένη *Cladosporium*, *Mucor*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sporotrichum* και *Thamnidium*. Οι ζύμες προκαλούν επιτάχυνση του φαινομένου της οξείδωσης των λιπών του κρέατος, ενώ οι μούχλες συνεισφέρουν στην δημιουργία αντιαισθητικών κηλίδων ποικίλων χρωμάτων (μαύρων, λευκών, πράσινων) και βαμβακωδών γκρι μυκηλίων (Hocking, 2014). Όλα τους είναι αερόβια σπορογόνα γένη, τα περισσότερα εκ των οποίων είναι μεσόφιλα, με εκτεταμένο εύρος ανάπτυξης pH αλλά και ενεργότητας νερού. Ο *Penicillium* είναι το μόνο δυνητικά παθογόνο γένος από τα προαναφερθείσα, με περισσότερα από 80 είδη του να παράγουν τοξίνες. Οι τοξίνες του *Penicillium* μπορούν να επηρεάσουν την λειτουργία του ήπατος ή των νεφρών, ενώ μπορούν είτε να είναι ασυμπτωματικές ή να προκαλέσουν γενικευμένη αδυναμία στον ανθρώπινο οργανισμό (Tortora et al, 2016).

2.1.5 *Pseudomonas spp.*

Οι *Pseudomonas spp.* είναι από τα επικρατέστερα αλλοιογόνα μικρόβια για τα περισσότερα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένου και του κρέατος, υπό αερόβιες συνθήκες. Είναι μη σπορογόνα, δυνητικά παθογόνα, Gram αρνητικά βακτήρια υπό μορφή ραβδίων (Arslan, 2011). Ο *Pseudomonas fragi* είναι το είδος ξεχωρίζει ως κύριος παράγοντας αλλοίωσης του κρέατος, που απομονώνεται συχνά τόσο από νωπά όσο και από αλλοιωμένα επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος (Labadie, 1999). Το περιβάλλον του νωπού κρέατος παρέχει ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη του *Pseudomonas fragi*, χάρη στη θρεπτική αξία των

συστατικών του κρέατος και τις ευνοϊκές θερμοκρασίες αποθήκευσης του. Η αλλοίωση στο κρέας αποδίδεται στη μικροβιακή κατανάλωση των θρεπτικών συστατικών του κρέατος και στην απελευθέρωση ανεπιθύμητων πτητικών μεταβολιτών, ανάλογα με τους μολυσματικούς μικροβιακούς πληθυσμούς και τις συνθήκες αποθήκευσης. Οι αερόβιες συνθήκες αποθήκευσης, ιδίως σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 1°C έως 25°C, προάγουν την αλλοίωση από μια κοινοπραξία βακτηρίων, στην οποία κυριαρχούν κυρίως τα *Pseudomonas spp.*, ιδίως τα *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens* και *Pseudomonas lundensis* (Raposo et al, 2016).

2.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί σε προϊόντα κρέατος

Η εμφάνιση των παθογόνων μικροβίων στα προϊόντα κρέατος προκαλούν ιδιαίτερο προβληματισμό, λόγω των συνεπειών που έχουν στο καταναλωτικό κοινό, καθώς δεν είναι πάντοτε εμφανή η ανάπτυξη αυτών (Luber and Scherer, 2014). Πρόκειται κυρίως για παθογόνα βακτήρια, όπως ορισμένα στελέχη της *Salmonella*, της *Escherichia coli*, της *Listeria monocytogenes* και του *Staphylococcus aureus*, από τα οποία μπορεί μολυνθεί το κρέας σε διάφορα στάδια της παραγωγικής αλυσίδας τόσο πριν όσο και μετά την επεξεργασία. Η παρουσία παθογόνων βακτηρίων στα προϊόντα κρέατος συνδέεται συχνά με ανθυγιεινές συνθήκες μεταχείρισης και επεξεργασίας του νωπού κρέατος, αλλά και των διαρκών αυξομειώσεων θερμοκρασίας κατά την αποθήκευση του (Doyle and Wood, 2014).

Η μόλυνση πριν από την επεξεργασία μπορεί να προέρχεται από το δέρμα των ζώων ζώα, τι τρίχες και στις οπλές τους μεταφέροντας τα στο κρέας. Επιπλέον, πρόσθετες πηγές μόλυνσης αποτελούν το έδαφος, το νερό και τα κόπρανα, μέσω των οποίων μπορούν να εισαχθούν παθογόνα στο κρέας κατά το χειρισμό και τη μεταφορά του νωπού κρέατος. Η μόλυνση μετά την επεξεργασία συμβαίνει εξαιτίας της μη τήρησης των ενδεδειγμένων πρακτικών υγιεινής κατά το ίδιο το στάδιο της επεξεργασίας, όσο και των σταδίων της αποθήκευσης και της διανομής των προϊόντων κρέατος (Suman et al, 2017).

2.2.1 *Escherichia coli*

Η *Escherichia coli* είναι ένα είδος μεσόφιλων, προαιρετικά αναερόβιων, Gram αρνητικών βακτηρίων που αποικίζει φυσικά στο έντερο των ανθρώπων και των ζώων (Doyle and Wood, 2014).

Πίνακας 1. Ταξινόμηση του *Escherichia coli* (Faner et al, 2017).

Βασίλειο	<i>Bacteria</i>
Φύλο	<i>Proteobacteria</i>
Ομάδα	<i>Gammaproteobacteria</i>
Τάξη	<i>Enterobacteriaceae</i>
Οικογένεια	<i>Enterobacteriaceae</i>
Γένος	<i>Escherichia</i>
Είδος	<i>Escherichia coli</i>

Τα περισσότερα στελέχη του *Escherichia coli* είναι αβλαβή, με ορισμένα από αυτά να μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές τροφιμογενείς ασθένειες. Υψηλοί πληθυσμοί βακτηρίων *Escherichia coli* υποδεικνύουν εντερική μόλυνση των τροφίμων είτε άμεσα (π.χ. μέσω επαφής με κόπρανα), είτε έμμεσα (π.χ. μέσω μολυσμένου νερού) (Todd et al, 2008). Ως εκ τούτου, η παρουσία τους δείχνει κακές συνθήκες υγιεινής και οδηγεί σε πλήρη υποβάθμιση της ποιότητας των κρέατος (Doyle and Wood, 2014).

Ο πιο επικίνδυνος ορότυπος είναι το *Escherichia coli* O157:H7. Αυτός ο συγκεκριμένος ορότυπος της *Escherichia* μπορεί να προκαλέσει σοβαρή διάρροια, αλλά σοβαρότερα προβλήματα όπως το αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο (HUS), το οποίο επηρεάζει τα νεφρά και το αίμα (Havelaar, 2015). Τα βακτήρια αυτού του γένους συνήθως καταστρέφονται με ήπια θερμική επεξεργασία, αφυδάτωση ή κατάψυξη. Συνήθως, η

παρουσία τους σε επεξεργασμένα τρόφιμα υποδηλώνει μόλυνση μετά από θερμική επεξεργασία (Doyle and Wood, 2014).

2.2.2 *Staphylococcus aureus*

Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένα είδος μεσόφιλων, προαιρετικά αναερόβιων, Gram θετικών βακτηρίων, που μπορεί να βρεθεί σε διάφορα περιβάλλοντα, όπως τον βλεννογόνο του ρινοφάρυγγα, τα αυτιά, τα μαλλιά, το δέρμα ανθρώπων και ζώων και ειδικά σε δερματικές πληγές (Schleifer, 2014). Η παρουσία του σταφυλόκοκκου σε προϊόντα κρέατος υποδεικνύει μόλυνση κατά την επεξεργασία ή αποθήκευση του κρέατος (Doyle and Wood, 2014). Η κύρια πηγή μόλυνσης σταφυλόκοκκου για τα προϊόντα κρέατος είναι οι χειριστές τροφίμων (Gillaspy and Iandolo, 2014).

Πίνακας 2. Ταξινόμηση του *Staphylococcus aureus* (Gillaspy and Iandolo, 2014).

Βασίλειο	<i>Eubacteria</i>
Φύλο	<i>Firmicutes</i>
Ομάδα	<i>Bacilli</i>
Τάξη	<i>Bacillales</i>
Οικογένεια	<i>Staphylococcaceae</i>
Γένος	<i>Staphylococcus</i>
Είδος	<i>S. aureus</i>

Οι λοιμώξεις από *Staphylococcus aureus* οφείλονται στην κατανάλωση τροφίμων, που μέσα τους έχουν παραχθεί εντεροτοξίνες, οι οποίες είναι απλές πρωτεΐνες, γνωστές ως εξωτοξίνες (Balaban and Rasooly, 2000). Οι εξωτοξίνες αυτές είναι τοξικές, φέρουν άμεσα συμπτώματα γαστρεντερίτιδας και δεν επηρεάζονται από τις διάφορες συνθήκες επεξεργασίας τις οποίες υπόκεινται το κρέας το οποίο προσβάλλουν, λόγω της υψηλής τους

θερμοανθεκτικότητας. Υπάρχουν τέσσερις τύποι εντεροτοξινών: A, B, C και D. Όλοι οι τύποι σταφυλοκοκκικών μπορεί να οδηγήσουν σε συμπτώματα που κυμαίνονται από ήπια γαστρεντερική δυσφορία έως σοβαρή τροφική δηλητηρίαση, ανάλογα με τον τύπο της τοξίνης. Η πιο επικίνδυνη εντεροτοξίνη είναι αυτή του τύπου A, η οποία οδηγεί τον καταναλωτή σε άμεσα συμπτώματα γαστρεντερίτιδας, συγκριτικά με αυτές του τύπου B, C και D που μπορεί να οδηγήσουν τον καταναλωτή σε μια απλή διάρροια. (Argudín, 2010)

2.2.3 *Listeria monocytogenes*

Η *Listeria monocytogenes* είναι ένα ψυχρότροφο, προαιρετικά αναερόβιο, Gram θετικό βακτήριο με μηδενικό όριο ανοχής στα τρόφιμα.

Πίνακας 3. Ταξινόμηση του *Listeria monocytogenes* (Dudley, 2022).

Βασίλειο	<i>Eubacteria</i>
Φύλο	<i>Firmicutes</i>
Ομάδα	<i>Bacilli</i>
Τάξη	<i>Bacillales</i>
Οικογένεια	<i>Listeriaceae</i>
Γένος	<i>Listeria</i>
Είδος	<i>L. monocytogenes</i>

Αν και η μόλυνση από *Listeria monocytogenes* συμβαίνει κυρίως κατά τη σφαγή και τον εκσπλαχνισμό, λόγω της θερμικής επεξεργασίας που επιδέχονται στην συνέχεια τα νωπά κρέατα, ο πληθυσμός της μειώνεται σε βαθμό που δεν οδηγεί τον καταναλωτή σε τροφική δηλητηρίαση (Pierquet et al., 2020). Το πρόβλημα των δηλητηριάσεων από *Listeria monocytogenes* συνήθως προκύπτει από την κατανάλωση ready-to-eat προϊόντων κρέατος, με την επιμόλυνση να υφίσταται έπειτα το πέρας της θερμικής επεξεργασίας, και συγκεκριμένα

κατά την διάρκεια της σχηματοποίησης και της συσκευασίας (Zhu, 2005). Οι δηλητηριάσεις αυτές μπορούν να προκαλέσουν σοβαρή τροφική δηλητηρίαση λιστερίωσης με συμπτώματα πυρετού, μυϊκούς πόνους κ.α. έως και μηνιγγίτιδα και αποβολή σε εγκυμονούσες από την κατανάλωση επιμολυσμένων τροφίμων (Schlech and Acheson, 2000). Ο μόνος τρόπος διαφυγής πέραν της καλής ατομικής υγιεινής είναι η επαρκής θερμική επεξεργασία του προϊόντος κρέατος (Pierquet et al., 2020).

2.2.4 *Salmonella typhimurium*

Η *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium*, ένα μεσόφιλο, προαιρετικό αναερόβιο, Gram αρνητικό βακτήριο που αναγνωρίζεται ως κύρια αιτία τροφιμογενών ασθενειών με αυξανόμενα περιστατικά παγκοσμίως (Majowicz et al, 2010; Scallan et al, 2011).

Πίνακας 4. Ταξινόμηση της *Salmonella typhimurium* (Brenner, 2000).

Βασίλειο	<i>Eubacteria</i>
Φύλο	<i>Proteobacteria</i>
Ομάδα	<i>Enterobacteriales</i>
Τάξη	<i>Enterobacteriaceae</i>
Οικογένεια	<i>Enterobacteriaceae</i>
Γένος	<i>Salmonella</i>
Είδος	<i>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium</i>

Οι κύριες πηγές μόλυνσης από *Salmonella* στα προϊόντα κρέατος συνδέονται συνήθως με το περιβάλλον και τις πρακτικές χειρισμού σε όλη την αλυσίδα παραγωγής. Μια

σημαντική πηγή επιμόλυνσης είναι μέσω της γαστρεντερικής οδού των ζώων, η οποία μπορεί να μεταφερθεί στο κρέας κατά τη σφαγή. Η μόλυνση μπορεί επίσης να συμβεί κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, όπου η επαφή με μολυσμένο εξοπλισμό, επιφάνειες ή νερό μπορεί να εισάγει τα βακτήρια στο κρέας (Fries, 2002). Επιπλέον, οι ανεπαρκείς πρακτικές υγιεινής μεταξύ των χειριστών τροφίμων ή του προσωπικού των εγκαταστάσεων επεξεργασίας μπορεί να οδηγήσουν σε διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία και τη συσκευασία. Το κακής ποιότητας νερό που χρησιμοποιείται σε διαδικασίες επεξεργασίας ή καθαρισμού μπορεί επίσης να αποτελέσει πηγή μόλυνσης από σαλμονέλα (Ricke et al, 2015).

Ενώ τα πουλερικά και τα αυγά αποτελούν συνήθεις πηγές μόλυνσης, αναφέρονται επίσης κρούσματα σε προϊόντα κρέατος και αλλαντικών (EFSA and ECDC, 2022). Η σαλμονέλωση οδηγεί σε συμπτώματα όπως διάρροια, κοιλιακό άλγος και μερικές φορές σε τυφοειδή πυρετό (Majowicz et al, 2010). Η επαρκής θερμική επεξεργασία εξαλείφει αποτελεσματικά τη μόλυνση από σαλμονέλα στα τρόφιμα (EFSA and ECDC, 2022).

3. ΕΝΕΡΓΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

3.1 Συσκευασία

Η συσκευασία αποτελεί το τελευταίο στάδιο της επεξεργασίας ενός τροφίμου ,και διαδραματίζει εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην προστασία του από μικροβιακές αλλοιώσεις που επηρεάζουν τη διάρκεια ζωής του. Δεδομένου ότι στόχο της συσκευασίας αποτελεί η διατήρηση του προϊόντος με τον πιο οικονομικά αποδοτικό τρόπο, που να συμμορφώνεται με τις νομοθετικές απαιτήσεις, να ανταποκρίνεται στις ανάγκες του καταναλωτή, να συμβάλλει στη διατήρηση της ασφάλειας του τροφίμου και της προστασίας του περιβάλλοντος, το εν λόγω θέμα απασχολεί όλο και περισσότερο τις βιομηχανίες τροφίμων και ποτών (Marsh and Bugusu, 2007).

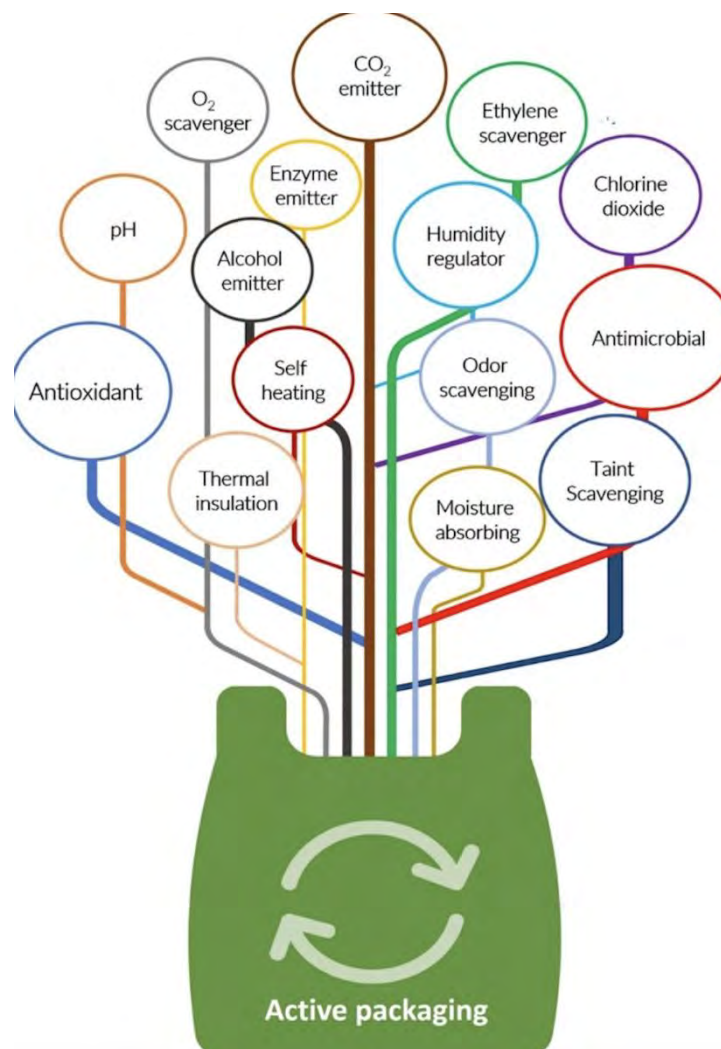
Τα τελευταία χρόνια το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στη χρήση συσκευασιών με φυσικές αντιμικροβιακές ιδιότητες που εμποδίζουν την ανάπτυξη αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών, και πληρούν τις απαραίτητες προδιαγραφές σε φραγμούς. Η συγκεκριμένη τεχνολογική καινοτομία επιδρά σημαντικά στην επέκταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων (Sofi et al, 2017).

Η ενεργός συσκευασία αποτελεί μία καινοτόμο προσέγγιση που είναι ικανή να επεκτείνει την διάρκεια ζωής του τροφίμου διασφαλίζοντας παράλληλα τη διατήρηση της ποιότητας του, της ασφάλειας του και την ακεραιότητα του. Εξίσου σημαντικό κριτήριο για την επιλογή της ενεργούς συσκευασίας είναι ότι ανταποκρίνεται στις προαναφερθείσες ιδιότητες χωρίς να επιβαρύνει το περιβάλλον (Yildirim et al, 2018).

3.2 Ενεργός συσκευασία

Η ενεργός συσκευασία αποτελεί μια νέα μέθοδο που έχει αναπτυχθεί λόγω των συνεχόμενων αλλαγών των απαιτήσεων του καταναλωτή και των τάσεων της αγοράς. Έχει διαπιστωθεί πως πλέον υπάρχει αυξημένη ζήτηση για προϊόντα που υφίστανται τη χαμηλότερη δυνατή επεξεργασία, που διατηρούν τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους, και έχουν όσο το δυνατόν γίνεται μεγαλύτερη διάρκεια ζωής (Vermeiren et al, 1999).

Η ενεργός συσκευασία ανταποκρίνεται στις παραπάνω απαιτήσεις καθώς σύμφωνα με τον **Κανονισμό 1935/2004/EK** αποτελείται από υλικά που είναι σχεδιασμένα έτσι ώστε “ σκοπίμως να περιέχουν συστατικά τα οποία ελευθερώνουν ή να απορροφούν ουσίες από τα συσκευασμένα τρόφιμα ή από το περιβάλλον τους”. Λόγω της χρήσης των υλικών αυτών παρατείνεται η διάρκεια ζωής του συσκευασμένου τροφίμου ή ακόμα βελτιώνονται η ποιότητα και η ασφάλεια αυτού (Labuza and Breene, 1989). Στη συγκεκριμένη μέθοδο ενσωματώνονται στη συσκευασία ουσίες με ενεργό δράση, οι οποίες είναι χαμηλού μοριακού βάρους και απελευθερώνονται με σταδιακό ρυθμό (Almasi et al, 2021). Τα υλικά που αποτελούν φορείς των ουσιών αυτών είναι συνήθως πλαστικές εδωδιμες ή μη μεμβράνες, που τοποθετούνται εσωτερικά της κύριας συσκευασίας και έρχονται σε άμεση ή μη επαφή με το τρόφιμο.



Εικόνα 1. Δέντρο ταξινόμησης διαφορετικών τύπων ενεργών συστημάτων συσκευασίας για εφαρμογές τροφίμων, τα οποία βοηθούν στην παράταση της διάρκειας ζωής, στην

παρακολούθηση της φρεσκάδας, στην εμφάνιση πληροφοριών σχετικά με την ποιότητα, στη βελτίωση της ασφάλειας και στη βελτίωση της ευκολίας (Deshmukh et al, 2022).

Για την διατήρηση των φρέσκων τροφίμων και των μακριάς διάρκειας οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν την αφαίρεση ή προσρόφηση οξυγόνου, έλεγχο υγρασίας και οσμών, δέσμευση αιθυλενίου και την απελευθέρωση ή απορρόφηση CO₂, αιθανόλης, αντιοξειδωτικών και αντιμικροβιακών ουσιών (Suppakul et al, 2003).

3.2.1 Βασικές κατηγορίες ενεργού συσκευασίας

Παρακάτω παρουσιάζονται τα ακόλουθα συστήματα ενεργούς συσκευασίας (Suppakul et al, 2003; Smith et al, 1995; Vermeiren et al, 1999; Zafar et al, 2017; Papadakis, 2023):

- **Δέσμευση οξυγόνου (oxygen scavengers):** Το οξυγόνο αποτελεί πολλές φορές παράγοντα-κλειδί που μειώνει την διάρκεια ζωής των προϊόντων. Η δέσμευση του οξυγόνου (το οποίο βρίσκεται είτε στο εσωτερικό της συσκευασίας είτε προέρχεται από το εξωτερικό περιβάλλον) επιβραδύνει αντιδράσεις οξείδωσης όπως τάγγιση, αμαύρωση αλλά και αναστέλλει την ανάπτυξη αερόβιων μικροοργανισμών. Ουσίες που αξιοποιούνται για την δέσμευση του οξυγόνου είναι το οξείδιο του σιδήρου, το ασκορβικό οξύ, οι φωτοευαίσθητες χρωστικές, ένζυμα (όπως η οξειδάση της γλυκόζης, η κατεχόλη, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα (όπως το λινολεϊκό οξύ) και οι ζύμες ακινητοποιημένες σε στερεές ύλες. Οι απορροφητές οξυγόνου μπορεί να είναι τοποθετημένοι σε σακίδια (sachets) ή μαξιλαράκια (puds), να είναι ενσωματωμένοι στο υλικό της συσκευασίας ή να έχουν προστεθεί ως επικάλυψη στην εσωτερική επιφάνεια της συσκευασίας. Εφαρμόζονται στη συσκευασία κρέατος και προϊόντων του, καφέ, προϊόντων αρτοποιίας και μπίρας καθώς και άλλων ποτών.

- **Απορρόφηση ή απελευθέρωση CO₂ (carbon dioxide absorbers or emitters):**

Το CO₂ αποτελεί αέριο που δρα αντιμικροβιακά με αποτέλεσμα την επέκταση της διάρκειας ζωής ενός προϊόντος αλλά μειώνει και την προς τα μέσα κατάρρευση της συσκευασίας λόγω της δημιουργίας κενού. Η εφαρμογή του είναι εξαιρετικά χρήσιμη

σε φρέσκο κρέας, πουλερικά, ψάρια και τυριά. Η απελευθέρωση του μπορεί να γίνει είτε με ανθρακικό σίδηρο, ο οποίος επειδή είναι πολύ ασταθής προστίθενται σε συνδυασμό με καταλύτες για ρύθμιση της ταχύτητας της αντίδρασης του με το CO₂ και το O₂, είτε με τη χρήση διττανθρακικών που τοποθετούνται σε μαξιλαράκια και ενεργοποιούνται με την απορρόφηση υγρών που προέρχονται από το προϊόν. Δεδομένου ότι η περίσσεια CO₂ μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητη γεύση και την ανάπτυξη μη επιθυμητής αναερόβιας γλυκόλυσης στα φρούτα, απομακρύνεται με την εφαρμογή υδροξειδίου του ασβεστίου.

- **Δέσμευση αιθυλενίου:** Το αιθυλένιο αποτελεί φυτική ορμόνη που συμβάλλει στην αύξηση του ρυθμού αναπνοής των φρούτων και των λαχανικών επιταχύνοντας την ωρίμανση τους. Η δέσμευση του στα οπωροκηπευτικά κρίνεται απαραίτητη καθώς συμβάλλει στην αποφυγή της ποιοτικής υποβάθμισης τους όπως μαλάκωμα των ιστών και χρωματικές αλλοιώσεις. Ο κύριος παράγοντας απορρόφησης του αιθυλενίου είναι το υπερμαγγανικό κάλιο, που προκαλεί οξείδωση του αιθυλενίου προς CO₂. Επίσης, ως παράγοντας δέσμευσης χρησιμοποιείται και ο ενεργός άνθρακας που τοποθετείται σε υφασμάτινα σακουλάκια τα οποία προστίθενται μέσα στη συσκευασία του τροφίμου.
- **Απελευθέρωση αντιμικροβιακών ουσιών:** Δεδομένου ότι η αλλοίωση των τροφίμων ξεκινά επιφανειακά λόγω της ανάπτυξης αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών, η παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού τους στην επιφάνεια αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την επέκταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη αντιμικροβιακών ουσιών στο υλικό συσκευασίας, οι οποίες απελευθερώνονται σταδιακά και ελεγχόμενα στο τρόφιμο. Πρόκειται για ουσίες που είτε ενσωματώνονται στην μάζα του υλικού συσκευασίας είτε γίνεται επίστρωση τους στην επιφάνεια της συσκευασίας. Λόγω της διεργασίας αυτής μειώνεται και η συγκέντρωση των συντηρητικών στο τρόφιμο καθώς αυτά χρειάζεται να προστεθούν μόνο επιφανειακά και σε ελάχιστη έως μηδενική συγκέντρωση στην υπόλοιπη μάζα.

- **Έλεγχος υγρασίας:** Για κατηγορίες τροφίμων που είναι επιρρεπή στην πρόσληψη υγρασίας χρειάζονται συσκευασίες με υψηλούς φραγμούς σε υγρασία. Σε περίπτωση παρουσίας νερού σε ανεπιθύμητες ποσότητες αυξάνεται η πιθανότητα ανάπτυξης βακτηρίων και μούχλας, αλλά και ποιοτική υποβάθμιση του τροφίμου. Πιο συγκεκριμένα, η υπερβολική υγρασία μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια της τραγανότητας σε προϊόντα όπως μπισκότα, σε συσσωμάτωση σε διάφορες σκόνες και στην πρόσληψη υγρασίας από υγροσκοπικά προϊόντα όπως οι καραμέλες. Ενώ, η υπερβολική απώλεια υγρασίας μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση των λιπιδίων. Ως απορροφητικοί παράγοντες της υγρασίας χρησιμοποιούνται το silica gel και το οξείδιο του ασβεστίου που συσκευάζονται σε σακίδια από πλαστικό φιλμ με χαμηλούς φραγμούς σε υγρασία. Επίσης μπορούν να ενσωματωθούν και στη συσκευασία. Σε τρόφιμα με υψηλή aw, όπως κρέας, ψάρια, πουλερικά, φρούτα και λαχανικά, τοποθετούνται μαξιλαράκια, που αποτελούνται από δύο στρώματα πολυμερούς, και απορροφούν τα υγρά. Τέτοια πολυμερή, συνήθως, είναι τα πολυακρυλικά άλατα και τα ενοφθαλμισμένα συμπολυμερή του αμύλου. Επιπλέον, απομακρύνουν το νερό που λιώνει κατά την μεταφορά κατεψυγμένων προϊόντων.
- **Απελευθέρωση αντιοξειδωτικών ουσιών:** Τα αντιοξειδωτικά αποτελούν ουσίες που προστίθενται για να επεκτείνουν την διάρκεια ζωής των τροφίμων προστατεύοντας από την οξειδωτική τάγγιση κυρίως σε ξηρά τρόφιμα και σε αυτά που είναι ευαίσθητα στο οξυγόνο. Επίσης, μπορούν να ενσωματωθούν στο πλαστικό προκειμένου να προστατέψουν το πολυμερές από οξειδώσεις.

3.2.2 Εφαρμογές ενεργούς συσκευασίας σε τρόφιμα

Ο παρακάτω πίνακας περιλαμβάνει παραδείγματα πρακτικής εφαρμογής ενεργούς συσκευασίας για κατηγορίες τροφίμων όπως κρέας, ψάρι, καφές, φρούτα, λαχανικά κ.α..

Πίνακας 5. Παραδείγματα πρακτικής εφαρμογής της ενεργούς συσκευασίας σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων (Restuccia et al, 2010; Wyrwa and Barska, 2017).

ΤΥΠΟΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ	ΤΡΟΦΙΜΟ
Προσροφητές οξυγόνου	Ψωμί, κέικ, μπισκότα, ζύμη πίτσας, μαγειρεμένο ρύζι, τυρί, ψάρι, καφές, αναψυκτικά, σνακς, καπνιστό κρέας και προϊόντα αλιπάσωσης, αφεψήματα σε σκόνη, αποξηραμένα φρούτα, αποξηραμένα τρόφιμα
Απορροφητές CO ₂	Αλεσμένος καφές
Συστήματα εκπομπής CO ₂	Κρέας, ψάρι, σνακς, ψημένος αλεσμένος καφές, αρτοσκευάσματα
Προσροφητές αιθυλενίου	Φρούτα (ακτινίδιο, μπανάνα, αβοκάντο), λαχανικά
Απελευθέρωση αντιμικροβιακών ουσιών	Φρέσκα φρούτα και λαχανικά, προϊόντα κρέατος, τυρί, αρτοσκευάσματα
Απελευθέρωση αντιοξειδωτικών ουσιών	Δημητριακά
Συστήματα ελέγχου υγρασίας	Κρέας, πουλερικά, ψάρι, χυμοί, φρούτα, δημητριακά, γαλακτοκομικά, ξηρά και αποξηραμένα προϊόντα
Συστήματα ελέγχου οσμών	Χυμοί, αλεσμένος καφές

3.3 Βιοαποικοδομήσιμα φιλμ

Οι συσκευασίες αποτελούν διαρκώς αυξανόμενης σημασίας θέμα για τις βιομηχανίες τροφίμων. Στην προσπάθεια εφαρμογής ενός μοντέλου πιο αειφόρου παραγωγής, το

ενδιαφέρον έχει στραφεί στην αξιοποίηση βιοαποικοδομήσιμων υλικών που συμβάλλουν στην μείωση των αποβλήτων. Τα βιοαποικοδομήσιμα υλικά παράγονται από βιοπολυμερή, τα οποία μπορεί να είναι προϊόντα βιομάζας, να προέρχονται από μικροοργανισμούς, από ελαιοπαραγωγή, και να είναι προϊόντα βιοτεχνολογίας (Malathi et al, 2014).

Τα βιοαποικοδομήσιμα φιλμ αποτελούνται από στρώματα τα οποία είτε περιέχουν ένα συστατικό είτε συνδυασμό αυτών. Τα συστατικά αυτά μπορεί να είναι πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και λιπίδια. Μεταξύ αυτών, οι πολυσακχαρίτες παρουσιάζουν ευρεία εφαρμογή λόγω του χαμηλού τους κόστους, της διαθεσιμότητας τους, της μη τοξικής τους δράσης και του χαμηλού περιβαλλοντικού τους αποτυπώματος (Khalil et al, 2017).

3.4 Βασικές κατηγορίες βιοπολυμερών για συσκευασίες τροφίμων

3.4.1 Άμυλο

Το άμυλο αποτελεί φυσικό πολυμερές γλυκόζης, το οποίο υπάρχει με την μορφή αμυλοκόκκων που περιλαμβάνουν την αμυλόζη (τα μόρια γλυκόζης σε ευθεία διάταξη) και την αμυλοπηκτίνη (τα μόρια γλυκόζης σε διακλαδισμένη διάταξη). Δεδομένου ότι κατά τη διάσπαση του προκύπτουν μόρια γλυκόζης τα οποία αξιοποιεί το φυτό για παραγωγή ενέργειας, η λειτουργία του χαρακτηρίζεται ως “αποταμιευτική”. Υπάρχουν τρεις τρόποι με τους οποίους το άμυλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοδιασπώμενων πολυμερών. Ο πρώτος είναι η σύνθεση του αμύλου με άλλα πλαστικά με χαμηλό ποσοστό αμύλου προκειμένου να ενισχύσει την βιοαποικοδομησιμότητα των πολυμερών με βάση κάποια λιπαρή ύλη. Άλλο τρόπο αποτελεί η παρασκευή σύνθετου αμύλου με περιεχόμενο αυτού άνω του ήμισυ της μάζας του μίγματος, και ο τρίτος τρόπος περιλαμβάνει την εφαρμογή της τεχνικής της εξώθησης (Malathi et al, 2014; Onyeaka et al, 2022).

Πηγές αμύλου αποτελούν το καλαμπόκι, η πατάτα, το σιτάρι και η ταπιόκα. Η αξιοποίηση του για τον σχεδιασμό συσκευασίας τροφίμων παρουσιάζει αυξανόμενο ενδιαφέρον λόγω της μη παρουσίας τοξινών σε αυτό, της προέλευσης του από ανανεώσιμες πηγές, της βιοαποικοδομησιμότητας του, του χαμηλού περιβαλλοντικού αποτυπώματος του και της ασφάλειας του προς κατανάλωση. Τρόφιμα που μπορούν να συσκευαστούν σε φιλμ

από άμυλο αποτελούν τα φρούτα, τα λαχανικά, διάφορα σνακς και ξηρά προϊόντα (Onyeaka et al, 2022).

3.4.2 Χιτίνη και Χιτοζάνη

Η χιτίνη αποτελεί το δεύτερο σε αφθονία πολυμερές στη φύση μετά την κυτταρίνη. Εμφανίζεται με την μορφή διατεταγμένων κρυσταλλικών μικροϊνιδίων που σχηματίζουν τη δομή στον εξωσκελετό των αρθρόποδων, των εντόμων και στα κυτταρικά τοιχώματα των ζυμών και των μυκήτων (Malathi et al, 2014). Αποτελείται από μονομερή γλυκόζης και μόνο 150.000 τόνοι αυτής είναι διαθέσιμοι για εμπορική χρήση (Guan et al, 2019).

Η χιτοζάνη αποτελεί παράγωγο της αποακετυλίωσης της χιτίνης. Η παρουσία αμινομάδας στην χιτοζάνη προσδίδει διάφορες λειτουργικές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, η αρνητικά φορτισμένη αμινομάδα προσλαμβάνει πρωτόνια και αποκτά θετικό φορτίο με αποτέλεσμα η χιτοζάνη να αποκτά πληθώρα φυσικών, χημικών και βιολογικών ιδιοτήτων. Μεταξύ αυτών είναι η διαλυτότητα, ο σχηματισμός φιλμ, το ιξώδες, οι αντιμικροβιακές ιδιότητες κλπ., που καθιστούν το συγκεκριμένο βιοπολυμερές κατάλληλο για εφαρμογή στη συσκευασία τροφίμων (Wang et al, 2018).

Η εφαρμογή της χιτοζάνης στα τρόφιμα γίνεται είτε με την μορφή εύκαμπτων φιλμ ή μεμβρανών. Τα φιλμ μπορούν να είναι εδώδιμα ή μη ενώ οι μεμβράνες είναι σε όλες τις περιπτώσεις βρώσιμες. Συνεργατικά προστίθενται και άλλα συστατικά για απόκτηση επιπλέον ιδιοτήτων (Priyadarshi and Rhim, 2020). Για την προετοιμασία των φιλμ χιτοζάνης εφαρμόζεται η μέθοδος της διάλυσης σε κατάλληλους διαλύτες, στις περισσότερες περιπτώσεις σε νερό μέτριας-ελαφριάς οξύτητας, και έπειτα απλώνονται σε επιφάνεια προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης.

Οι ιδιότητες των φιλμ εξαρτώνται από πληθώρα παραγόντων όπως το pH του διαλύτη, το είδος του οξέος κ.λ.π. (Priyadarshi and Rhim, 2020). Πρόκειται για υλικά που παρουσιάζουν καλή εκτατότητα και είναι ανθεκτικά σε κραδασμούς συγκριτικά με το υψηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο (HDPE), το χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο (LDPE) και το σελοφάν (Butler et al, 1996). Ωστόσο, επειδή τα φιλμ χιτοζάνης παρουσιάζουν ευαισθησία

στην υγρασία και δεν είναι θερμοπλαστικά, αναμιγνύονται με φυσικά ή συνθετικά πολυμερή, ή ακόμη προστίθενται βιοδραστικές ουσίες όπως πλαστικοποιητές, cross linkers, για να ξεπεραστούν τα εμπόδια αυτά (Pelissari et al, 2011; Van den Broek et al, 2015).

3.4.3 Κυτταρίνη

Η κυτταρίνη αποτελεί τον πιο άφθονο πολυσακχαρίτη σε παγκόσμιο επίπεδο. Είναι πολυμερές κελλοβιόζης, και προέρχεται είτε από φυτικές πηγές, είτε από ορισμένα βακτήρια. Η φυτική προέλευση της αφορά ξυλώδη ή μη ξυλώδη λιγνοκυτταρινούχο βιομάζα, ενώ η μικροβιακή αερόβια βακτήρια, όπως τα οξικά βακτήρια του γένους *Gluconobacter*. Στην τελευταία δεν απαιτείται κάποια χημική παρέμβαση για την απομόνωση της κυτταρίνης από την πρώτη ύλη. Λόγω της ικανότητας του φιλμ, που δημιουργείται, να συγκρατεί την υγρασία, της μηχανικής του αντοχής και της βιοαποικοδομησιμότητας του, χαρακτηρίζεται από ένα μεγάλο εύρος εφαρμογών από τρόφιμα έως λειτουργικά υλικά όπως ηλεκτρονικές συσκευές (Khalil et al, 2017).

Η φυτική κυτταρίνη αποτελεί υποπροϊόν του αγροδιατροφικού τομέα με πηγές τα φρούτα, τα λαχανικά, το βαμβάκι και την ξυλεία (Liu et al, 2021). Παράγωγα της όπως οι αιθέρες, οι εστέρες και τα νάνο προϊόντα κυτταρίνης τα οποία έχουν ευρεία εφαρμογή στην συσκευασία τροφίμων, ιδιαίτερα στα φρούτα και στα λαχανικά, καθώς διαθέτουν τις επιθυμητές ιδιότητες και κατάλληλους φραγμούς για την διατηρησιμότητα του προϊόντος (Liu et al, 2021; David et al, 2019). Πιο συγκεκριμένα, η κυτταρίνη αξιοποιείται ως υλικό συσκευασίας σε τρόφιμα επειδή διαθέτει καλές οργανοληπτικές ιδιότητες όπως χρώμα, γεύση, μειώνει το μέγεθος της εκάστοτε συσκευασίας, παρέχει δυνατότητα ενσωμάτωσης αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ουσιών και εμποδίζει την μετανάστευση υγρασίας, λιπιδίων και αερίων (Liu et al, 2021; Wang et al, 2021). Παραδείγματα των εφαρμογών της σε τρόφιμα αποτελούν τα φρούτα όπου τα βρώσιμα φιλμ κυτταρίνης, που περιέχουν μεθυλοκυκλοπροπένιο, συμβάλλουν στην παρεμπόδιση της παραγωγής αιθυλενίου, στην προστασία από μικροβιακή αλλοίωση, καθώς τα φρούτα είναι προϊόντα πλούσια σε σάκχαρα, και από αλλοιώσεις κατά την μεταφορά, όπως τραυματισμός του φυτικού ιστού και προσβολή από έντομα (Liu et al, 2021). Μία ακόμη εφαρμογή της αφορά τα φρέσκα λαχανικά όπου εμποδίζεται η απώλεια υφής, που οφείλεται στην κοπή των ινών, η ενσωμάτωση χλωριούχου ασβεστίου, που ενισχύει την υφή του τροφίμου, καθώς και

αντιμικροβιακών ουσιών. Η συσκευασία με κυτταρίνη δρα παρεμποδιστικά στην αλλοίωση και άλλων ειδών τροφίμων όπως το κρέας και τα τυριά (Liu et al, 2021; Youssef et al, 2016; Al-Moghazy et al, 2020; Ala and Shahbazi, 2019; Shavisi et al, 2017).

3.4.4 PLA

Το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) αποτελεί βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές το οποίο προέρχεται από ανανεώσιμες φυτικές πηγές οι οποίες περιέχουν άμυλο, όπως το καλαμπόκι, αλλά ακόμα και από ζαχαροκάλαμο (Chu et al, 2017; Süfer et al, 2017; Zhong et al, 2020). Πιο συγκεκριμένα, παράγεται από τη χημική μετατροπή του αμύλου σε δεξτρόζη, που έπειτα ζυμώνεται προς γαλακτικό οξύ, το οποίο σε τελικό στάδιο πολυμερίζεται και προκύπτει το πολυγαλακτικό οξύ.

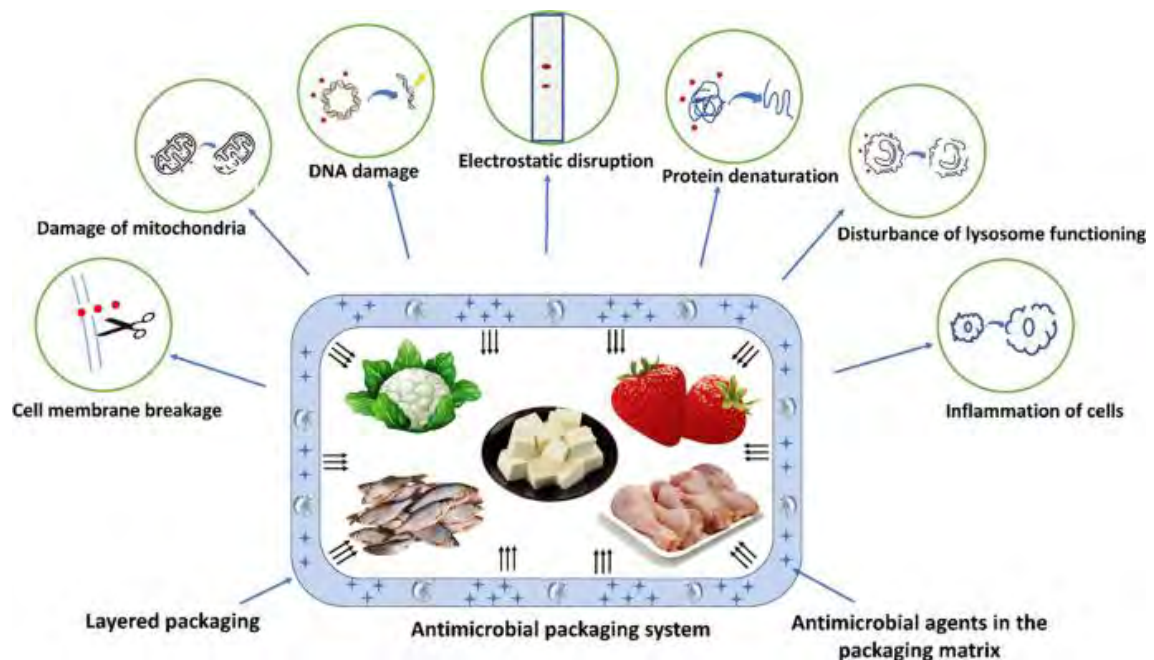
Αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα υλικά για την συσκευασία τροφίμων, καθώς αποσυντίθενται όταν έρχεται σε επαφή με την υγρασία και έτσι συμβάλλει στην αντιμετώπιση της περιβαλλοντικής ρύπανσης. Διαθέτει καλή μηχανική αντοχή και θερμοπλαστικότητα με αποτέλεσμα να αξιοποιηθεί σε πλήθος εφαρμογών (Malek et al, 2021). Μεταξύ των τεχνικών για μετατροπή του PLA σε φιλμ κατάλληλα για τρόφιμα είναι η εξώθηση, η έγχυση, η περιστροφή ινών, ο ψεκασμός και η εφαρμογή ατμοσφαιρικής πίεσης ή κενού (Swetha et al, 2023).

Μεγάλο ενδιαφέρον έχει εκδηλωθεί για την ενσωμάτωση δραστικών ουσιών σε PLA φιλμ. Αυτές περιλαμβάνουν αιθέρια έλαια (π.χ. εκχύλισμα από τσάι του βουνού, λεμονόχορτο), καθώς και αντιμικροβιακών ουσιών, όπως η νισίνη και η θυμόλη. Μέσω της εφαρμογής αυτών προστίθενται στην συσκευασία αντιμικροβιακές ιδιότητες, και μειώνεται η απορρόφηση υγρασίας με αποτέλεσμα να επεκτείνεται η διάρκεια ζωής του προϊόντος (Malek et al, 2021).

3.5 Αντιμικροβιακές ουσίες

3.5.1 Βασικές κατηγορίες αντιμικροβιακών ουσιών

Οι αντιμικροβιακές ουσίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία μιας ενεργούς συσκευασίας μπορεί να είναι φυσικές ή συνθετικές. Δύο είναι οι κύριες μεθοδοι μέσω των οποίων μπορούν να τοποθετηθούν στα υλικά συσκευασίας: μέσω ενσωμάτωσης και μέσω ψεκασμού. Τόσο οι φυσικές όσο και οι συνθετικές αντιμικροβιακές ουσίες διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στη διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων και στην παράταση της διάρκειας ζωής των συσκευασμένων τροφίμων. Με αυτό τον τρόπο ενισχύσουν την ασφάλεια των τροφίμων και να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους (Fadiji et al, 2023).



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση αντιμικροβιακών μηχανισμών υλικού συσκευασίας που περιέχει αντιμικροβιακές ενώσεις για την εφαρμογή του σε τρόφιμα (Deshmukh et al, 2022).

Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι φυσικοί αντιμικροβιακοί παράγοντες είναι οι πολυφαινόλες, η νισίνη, η χιτοζάνη και τα αιθέρια έλαια που προέρχονται από μπαχαρικά, όπως το θυμάρι και η ρίγανη (Sung et al, 2013). Για παράδειγμα, η νισίνη, είναι μια βακτηριοσίνη, η οποία εφαρμόζεται ευρέως στη συσκευασία τροφίμων λόγω της ικανότητάς της να αναστέλλει την ανάπτυξη διαφόρων θετικών κατά Gram βακτηρίων (Han, 2003). Η χιτοζάνη, όπως προαναφέρθηκε είναι ένα φυσικό πολυμερές που προέρχεται από τη χιτίνη, το

οποίο παρουσιάζει επίσης σημαντικές αντιμικροβιακές ιδιότητες (Dutta et al, 2012). Τα αιθέρια έλαια, όπως αυτά του θυμαριού και της ρίγανης, περιέχουν δραστικές ενώσεις, όπως η καρβακρόλη και η θυμόλη, οι οποίες διαθέτουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση (Fang and Bhandari, 2010).

Από την άλλη πλευρά, συνθετικές αντιμικροβιακές ουσίες, όπως νανοσωματίδια αργύρου (AgNPs) και τεταρτοταγείς ενώσεις αμμωνίου (QACs), χρησιμοποιούνται επίσης σε υλικά συσκευασίας τροφίμων. Τα νανοσωματίδια αργύρου έχουν κερδίσει την προσοχή λόγω της ισχυρής αντιμικροβιακής τους δράσης, ενώ οι τεταρτοταγείς ενώσεις αμμωνίου είναι αποτελεσματικές έναντι ευρέος φάσματος μικροοργανισμών (Mohammed and Abdel Aziz, 2019).

3.5.2 Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες είναι μια κατηγορία ενώσεων χαρακτηρίζονται από την παρουσία πολλαπλών δομικών μονάδων φαινόλης και εντοπίζονται σε αφθονία στα φυτά, συμπεριλαμβανομένων των φρούτων, των λαχανικών, των ξηρών καρπών, του τσαγιού, του καφέ, του κακάο (Scalbert and Saltmarsh, 2005; Daglia, 2012). Στην ανθρώπινη διατροφή, οι πολυφαινόλες συνδέονται με διάφορα οφέλη για την υγεία λόγω των αντιοξειδωτικών, αντιφλεγμονωδών και αντικαρκινικών ιδιοτήτων τους (Scalbert and Saltmarsh, 2005).

Όσον αφορά τα τρόφιμα, παρουσιάζουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, εξουδετερώνοντας αποτελεσματικά τις βλαβερές ελεύθερες ρίζες μέσα στις μήτρες των τροφίμων (Choe and Min, 2009). Αυτή η αντιοξειδωτική δράση συμβάλλει στην πρόληψη της οξείδωσης των λιπιδίων και της υποβάθμισης των πρωτεϊνών, παρατείνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής των τροφίμων, διατηρώντας τη φρεσκάδα και την ποιότητά τους (Shahidi and Zhong, 2010). Εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση, οι πολυφαινόλες διαθέτουν επίσης αντιμικροβιακές ιδιότητες (Daglia, 2012). Έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων βακτηρίων και μυκήτων (Cushnie and Lamb, 2011). Η αντιμικροβιακή δράση των πολυφαινολών αποδίδεται στην ικανότητά τους να διαταράσσουν τις μεμβράνες των μικροβιακών κυττάρων, να αναστέλλουν τη δραστηριότητα των μικροβιακών ενζύμων και να παρεμβαίνουν στην αντιγραφή του

μικροβιακού DNA και στη σύνθεση των πρωτεϊνών (Daglia, 2012). Αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει την αποτελεσματικότητα των πολυφαινόλων ως φυσικών αντιμικροβιακών παραγόντων έναντι τροφιμογενών παθογόνων όπως η *Salmonella*, η *Escherichia coli*, η *Listeria monocytogenes* και ο *Staphylococcus aureus* (Friedman, 2006). Οι πολυφαινόλες έχουν επίσης αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση, παρατείνοντας έτσι τη διάρκεια ζωής των τροφίμων (Daglia, 2012).

Η ελαιοευρωπαϊνή ξεχωρίζει ως μία από τις εκτενώς μελετημένες και πολλά υποσχόμενες πολυφαινόλες (Omar, 2010). Συνιστά μία πολυφαινολική ένωση που εντοπίζεται στα φύλλα της ελιάς, έχοντας συγκεντρώσει το ενδιαφέρον για τις αντιμικροβιακές της ιδιότητες, ιδίως στο πλαίσιο της συσκευασίας τροφίμων (Mazzotta et al, 2022). Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την πιθανή εφαρμογή της σε υλικά συσκευασίας τροφίμων για την ενίσχυση της ασφάλειας των τροφίμων και την παράταση της διάρκειας ζωής τους (Musella et al, 2021). Για παράδειγμα, σε μία έρευνα είχε επικεντρωθεί η ενσωμάτωση της ελευρωπαϊκής σε φιλμ συσκευασίας με βάση τη χιτοζάνη για τη δημιουργία ενεργού συστήματος συσκευασίας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, προέκυψε πως το εκχύλισμα πλούσιο σε φαινόλες είχε ισχυρή αντιοξειδωτική και αντιμυκητιακή αποτελεσματικότητα, αναστέλλοντας την ανάπτυξη μικροβίων και συγκεκριμένα του μύκητα-στόχου *Verticillium wilt*, χρησιμοποιώντας μια απλή, φτηνή και φιλική προς το περιβάλλον τεχνική εκχύλισης, καθιστώντας την μέθοδο αυτή πολλά υποσχόμενη για την δημιουργία ενεργών συστημάτων συσκευασίας (Mazzotta et al, 2022).

Η ενσωμάτωση εκχυλισμάτων ή σκευασμάτων πλούσιων σε πολυφαινόλες σε προϊόντα τροφίμων ή υλικά συσκευασίας μπορεί να συμβάλει στην ενίσχυση της ασφάλειας των τροφίμων, στη βελτίωση της διάρκειας ζωής στο ράφι και στην παροχή πρόσθετων ωφελειών για την υγεία των καταναλωτών (Cushnie and Lamb, 2011).

3.5.3 Πολυλυσίνη

Μια τυχαία ανακάλυψη από δύο Ιάπωνες επιστήμονες οδήγησε στον εντοπισμό αντιβακτηριακών ουσιών από στελέχη βακτηρίων στο έδαφος. Απομονώνοντας αυτά τα στελέχη, ανακάλυψαν ότι τα προϊόντα ζύμωσης τους διέθεταν ισχυρές αντιβακτηριακές

ιδιότητες. Περαιτέρω έρευνα αποκάλυψε ότι το καθαρισμένο προϊόν ήταν ένα πολυμερές της L-λυσίνης, που ονομάστηκε ε-πολυλυσίνη (Chen et al, 2023; Lan et al, 2020). Αργότερα, ορισμένες μελέτες επιβεβαίωσαν τη μη τοξική φύση της ε-πολυλυσίνης (Lan et al, 2020). Τα επόμενα χρόνια, η ε-πολυλυσίνη απέκτησε σημαντική απήχηση παγκοσμίως στη συντήρηση τροφίμων. Οι μοναδικές αντιβακτηριακές ιδιότητές της, σε συνδυασμό με τη βιοσυμβατότητά της, την έχουν καταστήσει βασικό πρόσθετο σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των λαχανικών, των προϊόντων κρέατος, των γαλακτοκομικών προϊόντων και άλλων (Chen et al, 2023; Lan et al, 2020). Επιπλέον, παρουσιάζει ευρύ φάσμα αντιβακτηριακών ιδιοτήτων, αναστέλλοντας αποτελεσματικά διάφορα αλλοιογόνα βακτήρια που υπάρχουν στα τρόφιμα, όπως *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* και *Lactobacillus bulgaricus* (Chen et al, 2023).

Η πολυλυσίνη πλέον αποτελεί έναν φυσικό αντιμικροβιακό παράγοντα που προέρχεται από το βακτήριο *Streptomyces albulus* και χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων για την ικανότητά του να αναστέλλει την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών, παθογόνων και μη, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων ζυμών και μούχλας (Wang et al, 2021). Αποτελούμενη συνήθως από 30 μονομερή λυσίνης, η ε-πολυλυσίνη έχει μοριακό τύπο $C_{180}H_{362}N_{60}O_{31}$. Υπάρχει σε δύο μορφές: ε-πολυ-L-λυσίνη και ε-πολυ-D-λυσίνη, με την πρώτη να είναι πιο διαδεδομένη στις πρακτικές εφαρμογές. Τα ανασταλτικά αποτελέσματα της ε-πολυλυσίνης σε βακτήρια και μύκητες εξαρτώνται συχνά από το μοριακό της βάρος (Su et al, 2019).

Έρευνες απέδειξαν την αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα της ε-πολυλυσίνης, ιδίως σε εκχυλίσματα τροφίμων που στερούνται υψηλών επιπέδων πρωτεΐνης, όπως το ρύζι και τα λαχανικά. Αυτά τα υποστρώματα παρουσίασαν άμεση βακτηριοκτόνο δράση κατά την έκθεση στην ε-πολυλυσίνη, με τον αριθμό των παθογόνων (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* και *Listeria monocytogenes*) να μειώνεται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τη διερεύνηση των αντιμικροβιακών επιδράσεων της σε ενεργώς συσκευασμένα τρόφιμα που φέρουν την ε-πολυλυσίνη, καθώς ξεχωρίζει ως μια πολλά υποσχόμενη λύση για τη διασφάλιση της ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων (Geornaras et al, 2007).

3.5.4 Νισίνη

Η νισίνη υπάγεται στην κατηγορία των βακτηριοσινών, και πιο συγκεκριμένα παράγεται από το βακτήριο *Lactococcus lactis* (Khan and Oh, 2016). Οι βακτηριοσίνες αποτελούν ουσίες που παράγονται από τα βακτήρια προκειμένου να καταστείλουν ή να θανατώσουν συγγενικά είδη ή και διαφορετικά στελέχη του ίδιου είδους. Η παραγωγή τους πραγματοποιείται στα ριβοσώματα (Negash and Tsehai, 2020). Η δράση των βακτηριοσινών είναι πιο αποτελεσματική έναντι των gram θετικών βακτηρίων, ενώ στα Gram αρνητικά βακτήρια απαιτείται η εφαρμογή της μεθόδου πολλαπλών εμποδίων προκειμένου να υπάρξει επιθυμητή δράση (Zimina et al, 2020). Πρόκειται για ουσίες των οποίων η χρήση ως συντηρητικά τροφίμων έχει εγκριθεί από το FDA (Food and Drug Administration, US) και από την EFSA (European Food Safety Authority). Διακρίνονται για την μη τοξική τους δράση και για τη θερμοσταθερότητα τους.

Η νισίνη αποτελεί την πιο κοινή βακτηριοσίνη (E234). Ο τρόπος δράσης της αφορά τον σχηματισμό πόρων στις κυτταρικές μεμβράνες μέσω πρόσδεσης και αλληλεπίδρασης της με το λιπίδιο II που αποτελεί πρόδρομο μόριο της πεπτιδογλυκάνης. Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί στην απελευθέρωση βασικών ιόντων με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο (Khan and Oh, 2016). Ιδιαίτερα ευαίσθητα στη δράση της νισίνης είναι τα gram θετικά βακτήρια, όπου περιλαμβάνονται τα γαλακτικά βακτήρια (*LAB*), *Listeria*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus spp.*, καθώς και τα σπορογόνα όπως *Clostridium* και *Bacillus*. Μάλιστα, η δράση της αντιμικροβιακής αυτής ουσίας έναντι των σπορίων είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις βλαστικές μορφές των μικροοργανισμών (Chen and Hoover, 2003). Κύρια χαρακτηριστικά της αποτελούν η θερμική σταθερότητα της και η αντοχή της σε χαμηλού pH περιβάλλοντα (Morris et al, 1984). Είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη σε τυριά, σαλάτες, σούπες-κονσέρβες, ψάρια, παιδικές τροφές, και αρτοσκευάσματα (Hurst, 1981; Samelis et al, 2005). Σύμφωνα με την EFSA, η αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη νισίνης (ADI) είναι 0,13 mg/kg βάρους σώματος. Η συγκέντρωση της που μπορεί να ενσωματωθεί σε διαλύματα μεμβρανών επικάλυψης κυμαίνεται από 500 έως 1800 IU/ml (Milette et al, 2007; Martins et al, 2010; Gadang et al, 2008).

3.5.5 Χιτοζάνη

Η χιτοζάνη, είναι ένας πολυσακχαρίτης που προέρχεται από τη χιτίνη, η οποία αναγνωρίζεται ολοένα και περισσότερο για τις πολυλειτουργικές ιδιότητές της, ιδίως στον τομέα της συσκευασίας τροφίμων (Dutta and Tripathi, 2012). Πέρα από τη βιοδιασπασιμότητα της και τη βιοσυμβατότητα της, η χιτοζάνη παρουσιάζει αξιοσημείωτη αντιμικροβιακή δράση, η οποία προσθέτει ένα επιπλέον επίπεδο προστασίας στα συσκευασμένα τρόφιμα (Rabea et al, 2003). Αυτή η αντιμικροβιακή δράση αποδίδεται σε διάφορους παράγοντες: οι θετικά φορτισμένες αμινομάδες των μορίων χιτοζάνης αλληλεπιδρούν με αρνητικά φορτισμένες μεμβράνες μικροβιακών κυττάρων, διαταράσσοντας την ακεραιότητά τους και οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο (Rabea et al, 2003). Επιπλέον, η χιτοζάνη μπορεί να διεισδύσει στα μικροβιακά κύτταρα, παρεμβαίνοντας σε ζωτικές κυτταρικές διεργασίες και αναστέλλοντας περαιτέρω τη μικροβιακή ανάπτυξη (Rabea et al, 2003).

Μελέτες έχουν καταδείξει την αποτελεσματικότητα των μεμβρανών και επικαλύψεων με βάση τη χιτοζάνη στην παράταση της διάρκειας ζωής διαφόρων προϊόντων διατροφής, αναστέλλοντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών αλλοίωσης και τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών, όπως η *Salmonella*, η *Escherichia coli* και η *Listeria monocytogenes* (Rhim et al, 2006). Επιπλέον, η αντιμικροβιακή δράση της χιτοζάνης παραμένει αποτελεσματική σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών pH και θερμοκρασίας, ενισχύοντας την ευελιξία της για εφαρμογές συσκευασίας τροφίμων (Rhim et al, 2006). Καθώς η ζήτηση των καταναλωτών για φυσικές και βιώσιμες λύσεις συσκευασίας τροφίμων αυξάνεται, η χιτοζάνη αναδεικνύεται ως ένας πολλά υποσχόμενος αντιμικροβιακός παράγοντας, προσφέροντας τόσο λειτουργικά όσο και φιλικά προς το περιβάλλον χαρακτηριστικά, για τη διασφάλιση της ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων σε όλη την αλυσίδα εφοδιασμού (No and Meyers, 1995).

3.5.6 Θυμόλη

Η θυμόλη αποτελεί φυσική μονοτερπενοειδή φαινόλη, που εμπεριέχεται στο αιθέριο έλαιο, το οποίο λαμβάνεται μέσω εκχύλισης από το φυτό *Thymus vulgaris*, γνωστό ως θυμάρι και από το *Origanum vulgare*, γνωστό ως ρίγανη (Escobar et al, 2020). Διακρίνεται για την αντιοξειδωτική της δράση λόγω της ύπαρξης φαινολικών ομάδων που αδρανοποιούν τις

ελεύθερες ρίζες (Heydari et al, 2019; Marchese et al, 2016) και για την αντιμικροβιακή της δράση, καθώς εμποδίζει ή επιβραδύνει την ανάπτυξη μυκήτων και βακτηρίων στα τρόφιμα (Escobar et al, 2020). Η εφαρμογή της ως ασφαλή αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική ουσία (GRAS) τρόφιμα έχει εγκριθεί από το FDA (U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2020).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, έχει βρεθεί ότι ιδιαίτερα αποτελεσματική είναι η αντιμικροβιακή της δράση κατά του Gram θετικού βακτηρίου *Alicyclobacillus acidoterrestris*, το οποίο είναι μη παθογόνο και επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των χυμών φρούτων (Cai et al, 2019). Επειδή η παρουσία αιθερίων ελαίων σε μεγάλη ποσότητα επηρεάζει αρνητικά τη γεύση του τροφίμου, η εφαρμογή τους συνήθως συνδυάζεται και με άλλες ουσίες με ανασταλτική δράση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο συνδυασμός NaCl (σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 15% w/w) με την θυμόλη, που προέρχεται από ρίγανη, για την μείωση του ρυθμού ανάπτυξης στα παθογόνα *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes* και *Staphylococcus aureus* (Kim et al, 2020). Επιπλέον, η θυμόλη αξιοποιείται ως φυσική αντιμικροβιακή ουσία και στην επέκταση της διάρκειας ζωής προϊόντων κρέατος και θαλασσινών αναστέλλοντας την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών όπως *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas spp.*, LAB και άλλα (Burt, 2004; Romero et al, 2015).

3.5.7 Λυσοζύμη

Πρόκειται για ένζυμο το οποίο έχει αντιμικροβιακή δράση και πηγές της αποτελούν το ασπράδι αυγού, τα δάκρυα, το σάλιο, το ανθρώπινο γάλα και η βλέννα (Nawaz et al, 2022). Παραγωγή εμπορικής λυσοζύμης πραγματοποιείται από αποξηραμένο ασπράδι αυγού. Υπάγεται στην κατηγορία των γλυκοσιδικών υδρολασών, το οποίο συνεπάγεται ότι μπορεί να διασπάσει τις αλυσίδες υδατανθράκων των κυτταρικών τοιχωμάτων που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη σχηματοποίηση και στην αντοχή του κυττάρου στην ωσμωτική πίεση. Πιο συγκεκριμένα, το ένζυμο αυτό διασπά τους β-1,4-γλυκοσιδικούς δεσμούς μεταξύ του N-ακετυλομουραμικού οξέος και της N-ακετυλογλυκοζαμίνης της πεπτιδογλυκάνης (Nawan et al, 2022). Με τον τρόπο αυτό διασπάται το κυτταρικό τοίχωμα του βακτηρίου.

Η λυσοζύμη παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα κατά των Gram θετικών βακτηρίων σε σχέση με τα Gram αρνητικά βακτήρια. Αυτό συμβαίνει διότι στα Gram αρνητικά βακτήρια υπάρχει λιγότερη πεπτιδογλυκάνη και μια ανθεκτική προστατευτική μεμβράνη εξωτερικά. Πιο συγκεκριμένα, η μεμβράνη αυτή αποτελείται λιποπολυσακχαρίτες, λιποπρωτεΐνες και φωσφολιπίδια. Η δομή αυτή δημιουργεί μία γέλη χαμηλής ρευστότητας στο κέντρο της μεμβράνης που μπλοκάρει τις πολικές ουσίες, ενώ στην υδρόφιλη περιοχή παρεμποδίζεται η κίνηση των υδρόφοβων μορίων (Ray et al, 2013; Carpenter et al, 2016; Nikaido, 2003). Η ευαισθητοποίηση των Gram αρνητικών βακτηρίων στη λυσοζύμη μπορεί να επιτευχθεί μέσω pH σοκ, θερμικού σοκ, ξήρανσης, διαδοχής κατάψυξης-απόψυξης και ωσμωτικού σοκ (Matthews et al, 2021).

Πρόκειται για θερμοσταθερή ουσία (100°C) και λειτουργεί σε χαμηλό pH (<5,3). Απενεργοποιείται με την μείωση της θερμοκρασίας και την αύξηση του pH (Matthews et al, 2021). Παρεμποδίζει την ανάπτυξη των *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Bacillus cereus*, *Clostridium thermosaccharolyticum* και *Bacillus stearothermophilus* (Nawan et al, 2022; Matthews et al, 2021). Στην Ευρώπη χρησιμοποιείται για αποφυγή της δημιουργίας αερίου στα τυριά και στην Ιαπωνία για τη συντήρηση λαχανικών, θαλασσινών, ζυμαρικών και σαλατών (Matthews et al, 2021).

3.5.8 Λακτοφερρίνη

Η λακτοφερρίνη αποτελεί πρωτεΐνη με αντιμικροβιακές ιδιότητες η οποία βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα στο γάλα, αλλά και στα δάκρυα και το σάλιο. Συγκριτικά με την τρανσφερρίνη που έχει χαμηλή ικανότητα δέσμευσης σιδήρου στο γάλα, η λακτοφερρίνη είναι η κύρια πρωτεΐνη που προσδένεται ο σίδηρος (Farnaud and Evans, 2003). Σε κάθε μόριο λακτοφερρίνης υπάρχουν δύο σημεία πρόσδεσης του σιδήρου. Για κάθε Fe^{+3} που δεσμεύεται από την λακτοφερρίνη απαιτείται ένα ανθρακικό ανιόν (Farnaud and Evans, 2003; Matthews et al, 2021). Συγκεκριμένα στο γάλα, το κιτρικό οξύ εμποδίζει τη δράση της λακτοφερρίνης, ενώ το ανθρακικό ανιόν δρα αντιστρεπτά στην παρεμπόδιση αυτή και για τον λόγο αυτό χρειάζεται για την αποτελεσματική δράση αυτής της αντιμικροβιακής πρωτεΐνης (Matthews et al, 2021).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο σίδηρος είναι απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για σχεδόν όλα τα βακτήρια (Farnaud and Evans, 2003). Η στέρηση του από το περιβάλλον λόγω της πρόσδεσης του στη λακτοφερρίνη οδηγεί σταδιακά σε κυτταρικό θάνατο (Jahani and Shakiba, 2015). Παραδείγματα μικροοργανισμών όπου ο σίδηρος συμβάλλει στην ανάπτυξη τους και η απώλεια του οδηγεί σε παρεμπόδιση αποτελούν τα γένη *Clostridium*, *Escherichia*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Vibrio* και *Yersinia* (Matthews et al, 2021).

3.5.9 Αλλισίνη

Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η εφαρμογή καινοτομιών στην ενεργό συσκευασία μέσω της αξιοποίησης φυσικών βιοδραστικών ουσιών, που προέρχονται από φυτά, με σκοπό την επέκταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος και την αειφόρο παραγωγή (Ahmed et al, 2016; Tawakal et al, 2016; Silva et al, 2011).

Η κατανάλωση και αξιοποίηση του σκόρδου έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια (Tomšik et al, 2017). Κύρια αντιμικροβιακή ουσία του σκόρδου αποτελεί η αλλισίνη. Η συγκεκριμένη ουσία παρουσιάζει αντιμικροβιακή δράση κατά των Gram θετικών και αρνητικών βακτηρίων συμπεριλαμβανομένων των *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Mycobacterium spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* τύπος A, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* και *Staphylococcus aureus* (Matthews et al, 2021). Εκτός από αντιβακτηριακή δράση, η αλλισίνη δρα παρεμποδιστικά στην ανάπτυξη μυκήτων, και, πιο συγκεκριμένα, εμποδίζει τον σχηματισμό μυκοτοξινών (Ankri and Mirelman, 1999; Lawson, 1996). Στους μύκητες εντάσσονται τα γένη και είδη *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* και *Trichosporon spp.* (Matthews et al, 2021).

Στο φλοιό του σκόρδου βρίσκεται η αλλισίνη. Η συγκεκριμένη ουσία μετατρέπεται σε αλλισίνη μέσω της ενζυμικής δράσης της αλλινάσης όταν διαρρηχθούν τα κύτταρα του σκόρδου (Ankri and Mirelman, 1999). Η αλλισίνη εκδηλώνει αντιμικροβιακή δράση μέσω της παρεμπόδισης των ενζύμων των μικροοργανισμών στόχων, που περιέχουν σουλφυδρύλιο (Matthews et al, 2021).

3.5.10 Εφαρμογή βακτηριοφάγων

Τα τροφιμογενή παθογόνα βακτήρια προκαλούν αλλοιώσεις στα τρόφιμα, μειώνουν την ασφάλεια τους και αποτελούν πηγές μόλυνσης και μετάδοσης σε ζώα και καλλιέργειες. Αναστολή της δράσης τους μπορεί να επιτευχθεί με την αξιοποίηση των φάγων, οι οποίοι είναι ιοί που καταστρέφουν το βακτήριο-στόχο σε σύντομο χρονικό διάστημα έπειτα της προσβολής του μικροοργανισμού από αυτούς (Loc-Carrillo and Abedon, 2011; Dalmaso et al, 2014). Όταν ο φάγος μολύνει τα κύτταρα-ξενιστές, παράγει τις πρωτεΐνες λυσίνες, οι οποίες υδrolύουν την πεπτιδογλυκάνη, που είναι βασικό δομικό στοιχείο του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηριακών κυττάρων (Huang et al, 2021).

Οι λυσίνες στοχεύουν κυρίως Gram θετικά βακτήρια και αναστέλλουν την δράση τους, μεταξύ των οποίων σημαντική ανασταλτική δράση εμφανίζεται κατά του *Staphylococcus aureus* (Haddad-Kashani et al, 2018). Ωστόσο, μέσω της γενετικής τροποποίησης έχουν παραχθεί λυσίνες με υψηλή δραστηριότητα έναντι των Gram αρνητικών βακτηρίων, ιδιαίτερα όταν ενισχύονται με ουσίες που λειτουργούν ως διαπεραστές μεμβρανών, όπως EDTA, πολυμυξίνη Β και άλλες (Antonova et al, 2019; Wang et al, 2020; Plotka et al, 2019).

Πίνακας 6 (Μέρος Α'). Συγκεντρωτικός πίνακας μελετών της δράσης αντιμικροβιακών βιοαποικοδομήσιμων φιλμ σε τρόφιμα.

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Τρόφιμο/ Προσομοίωση εφαρμογής	Τρόπος εφαρμογής του αντιμικροβιακού	Ελάχιστη Ανασταλτική Συγκέντρωση ή συγκέντρωση που εφαρμόστηκε σε ενεργό συσκευασία	Βιβλιογραφία
Ελαιοευρωπαϊνή	Προϊόντα κρέατος, θαλασσινά, γαλακτοκομικά προϊόντα και αρτοσκευάσματα	Μέθοδος εξάτμισης με διαλύτη ώστε να εφαρμοστεί σε φιλμ PLA	MIC: 1,25 mg/ml για <i>S. aureus</i> , MIC: 5 mg/ml για <i>L. monocytogenes</i> και MIC: 10 mg/ml για τις δοκιμές <i>E. coli</i> και <i>S. enterica</i>	(Fiorentini et al, 2024)

Πολυλυσίνη	Κρέατα, ψάρια και προϊόντα αρτοποιίας	Με ενσωμάτωση στο φιλμ PLA κατά τον σχηματισμό του.	MIC: 10 µg/mL για <i>S. aureus</i> και για <i>Bacillus subtilis</i> ενώ MIC: 20 µg/mL για τις δοκιμές <i>E. coli</i> και <i>Salmonella spp.</i>	(Namasivayam et al, 2022)
Χιτοζάνη	Φρούτα και λαχανικά, προϊόντα κρέατος και πουλερικών, θαλασσινά, γαλακτοκομικά προϊόντα, προϊόντα αρτοποιίας	Μέσω ενσωμάτωσης ή επίστρωσης σε φιλμ PLA	MIC bacteria: 0,5 mg/ml. MIC fungi: 2 mg/ml.	(Râpă et al, 2016)
Νισίνη	Χυμός πορτοκάλι και υγρό αυγό	Η νισίνη ενσωματώθηκε PLA φιλμ και PLA φιλμ με πηκτίνη μέσω μετά-εξώθησης	100-10000 IU/ml	(Jin et al, 2009)
Θυμόλη	Θερμικά επεξεργασμένες φέτες κοτόπουλου	Πραγματοποιήθηκε ανάμιξη της θυμόλης με το PLA και το κέναφ σε melt mixer	10-30% w/w	(Tawakkal et al, 2017)
Λυσοζύμη	Smoothie με βάση το ρόφημα ρυζιού	Η λυσοζύμη αρχικά διαλυτοποιήθηκε σε πολυβινυλική αλκοόλη και έπειτα απλώθηκε σε PLA φιλμ με αποστειρωμένη σπάτουλα	1250 mg/L	(Glicerina et al, 2021)

Λακτοφερρίνη	Πλάσμα αίματος	Ενσωμάτωση της αντιμικροβιακής πρωτεΐνης στο PLA φιλμ(enzyme immobilization)	136 µg/ml	(Stoleru et al, 2016)
Αλλισίνη	In vitro (nutrient agar)	Προστέθηκε στο διάλυμα PLA και έπειτα με την μέθοδο solution casting δημιουργήθηκε το φιλμ με ενσωματωμένη την αντιμικροβιακή ουσία	0,5-5% w/w	Radusin et al, 2019)
Βακτηριοφάγοι	Μαγειρεμένο στήθος γαλοπούλας	Ενσωμάτωση βακτηριοφάγου A511(12 log ₁₀ PFU/ml) σε φιλμ από κόμμι ξανθάνης και PLA(2% w/v)	0,5-2,0 ml	(Radford et al, 2017)

Πίνακας 6 (Μέρος Β'). Συγκεντρωτικός πίνακας μελετών της δράσης αντιμικροβιακών βιοαποικοδομήσιμων φιλμ σε τρόφιμα.

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Μικρόβια που αναστέλλει	Λοιπές πληροφορίες αποτελεσματικότητας των αντιμικροβιακών φιλμ ή άλλα σημαντικά σχόλια/ευρήματα	Βιβλιογραφία
Ελαιοευρωπαϊνή	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enterica</i>	Περισσότερη ανασταλτική δράση υπήρξε κατά του <i>Staphylococcus aureus</i> σε σύγκριση με τα υπόλοιπα μικρόβια-στόχους ενώ συγχρόνως βελτιώθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες των φιλμ.	(Fiorentini et al, 2024)
Πολυλυσίνη	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp.</i> και <i>Bacillus subtilis</i>	Πέρα από αντιβακτηριακή, παρουσιάζει σημαντική αντιμυκητιακή δράση.	(Namasivayam et al, 2022)

Χιτοζάνη	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Ισχυρότερη η αντιμικροβιακή δράση για το <i>E. coli</i> σε σχέση με τον <i>S. aureus</i> . Η ενσωμάτωση χιτοζάνης σε μεμβράνες PLA ενισχύει τις ιδιότητες φραγμού των μεμβρανών έναντι του οξυγόνου και της υγρασίας, γεγονός που συμβάλλει στη διατήρηση της ποιότητας, της φρεσκάδας και των γενικά των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων.	(Răpă et al, 2016)
Νισίνη	<i>Listeria monocytogenes</i>	Ο συνδυασμός πηκτίνης, PLA και νισίνης αποτέλεσε εμπόδιο στην ανάπτυξη <i>L.monocytogenes</i> στις δύο κατηγορίες τροφίμων	(Jin et al, 2009)
Θυμόλη	<i>Escherichia coli</i>	Η αύξηση της συγκέντρωσης της θυμόλης οδήγησε σε σημαντική μείωση του πληθυσμού <i>E.coli</i>	(Tawakkal et al, 2017)
Λυσοζύμη	<i>Listeria monocytogenes</i>	Παρατηρήθηκε αυξημένη αντιμικροβιακή δράση κατά της <i>Listeria monocytogenes</i> σε θερμοκρασία 10°C σε σχέση με τους 4°C καθώς σε υψηλότερη θερμοκρασία η λυσοζύμη παρουσιάζει ταχύτερο ρυθμό απελευθέρωσης	(Glicerina et al, 2021)
Λακτοφερρίνη	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>	100% αναστολή όλων των βακτηρίων έπειτα από επώαση 48h	(Stoleru et al, 2016)

Αλλισίνη	<i>Escherichia coli</i>	Με την προσθήκη συγκέντρωσης 0,5%w/w παρατηρήθηκε ελαφριά ανασταλτική δράση κατά του μικροοργανισμού στόχου, ενώ με την αύξηση της συγκέντρωσης σε 5%w/w σημειώθηκε σημαντική αντιμικροβιακή δράση	(Radusin et al, 2019)
Βακτηριοφάγοι	<i>Listeria monocytogenes</i>	Μείωση log στον μικροοργανισμό-στόχο: Σε συνθήκες συντήρησης 4°C και στους 10°C σημειώθηκε μείωση του μικροβιακού πληθυσμού κατά 1-2 log(cfu/g) σε σχέση με τα control δείγματα	(Radford et al, 2017)

4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΥΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ PLA ΣΤΗΝ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΡΕΑΤΟΣ

Η χρήση ενεργών συσκευασιών με βάση το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) έχει αποδειχθεί ότι παρατείνει αποτελεσματικά τη διάρκεια ζωής διαφόρων προϊόντων κρέατος. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ενεργή συσκευασία PLA μπορεί να μειώσει σημαντικά τη μικροβιακή ανάπτυξη και την οξείδωση των λιπιδίων, ενισχύοντας έτσι τη διατήρηση της ποιότητας του κρέατος κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Hernández-García et al, 2022). Για παράδειγμα, σε μια από τις μελέτες αυτές, μεμβράνες PLA σε συνδυασμό με φυσικά ενεργά συστατικά, όπως η κιτράλη και το έλαιο κανέλας, διατήρησαν την ποιότητα και τη φρεσκάδα φιλέτων κοτόπουλου για έως και 14 ημέρες περισσότερο σε σύγκριση με τη συμβατική συσκευασία, επιβεβαιώνοντας τη δυνατότητά τους να αντικαταστήσουν τα συμβατικά υλικά συσκευασίας (Sarfranz et al, 2021). Επιπλέον, η ενεργή συσκευασία που ενσωματώνει παράγοντες ρύθμισης της υγρασίας και αντιοξειδωτικά έχει αποδειχθεί επωφελής για τη διατήρηση της ποιότητας των προϊόντων κρέατος, τόσο ξηρής, όσο και υγρής ωρίμανσης (Li et al, 2022).

Ακολουθεί ένας πίνακας που συνοψίζει τα ευρήματα διαφόρων μελετών σχετικά με τον αντίκτυπο της ενεργής συσκευασίας με βάση το PLA στη διάρκεια ζωής διαφόρων προϊόντων κρέατος:

Πίνακας 7. Συνοπτικά Ευρήματα Μελετών για τον Αντίκτυπο της Ενεργής Συσκευασίας με Βάση το PLA στη Διάρκεια Ζωής Προϊόντων Κρέατος

Προϊόν Κρέατος	Ενεργά συστατικά σε PLA	Αποτέλεσμα στη διάρκεια ζωής στο ράφι	Βιβλιογραφία
Φιλέτα κοτόπουλου	Κιτράλη και έλαιο κανέλας	Επέκταση	(Sarfranz et al, 2021)
Μοσχαρίσιος κιμάς	Έλαιο Thymus daenensis, AgNPs	Επέκταση	(Izaldi et al, 2024)
Ψιλοκομμένο στήθος κοτόπουλου	Χιτοζάνη ή μείγμα χιτοζάνης / καζεϊνικού νατρίου εμπλουτισμένο με αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου	Επέκταση	(Fiore et al, 2021)

Βόειο κρέας	Πολυφαινολικά εκχυλίσματα πράσινου τσαγιού και δενδρολίβανου	Επέκταση	(Andrade et al, 2023)
Φιλέτα κοτόπουλου	Έλαιο πορτοκαλιού	Επέκταση	(Yildiz and Aydogdu Emir, 2024)
Κιμάς αρνιού	Νανοχιτοζάνη (NCS) και αιθέριο έλαιο Polylophium involucratum (PEO)	Επέκταση	(Tabatabaee et al, 2020)
Μοσχαρίσιος κιμάς	Αιθέρια έλαια μπαχαρικών	Επέκταση	(Talebi et al, 2018)
Χοιρινό κρέας	Νισίνη και Αιθέριο έλαιο ρίγανης	Επέκταση	(Pabon et al, 2021)
Χοιρινά λουκάνικα	Έλαιο λεμονόχορτου	Επέκταση	(Yang and Song, 2016)

Αυτές οι μελέτες δείχνουν συλλογικά ότι η ενεργή συσκευασία με βάση το PLA, όταν ενισχύεται με αντιμικροβιακούς και αντιοξειδωτικούς παράγοντες, μπορεί να παρατείνει αποτελεσματικά τη διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος μειώνοντας τη μικροβιακή ανάπτυξη και την οξείδωση, διατηρώντας έτσι την ποιότητα και την ασφάλειά τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους συσκευασίας.

5. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 Υλικά

Κατά την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας χρησιμοποιήθηκε ποικιλία από εργαστηριακά όργανα και συσκευές, σκεύη, υδατικά διαλύματα, θρεπτικά υποστρώματα και συμπληρώματα, υλικά συσκευασίας και δείγματα συσκευασμένων προϊόντων κρέατος.

5.1.1 Εργαστηριακά όργανα και συσκευές

- **Αναλυτικός ζυγός ακριβείας:** Χρησιμοποιήθηκε κυρίως για την ζύγιση της απαιτούμενης σκόνης για την παρασκευή των θρεπτικών υποστρωμάτων.



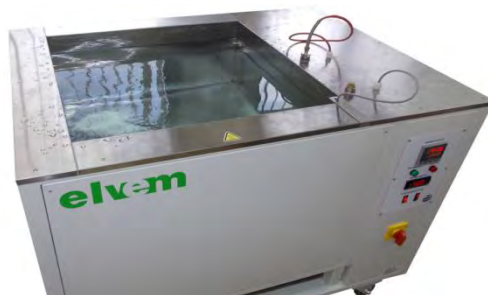
Εικόνα 3. Αναλυτικός ζυγός ακριβείας (<https://www.why.gr/>)

- **Θερμαντικός μαγνητικός αναδευτήρας:** Χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή και αποστείρωση θρεπτικών υποστρωμάτων.



Εικόνα 4. Θερμαντικός μαγνητικός αναδευτήρας (<https://www.achema.gr/>)

- **Υδατόλουτρο:** Χρησιμοποιήθηκε για το ξεπάγωμα ή/και για την διατήρηση των θρεπτικών υποστρωμάτων σε ορισμένη θερμοκρασία.



Εικόνα 5. Υδατόλουτρο (<http://elvem.gr/>)

- **Θάλαμος νηματικής ροής Telstar:** Στον θάλαμο πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις, υπό ασηπτικές συνθήκες.



Εικόνα 6. Θάλαμος νηματικής ροής Telstar (<https://www.technolab.gr/>)

- **Λύχνος Bunsen:** Χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία ασηπτικών συνθηκών στον περιβάλλοντα χώρο, εντός κι εκτός θαλάμου νηματικής ροής, αλλά και για τον καυτηριασμό / αποστείρωση ορισμένων εργαστηριακών εργαλείων π.χ. ράβος επίστρωσης



Εικόνα 7. Λύχνος Bunsen (<https://www.achema.gr/>)

- **Συσκευή αεροστεγούς σφραγίσματος κενού αέρος:** Χρησιμοποιήθηκε ώστε να δημιουργηθούν οι συσκευασίες των δειγμάτων υπό κενό.



Εικόνα 8. Συσκευή αεροστεγούς σφραγίσματος κενού αέρος (<https://www.skroutz.gr/>)

- **Ομογενοποιητής STOMACHER:** Χρησιμοποιήθηκε με σκοπό τη μείωση της πυκνότητας των μικροοργανισμών στο δείγμα, με τη βοήθεια αραιωτικών υγρών, καθιστώντας το κατάλληλο για περαιτέρω μικροβιολογικές αναλύσεις, όπως η καλλιέργεια σε θρεπτικά μέσα.



Εικόνα 9. Ομογενοποιητής STOMACHER (<https://www.analytika.gr/>)

- **Πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου:** Χρησιμοποιήθηκαν πιπέτες με αποστειρωμένα tips κατά την διάρκεια της μικροβιολογικής ανάλυσης για ποσότητες διαφόρων όγκων (0.1 ml, 0.5 ml, 1 ml, 5 ml)



Εικόνα 10. Πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου (<https://www.medicalsolutions.gr/>)

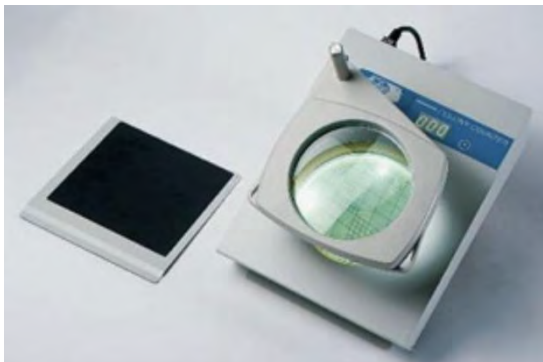
- **Επωαστικός κλίβανος:** Χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια μικροοργανισμών (βακτήρια, μύκητες, κλπ.) σε σταθερή θερμοκρασία, η οποία μπορεί να ρυθμιστεί για συγκεκριμένες ανάγκες (συνήθως 37°C).



Εικόνα 11. Επωαστικός κλίβανος

(<https://leptokaropoulos.gr/index.php?route=common/home>)

- **Μετρητής αποικιών:** Χρησιμοποιήθηκε για την ακριβή καταμέτρηση των αποικιών μικροοργανισμών σε τρυβλία Petri μετά την καλλιέργειά τους.



Εικόνα 12. Μετρητής αποικιών (<https://www.analytika.gr/>)

- **Κλίβανος αποστείρωσης:** Χρησιμοποιήθηκε για την αποστείρωση εργαστηριακών εργαλείων, όπως μεταλλικά αντικείμενα, γυάλινα είδη, θρεπτικών υποστρωμάτων και άλλα ανθεκτικά στη θερμότητα υλικά μέσω ξηρής θερμότητας



Εικόνα 13. Κλίβανος αποστείρωσης (<https://www.why.gr/>)

5.1.2 Σκεύη

- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Μπουκάλια DURAN (250 ml, 500 ml, 1 L)
- Τρυβλία Petri

- Ψυγεία (θερμοκρασίας 4 °C και 8 °C)
- Αποστειρωμένες σακούλες STOMACHER
- Μαχαίρια και λαβίδες
- Γάντια και μάσκα

5.1.3 Υδατικά διαλύματα

- Απιονισμένο νερό
- Αιθυλική αλκοόλη (70% v/v)
- Maximum Recovery Diluent (MRD)

5.1.4 Θρεπτικά υποστρώματα και συμπληρώματα

Οι μικροοργανισμοί πάνω στους οποίους μελετήθηκε η αντιμικροβιακή δράση, ανάλογα με το εκάστοτε τρόφιμο ήταν: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, OMX (Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα), *Enterobacteriaceae*, Οξυγαλακτικά βακτήρια, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, Μύκητες (ζύμες, μούχλες), *Pseudomonas spp.*.

Για τον χοιρινό κιμά (εμβολιασμένο και μη) χρησιμοποιήθηκε το Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) Medium (Dehydrated), το Baird-Parker Agar Base PH EUR, MRS Agar (de man, Rogosa, Sharpe), το Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA), το Plate Count Agar (Tryptone Glucose Yeast Agar), το Oxford Listeria Agar Base και το XLD Medium Agar. Για τις φέτες παστεριωμένης γαλοπούλας χρησιμοποιήθηκε το Plate Count Agar (Tryptone Glucose Yeast Agar), το MRS Agar (de man, Rogosa, Sharpe), το Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) και το Pseudomonas Agar Base. Τέλος, για το ζυμούμενο σαλάμι αέρος χρησιμοποιήθηκε το Potato Dextrose Agar (EP, USP, JP, BP).



Εικόνα 14. Θρεπτικά υποστρώματα

Επιπλέον, εφαρμόστηκαν τα ακόλουθα συμπληρώματα σε συγκεκριμένα θρεπτικά υποστρώματα προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη εκλεκτικότητα:

- Στο Oxford Listeria Agar Base προστίθενται το Oxford Supplement (με την ναταμυκίνη), χρησιμοποιώντας 5 ml αποστειρωμένης αιθανόλης 50% ως διαλύτη.
- Στο Baird-Parker Agar Base PH EUR, MRS Agar (de man, Rogosa, Sharpe) προστίθενται 50 ml/L egg-yolk tellurite emulsion.
- Στο Pseudomonas Agar Base προστίθενται πριν τον βρασμό του θρεπτικού υποστρώματος 10 ml/L γλυκερόλη και έπειτα του βρασμού και πριν της χρήσης του σε τρυβλία προστίθενται μείγμα 5 ml/L καθαρής αιθανόλης με 5 ml/L απιονισμένο αποστειρωμένο νερό.

5.1.5 Υλικά συσκευασίας

Τα υλικά συσκευασίας που χρησιμοποιήθηκαν, χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με την κατασκευή τους. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει το υλικό που αποτελείται από PLA (πολυγαλακτικό οξύ - μάρτυρας). Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει το υλικό κατασκευασμένο από PA/PE (πολυαιθυλένιο/πολυαμίδιο). Στην τρίτη κατηγορία ανήκει το υλικό που κατασκευάστηκε από PLA και επιστρώθηκε σε αυτό μέσω ψεκασμού 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus. Τέλος, η τέταρτη κατηγορία περιλαμβάνει το υλικό που κατασκευάστηκε από PLA και επιστρώθηκε σε αυτά μέσω ψεκασμού ένα μείγμα που αποτελείται από 2,5% πολυφαινόλη Medoliva Plus και 7,5% ε-PL. Οι ουσίες που εντοπίζονται στα δύο τελευταία υλικά έχουν προστεθεί με την μέθοδο του ψεκασμού, υλοποιημένη από εξωτερικό συνεργάτη του εργαστηρίου.

5.1.6 Δείγματα συσκευασμένων προϊόντων κρέατος

Σχετικά με τον νωπό χοιρινό κιμά (φυσική μικροχλωρίδα) αποθηκεύτηκαν 32 δείγματα στους 4°C και 24 δείγματα στους 10°C. Στο σύνολο τους εξετάστηκαν 56 δείγματα. Αναφορικά με τον νωπό χοιρινό κιμά (εμβολιασμένος με παθογόνα) αποθηκεύτηκαν 32 δείγματα στους 4°C και 32 δείγματα στους 10°C. Συνολικά εξετάστηκαν 64 δείγματα. Για τις παστεριωμένες φέτες γαλοπούλας αποθηκεύτηκαν 36 δείγματα στους 4°C και 36 δείγματα στους 10°C. Στο σύνολο τους μελετήθηκαν 72 δείγματα. Τέλος, σχετικά με το ζυμούμενο σαλάμι αέρος, αποθηκεύτηκαν και εξετάστηκαν 36 δείγματα μόνο στην θερμοκρασία των 10°C.

5.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

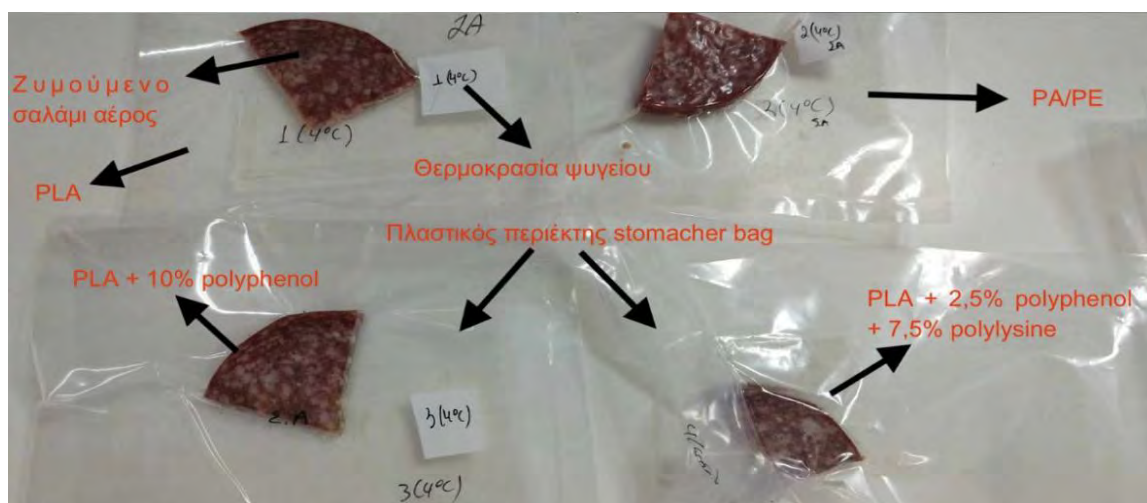
Οι μέθοδοι που ακολουθήθηκαν για την παρασκευή των υποστρωμάτων τηρούσαν αυστηρά τις οδηγίες της εκάστοτε κατασκευαστικής εταιρείας. Η παρασκευή των διαλυμάτων και υποστρωμάτων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας απιονισμένο νερό, ενώ η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση αυτόκαυστου στους 121 °C για 15 λεπτά.

5.2.1 Εμβολιασμένος και μη χοιρινός κιμάς

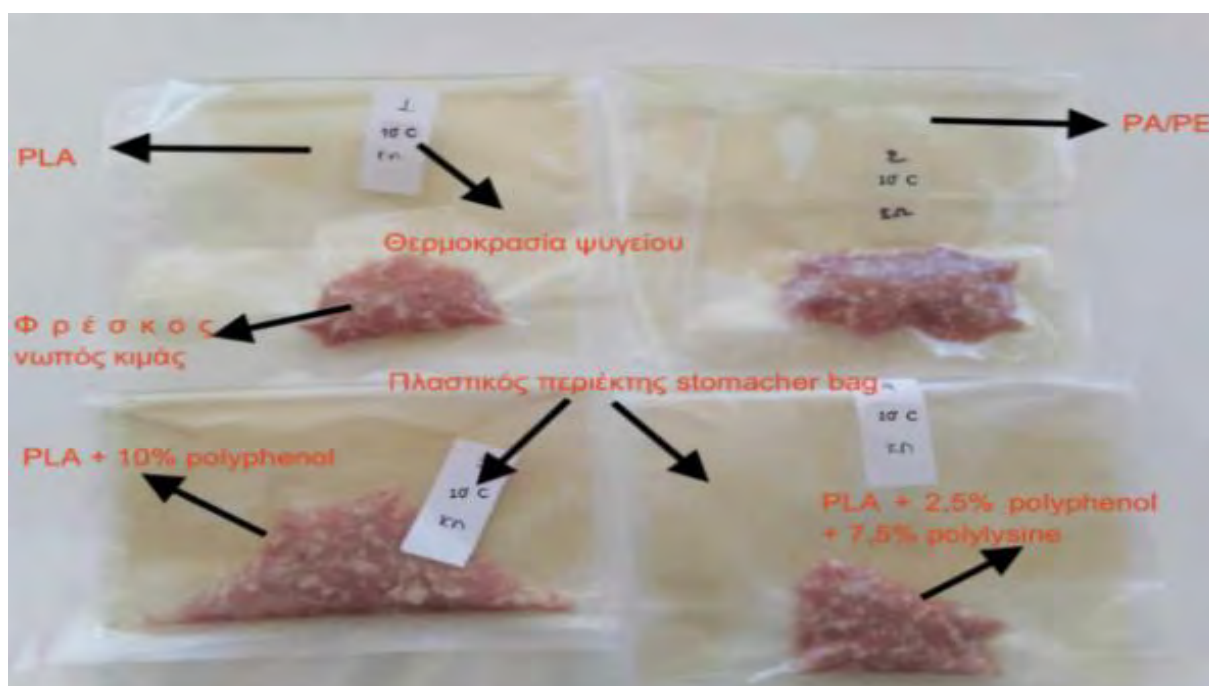
Σε αντίθεση με τα δείγματα παστεριωμένης γαλοπούλας και σαλαμιού αέρος, τα οποία δεν δέχθηκαν καμία επεξεργασία με σκοπό την μεταβολή του μικροβιακού τους φορτίου, τα δείγματα του κιμά υπέστησαν προσθήκη μικροβιακού φορτίου. Πιο συγκεκριμένα, ο μη εμβολιασμένος κιμάς παραμένει ως έχει και εξετάστηκε ως προς την φυσική του μικροχλωρίδα, ενώ ο εμβολιασμένος κιμάς υπέστη προσθήκη αραιωμένης καλλιέργειας 5 mL/kg *Escherichia coli*, 5 mL/kg *Staphylococcus aureus*, 5 mL/kg *Listeria monocytogenes* και 5 mL/kg *Salmonella typhimurium*. Οι καλλιέργειες που χρησιμοποιήθηκαν προϋπήρχαν ήδη στον χώρο του εργαστηρίου.

5.2.2 Συσκευασία δειγμάτων

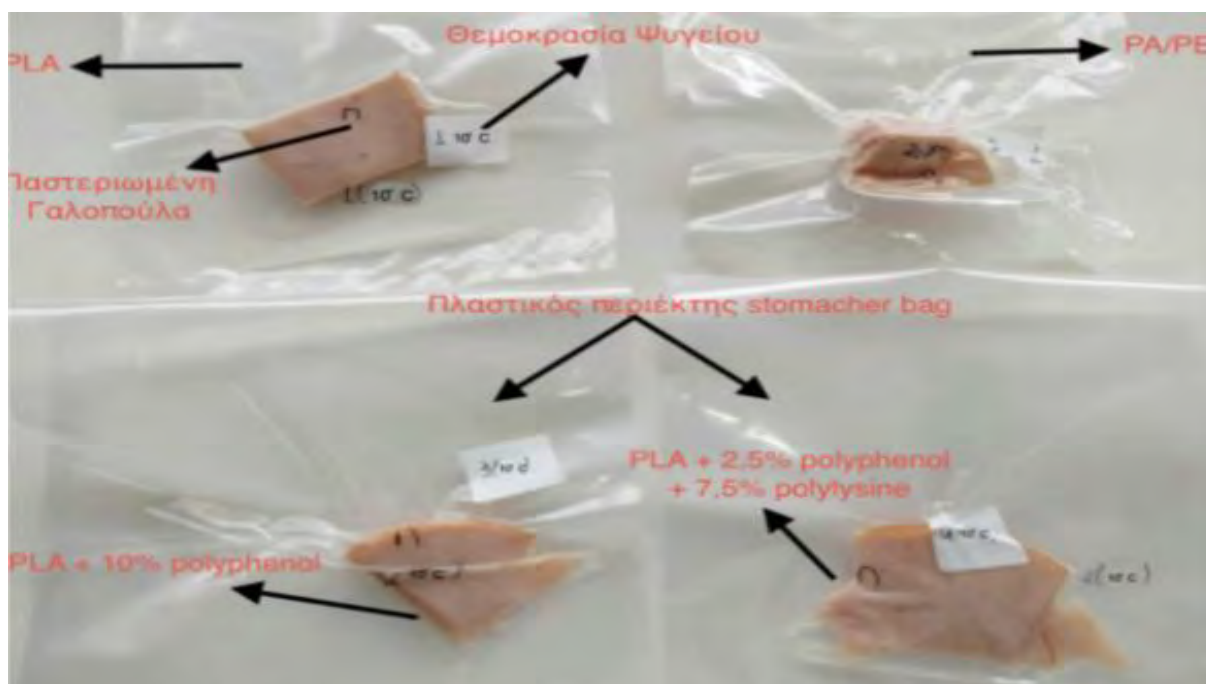
Ποσότητα 50 g από κάθε δείγμα, μεταφέρεται υπό ασηπτικές συνθήκες εντός του εκάστοτε υλικού συσκευασίας, με τέτοιο τρόπο ώστε το δείγμα να έρχεται σε επαφή εξ' ολοκλήρου με το υπό μελέτη υλικό. Στη συνέχεια, τα δείγματα αυτά συσκευάζονται εκ νέου εντός πλαστικού περιέκτη stomacher bag υπό κενό, με τη συσκευή αεροστεγούς σφραγίσματος κενού αέρος. Ωστόσο, στην περίπτωση των δύο πρώτων υλικών που δεν φέρουν καμία αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή ουσία στην επιφάνεια τους, τα δείγματα συσκευάστηκαν εξ' αρχής μέσα στα υλικά αυτά, χωρίς την εξωτερική προστασία πλαστικού περιέκτη stomacher bag. Έπειτα, στα δείγματα επικολλήθηκαν ετικέτες, που αναγράφουν το προς μελέτη υλικό συσκευασίας που έχει εγκολπωθεί το δείγμα, καθώς επίσης και την θερμοκρασία του ψυγείου στην οποία αποθηκεύτηκαν.



Εικόνα 15. Επεξήγηση συσκευασίας και επισήμανσης δειγμάτων ζυμούμενου σαλαμιού αέρος



Εικόνα 16. Επεξήγηση συσκευασίας και επισήμανσης δειγμάτων φρέσκου νωπού κιμά.



Εικόνα 17. Επεξήγηση συσκευασίας και επισήμανσης δειγμάτων παστεριωμένης γαλοπούλας σε φέτες.

5.2.3 Ομογενοποίηση δειγμάτων

Ποσότητα 10 g από κάθε δείγμα, το οποίο είναι αντιπροσωπευτικό όλων των επιπέδων μάζας του, τοποθετείται μέσα σε ένα πλαστικό περιέκτη stomacher bag υπό ασηπτικές συνθήκες. Στη συνέχεια, προστίθενται 90ml αποστειρωμένου διαλύματος MRD (Maximum Recovery Diluent) στον περιέκτη. Ο πλαστικός περιέκτης τοποθετείται μέσα στη συσκευή STOMACHER και το δείγμα ομογενοποιείται εντός αυτού για ένα λεπτό. Για όλα τα δείγματα (χοιρινό, γαλοπούλα και σαλάμι) αυτή η ομογενοποίηση αποτελεί συγχρόνως την αραιώση 10^{-1} .

5.2.4 Προσδιορισμός *Escherichia coli*

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω ενσωμάτωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο

περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) Medium (Dehydrated) και 1 ml αραιωμένου δείγματος. Η ανάμιξη αυτών επιτυγχάνεται εφαρμόζοντας ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Στο τέλος, εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 44 °C για 18 - 24 ώρες.

5.2.5 Προσδιορισμός *Staphylococcus aureus*

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Πριν τον εμβολιασμό, προστίθενται 50 ml/L egg-yolk tellurite emulsion υπό ασηπτικές συνθήκες. Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω επίστρωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος Baird-Parker Agar Base PH EUR. Εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, προστίθενται 0,1 ml της προηγούμενης από την υπό μελέτη αραιώση μέσω πιπέτας και με αποστειρωμένη ράβδο επίστρωσης απλώνουμε με κυκλικές κινήσεις το εμβόλιο, ώστε να απορροφηθεί σε όλη την επιφάνεια του υποστρώματος. Τέλος, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 37 °C για 24 - 48 ώρες.

5.2.6 Προσδιορισμός Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω ενσωμάτωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος Plate Count Agar (Tryptone Glucose Yeast Agar) και 1 ml αραιωμένου δείγματος. Η ανάμιξη αυτών επιτυγχάνεται εφαρμόζοντας ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Στο τέλος, εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 37 °C για 24 - 48 ώρες.

5.2.7 Προσδιορισμός *Enterobacteriaceae*

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω ενσωμάτωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) και

1 ml αραιωμένου δείγματος. Η ανάμιξη αυτών επιτυγχάνεται εφαρμόζοντας ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Στο τέλος, εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 37°C για 24 ώρες.

5.2.8 Προσδιορισμός Οξυγαλακτικών βακτηρίων

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω ενσωμάτωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος MRS Agar (de man, Rogosa, Sharpe) και 1 ml αραιωμένου δείγματος. Η ανάμιξη αυτών επιτυγχάνεται εφαρμόζοντας ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Στο τέλος, εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 37°C για 2 - 3 ημέρες.

5.2.9 Προσδιορισμός *Listeria monocytogenes*

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Πριν τον εμβολιασμό, προστίθενται το Oxford Supplement (με την ναταμυκίνη), χρησιμοποιώντας 5 ml αποστειρωμένης αιθανόλης 50% ως διαλύτη υπό ασηπτικές συνθήκες. Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω επίστρωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος Oxford Listeria Agar Base. Εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, προστίθενται 0,1 ml της προηγούμενης από την υπό μελέτη αραιώση μέσω πιπέτας και με αποστειρωμένη ράβδο επίστρωσης απλώνουμε με κυκλικές κινήσεις το εμβόλιο, ώστε να απορροφηθεί σε όλη την επιφάνεια του υποστρώματος. Τέλος, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 37°C για 24 - 48 ώρες.

5.2.10 Προσδιορισμός *Salmonella typhimurium*

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω ενσωμάτωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος XLD Medium Agar και 1 ml αραιωμένου

δείγματος. Η ανάμιξη αυτών επιτυγχάνεται εφαρμόζοντας ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Στο τέλος, εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 37 °C για 18-24 ώρες.

5.2.11 Προσδιορισμός Μύκητες (ζύμες, μούχλες)

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω ενσωμάτωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος Potato Dextrose Agar (EP, USP, JP, BP) και 1 ml αραιωμένου δείγματος μέσω πιπέτας. Η ανάμιξη αυτών επιτυγχάνεται εφαρμόζοντας ήπιες περιστροφικές κινήσεις. Τέλος, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 20 - 25°C για 5 - 7 ημέρες.

5.2.12 Προσδιορισμός *Pseudomonas spp.*

Λαμβάνεται από τον πλαστικό περιέκτη stomacher bag η αραιώση 10^{-1} και στην συνέχεια παρασκευάζονται οι περαιτέρω διαδοχικές αραιώσεις (όπου και όσες χρειάζονται). Πριν τον εμβολιασμό, προστίθενται πριν τον βρασμό του θρεπτικού υποστρώματος 10 ml/L γλυκερόλη και έπειτα του βρασμού και πριν της χρήσης του σε τρυβλία προστίθενται μείγμα 5 ml/L καθαρής αιθανόλης με 5 ml/L απιονισμένο αποστειρωμένο νερό. Έπειτα, εφαρμόζεται ο εμβολιασμός μέσω επίστρωσης με προσθήκη σε κάθε τρυβλίο περίπου 20 ml υγρού θρεπτικού υποστρώματος *Pseudomonas Agar Base*. Εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, προστίθενται 0,1 ml της προηγούμενης από την υπό μελέτη αραιώση μέσω πιπέτας και με αποστειρωμένη ράβδο επίστρωσης απλώνουμε με κυκλικές κινήσεις το εμβόλιο, ώστε να απορροφηθεί σε όλη την επιφάνεια του υποστρώματος. Στο τέλος, εφόσον στερεοποιηθεί στα τρυβλία, γίνεται επώαση (ανάποδα) σε θερμοκρασία 25°C για 40 - 48 ώρες.

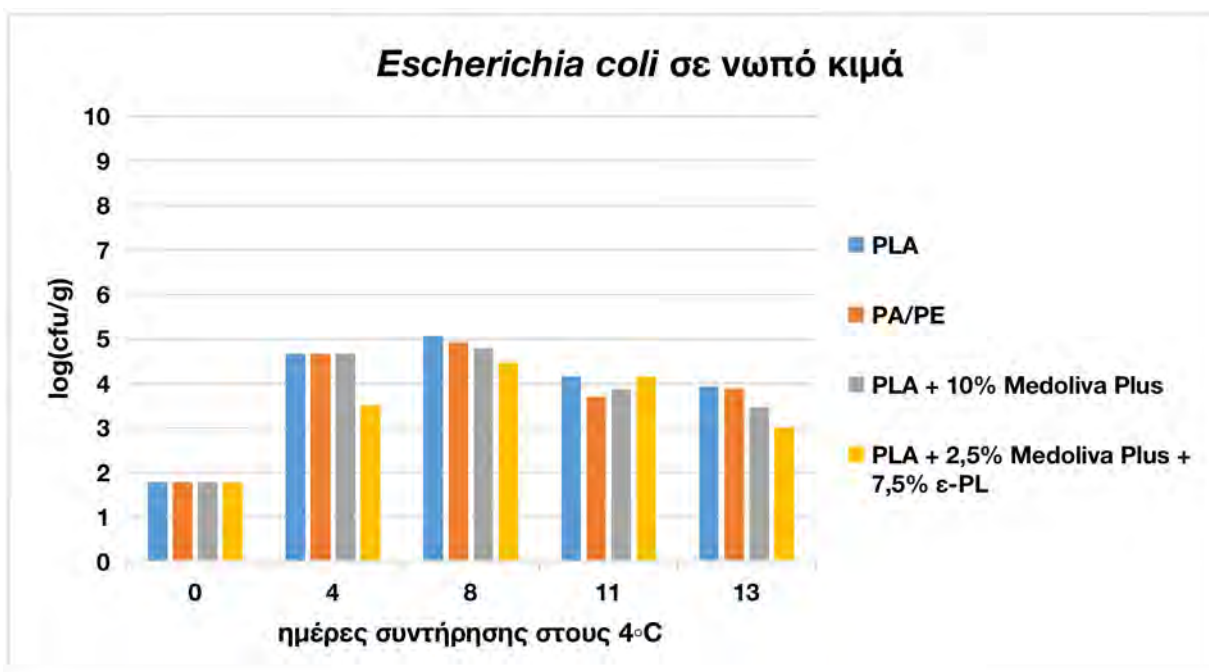
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Εισαγωγή

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης, που διεξήχθη στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, όπως αυτή αναλύεται εκτενώς στο κεφάλαιο 3. Παρουσιάζονται τα διαγράμματα ανάπτυξης κάθε αλλοιογόνου και παθογόνου μικροοργανισμού σε συνάρτηση με το χρόνο και τη θερμοκρασία αποθήκευσης, και στις διάφορες συνθήκες συσκευασίας. Το εύρος θερμοκρασιών αποθήκευσης που μελετήθηκαν ήταν 4°C και 10°C και οι συνθήκες συσκευασίας ήταν υπό κενό, αντίστοιχη των εμπορικά διαθέσιμων συσκευασμένων προϊόντων. Τα προϊόντα αυτά ήταν η παστεριωμένη γαλοπούλα, χοιρινός κιμάς (εμβολιασμένος και μη με παθογόνα) και ζυμούμενο σαλάμι αέρος. Συνολικά, μελετήθηκαν και προσδιορίστηκαν εννέες ομάδες μικροοργανισμών, Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX), *Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, μύκητες (ζύμες-μύχλεις) και τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), των οποίων παρουσιάζονται τα αποτελέσματα στην τρέχουσα ενότητα που ακολουθεί, υπό μορφή διαγραμμάτων.

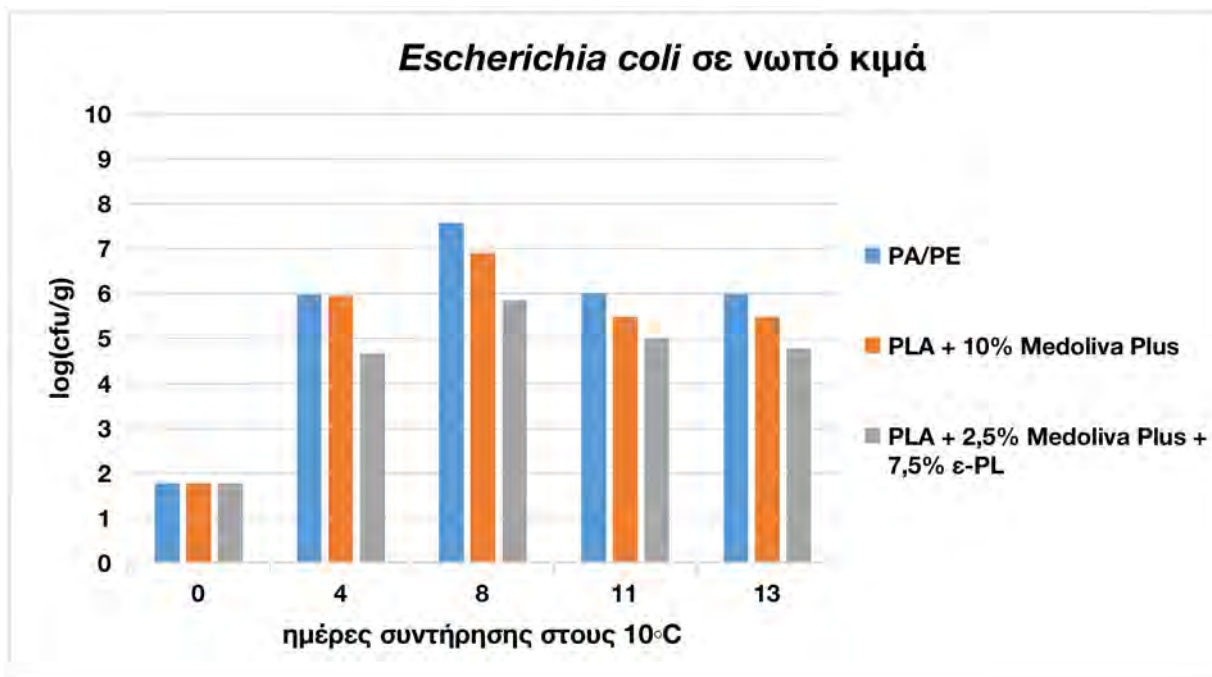
6.2 Νωπός χοιρινός κιμάς (φυσική μικροχλωρίδα)

6.2.1 Ανάπτυξη *Escherichia coli*



Διάγραμμα 1. Μεταβολή της *Escherichia coli* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Όπως φαίνεται από το **Διάγραμμα 1**, ο πληθυσμός της *Escherichia coli* παρουσιάζει αύξηση έως την όγδοη ημέρα συντήρησης σε κάθε συνθήκη συσκευασίας και με το πέρας της σταδιακά μειώνεται. Πιο συγκεκριμένα, στη συσκευασία που περιέχεται το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, εμφανίζεται μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης, συγκριτικά με τις υπόλοιπες συνθήκες συσκευασίας και η μέγιστη πληθυσμιακή κορύφωση φτάνει σε χαμηλότερο λογάριθμο. Η μέση λογαριθμική διαφορά ανέρχεται έως και τον 1 log(cfu/g).

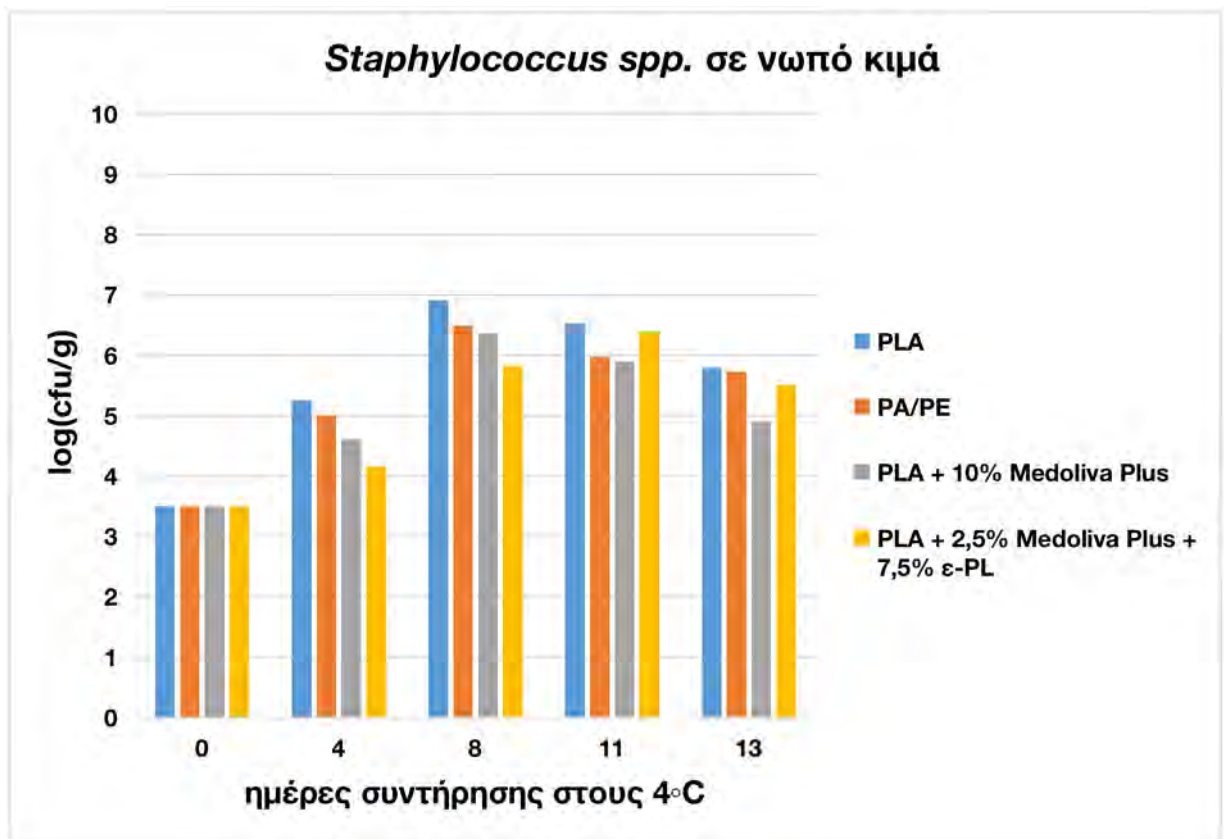


Διάγραμμα 2. Μεταβολή της *Escherichia coli* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C (Διάγραμμα 2), παρουσιάζεται σημαντικά μεγαλύτερος μικροβιακός πληθυσμός της *Escherichia coli*, γεγονός που οφείλεται στην υψηλότερη θερμοκρασία συντήρησης των δειγμάτων. Πιο συγκεκριμένα, σε όλες τις συνθήκες συσκευασίας παρατηρείται αυξητικός ρυθμός ανάπτυξης έως και την όγδοη ημέρα συντήρησης, με το μέγιστο μικροβιακό φορτίο τα 6 log(cfu/g) για τις αντιμικροβιακές συσκευασίες, ενώ στην συσκευασία PA/PE επιδεικνύεται υπέρβαση των 7 log(cfu/g) και σταδιακή πληθυσμιακή μείωση με το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος.

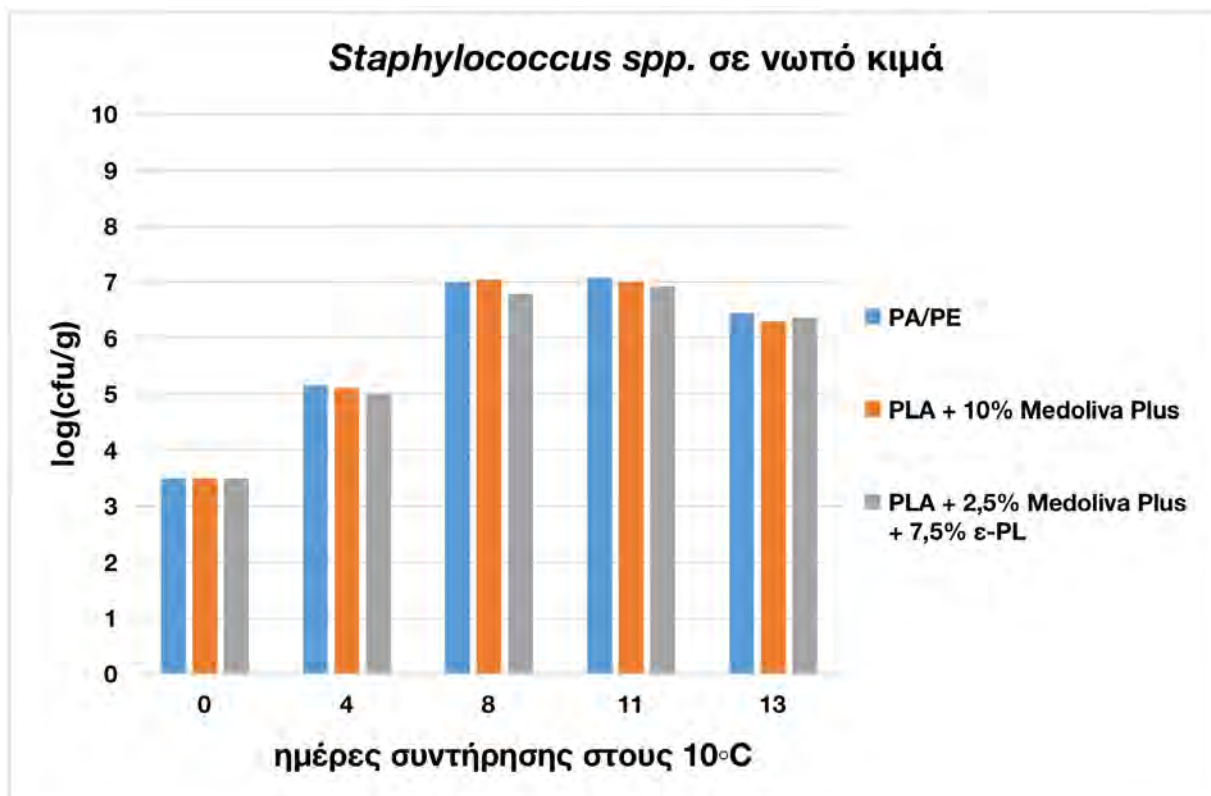
Διαφαίνεται και στις δύο θερμοκρασίες συντήρησης πως οι συνθήκες συσκευασίας που περιέχουν την πολυφαινόλη Medoliva Plus και το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, παρουσιάζουν ανασταλτική δράση έναντι της *Escherichia coli*. Η συσκευασία που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, εμφανίζει ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση κατά του μικροοργανισμού-στόχου, καθώς η πολυλυσίνη επηρεάζει τη δομή της φωσφολιπιδικής διπλοστοιβάδας της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η διαπερατότητα της και να απελευθερώνονται σημαντικά κυτταρικά συστατικά, όπως πρωτεΐνες και ιόντα (Liu et al, 2015).

6.2.2 Ανάπτυξη *Staphylococcus spp.*



Διάγραμμα 3. Μεταβολή του *Staphylococcus spp.* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Όπως φαίνεται από το **Διάγραμμα 3**, ο πληθυσμός του *Staphylococcus spp.* παρουσιάζει αύξηση έως την όγδοη ημέρα συντήρησης σε κάθε συνθήκη συσκευασίας εκτός από την συσκευασία που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, στην οποία παρουσιάζεται κορύφωση την ενδέκατη ημέρα συντήρησης.

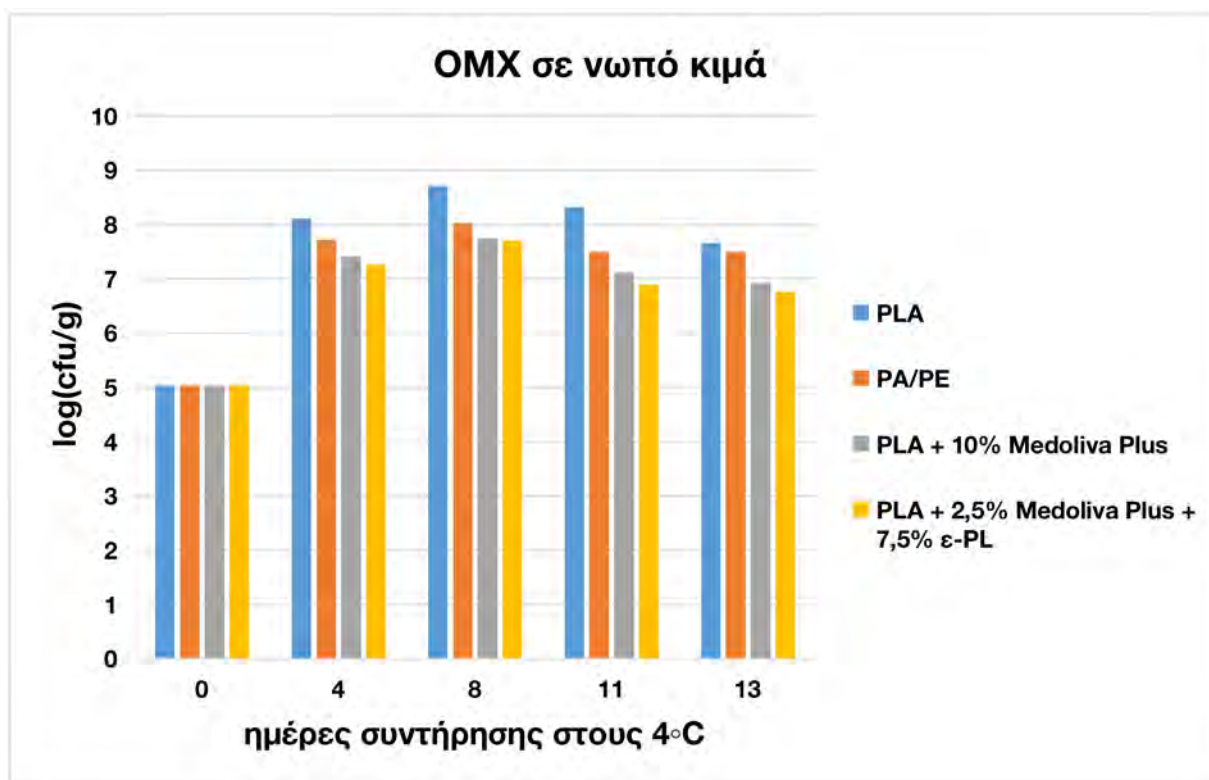


Διάγραμμα 4. Μεταβολή του *Staphylococcus spp.* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C (Διάγραμμα 4), παρατηρείται αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού έως και την ενδέκατη ημέρα συντήρησης. Η απλή συσκευασία του πλαστικού PA/PE σε σχέση με τις ενισχυμένες με αντιμικροβιακά PLA συσκευασίες, δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά ως προς την ανασταλτική δράση για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα ανάπτυξης του *Staphylococcus spp.* κυμαίνονται σε παρόμοιο λογαριθμικό εύρος.

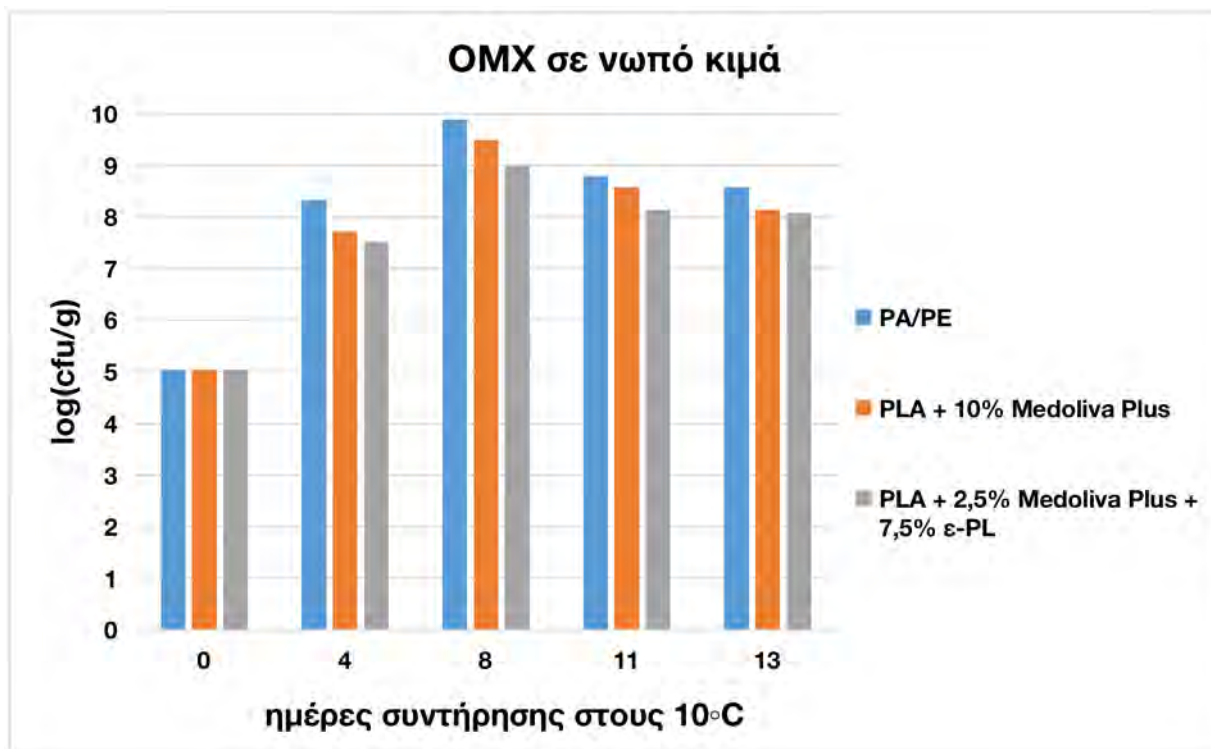
Για κάθε συνθήκη συσκευασίας και στις δύο θερμοκρασίες δεν παρατηρείται κάποια σημαντική μείωση του μικροβιακού πληθυσμού, η οποία θα επιδρούσε θετικά ως προς την παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Ακόμη, στους 10°C δεν παρουσιάζεται απόκλιση στο μικροβιακό φορτίο μεταξύ των διαφορετικών συνθηκών συσκευασίας, ενώ στους 4°C, διαφαίνεται διαφορά έως και 1 log(cfu/g). Αν και αξιοποιήθηκε εκλεκτικό υπόστρωμα με σκοπό την ανάπτυξη *Staphylococcus aureus*, κατά την επώαση δεν αναπτύχθηκε το συγκεκριμένο είδος.

6.2.3 Ανάπτυξη Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)



Διάγραμμα 5. Μεταβολή της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Όπως φαίνεται από το **Διάγραμμα 5**, ο πληθυσμός της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας παρουσιάζει αύξηση έως την όγδοη ημέρα συντήρησης σε κάθε συνθήκη συσκευασίας και με το πέρας της σταδιακά μειώνεται. Διαφαίνεται ότι με την εφαρμογή της απλής συσκευασίας (ειδικά της PLA, αλλά και της PA/PE), δεν εμφανίζεται η μικροβιακή αναστολή που παρατηρείται στη συσκευασία που είναι ενισχυμένη με αντιμικροβιακές ουσίες, που ο πληθυσμός OMX διαφέρει έως και 1 log(cfu/g).

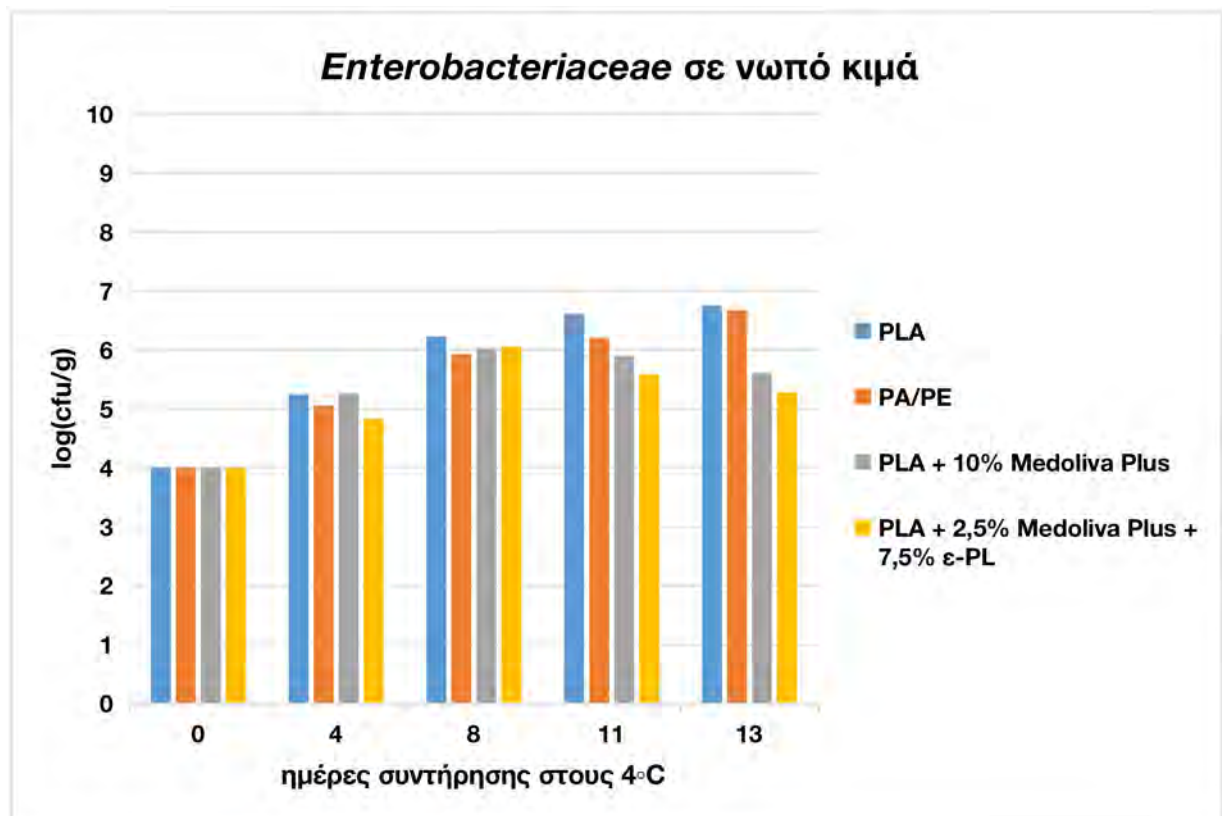


Διάγραμμα 6. Μεταβολή της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C (Διάγραμμα 6), παρατηρείται αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού έως και την όγδοη ημέρα συντήρησης. Στις συσκευασίες που έχουν προστεθεί αντιμικροβιακοί παράγοντες παρουσιάζεται χαμηλότερη μικροβιακή ανάπτυξη συγκριτικά με το PA/PE και ιδιαίτερα στο υλικό που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL. Η μέση λογαριθμική διαφορά κυμαίνεται από 0,5-1 log(cfu/g).

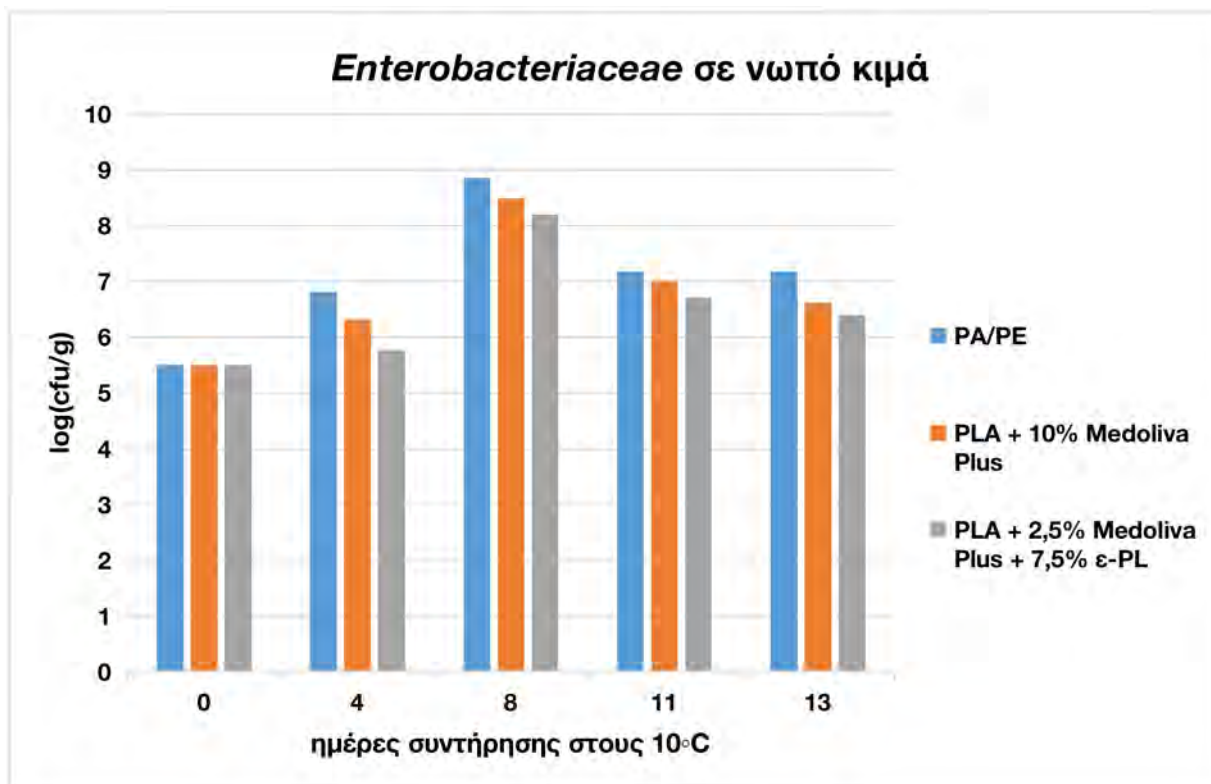
Είναι σαφές ότι και στις δύο θερμοκρασίες αποθήκευσης, οι συνθήκες συσκευασίας που περιέχουν πολυφαινόλη Medoliva Plus, καθώς και το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, παρουσιάζουν ανασταλτική επίδραση έναντι της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας. Η συσκευασία με το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL επιδεικνύει ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση έναντι των υπό μελέτη μικροοργανισμών, καθώς η ε-PL επεμβαίνει στην μεμβρανική λειτουργία των κυττάρων (Liu et al, 2015).

6.2.4 Ανάπτυξη *Enterobacteriaceae*



Διάγραμμα 7. Μεταβολή των *Enterobacteriaceae* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Τα αποτελέσματα για την θερμοκρασία των 4°C (Διάγραμμα 7), υποδεικνύουν συνεχή μικροβιακή ανάπτυξη καθόλη τη διάρκεια της αποθήκευσης των δειγμάτων, για τα μη ενισχυμένα με αντιμικροβιακά συστατικά φιλμ. Από την άλλη πλευρά, διαφαίνεται πως η όγδοη ημέρα συντήρησης αποτελεί την κορύφωση της μικροβιακής ανάπτυξης των *Enterobacteriaceae* για τις συσκευασίες με αντιμικροβιακές ουσίες και με το πέρας αυτής σημειώνεται σταδιακή μείωση του μικροβιακού πληθυσμού.

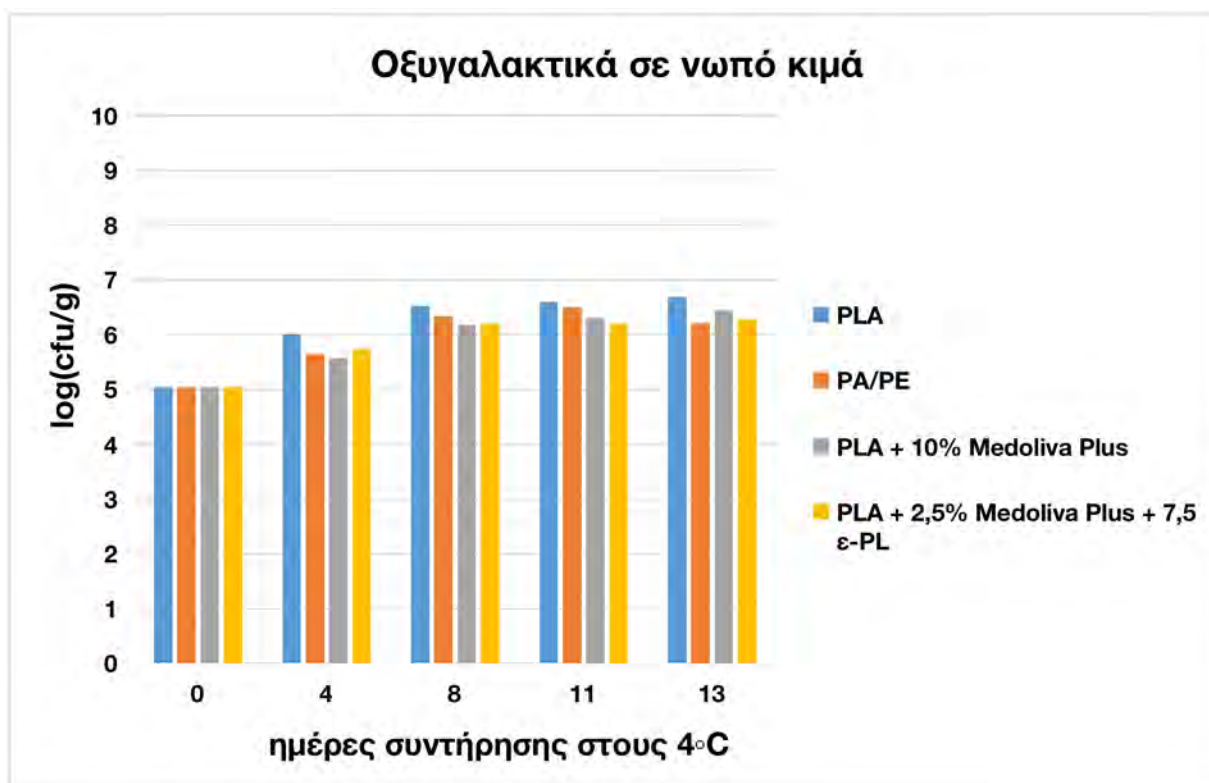


Διάγραμμα 8. Μεταβολή της *Enterobacteriaceae* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Για τα *Enterobacteriaceae*, όπως φαίνεται **Διάγραμμα 8**, ο μικροβιακός πληθυσμός αυξάνεται έως την όγδοη ημέρα, κι έπειτα μειώνεται. Παρόλο που υπάρχει μείωση του φορτίου των *Enterobacteriaceae* στα ενισχυμένα με αντιμικροβιακά φιλμ, η διαφορά τους σε μικροβιακό φορτίο από το PA/PE δεν είναι σημαντική. Ειδικότερα, την 11^η και 13^η ημέρα αποθήκευσης ο μικροβιακός πληθυσμός σε όλες τις συσκευασίες για τους 10°C κυμαίνεται στο ίδιο λογαριθμικό εύρος.

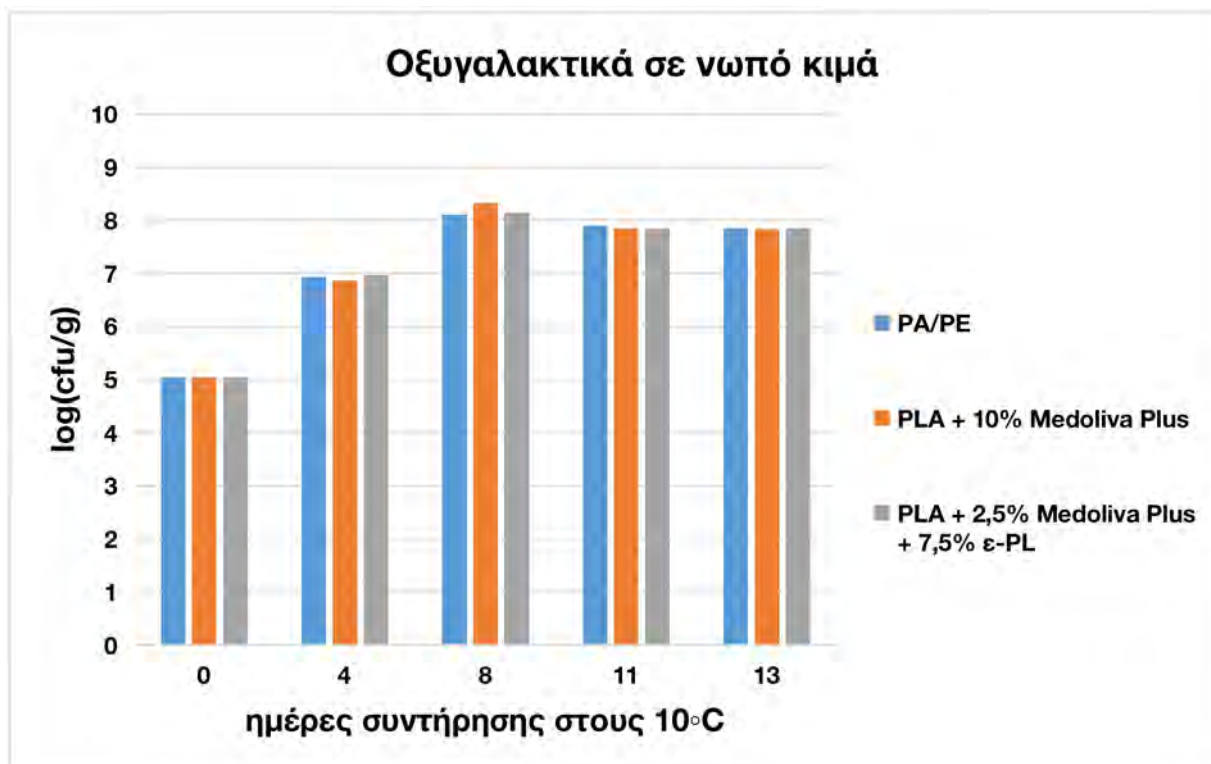
Στους 4°C φαίνεται πως οι συσκευασίες που εμπεριέχουν την πολυφαινόλη Medoliva Plus, αλλά και το μίγμα πολυφαινόλης-πολυλυσίνης, λειτουργούν παρεμποδιστικά έναντι των εντεροβακτηρίων, ενώ στους 10°C οι αντιμικροβιακές ουσίες δεν εκδηλώνουν την αναμενόμενη ανασταλτική δράση. Πιο συγκεκριμένα, ε-PL σύμφωνα με τους Ye et al, 2013, όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, ανεξάρτητα από την αύξηση της συγκέντρωσης της, παύει να δρα ανασταλτικά ως προς την μικροβιακή ανάπτυξη των *Enterobacteriaceae*.

6.2.5 Ανάπτυξη Οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB)



Διάγραμμα 9. Μεταβολή των LAB για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 9**, τα LAB καθόλη τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων δεν παρουσιάζουν μείωση του πληθυσμού τους. Η αντίσταση τους στις αντιμικροβιακές ουσίες μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η μαλτοδεξτρίνη που αποτελεί τον φορέα ενθυλάκωσης των αντιμικροβιακών, μπορεί να διασπαστεί από τα βακτήρια αυτά και κατά την διάσπαση της να παραχθούν μόρια γλυκόζης, που αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας των οξυγαλακτικών (Wang et al, 2021). Άλλη πιθανή αιτία αποτελεί η διέγερση βασικών βιοσυνθετικών ενζύμων των LAB από την επίδραση της πολυφαινόλη Medoliva Plus (Giavasis et al, 2012).

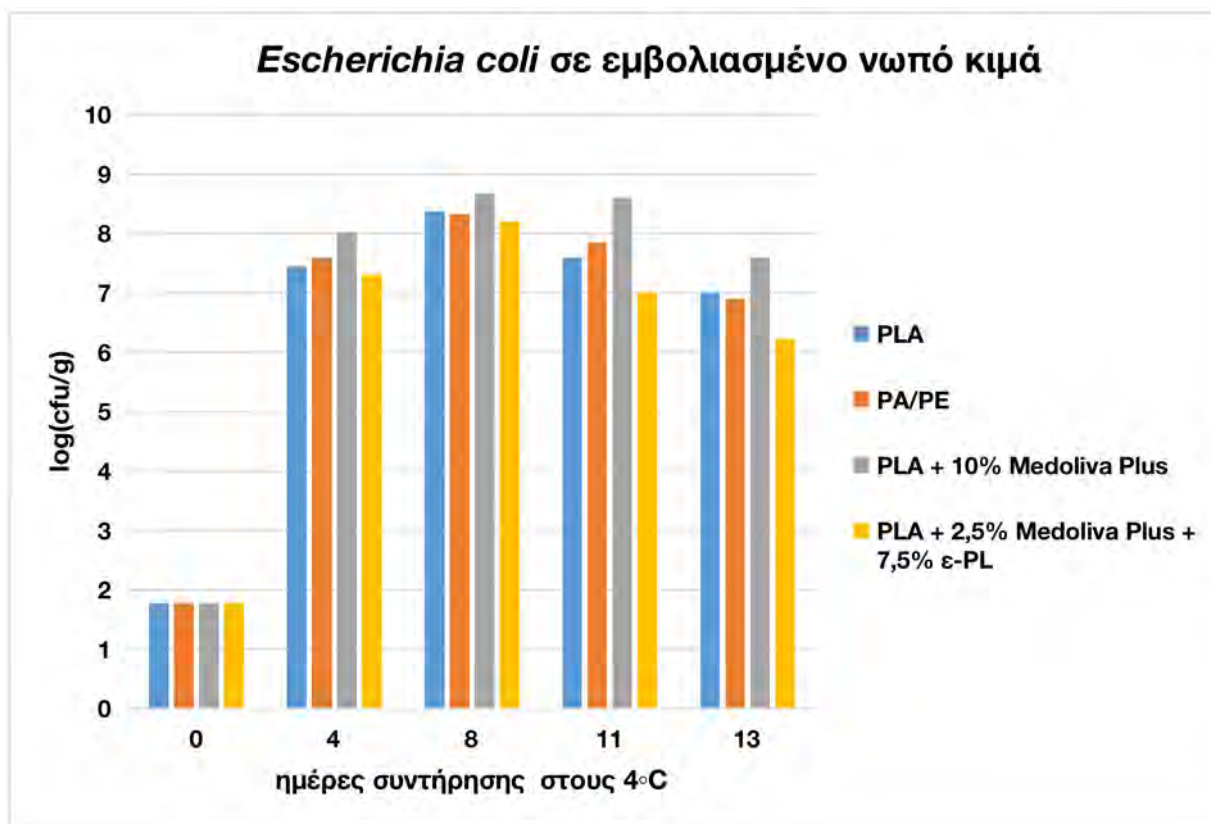


Διάγραμμα 10. Μεταβολή των LAB για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C, σύμφωνα με το **Διάγραμμα 10**, η πορεία της ανάπτυξης των LAB είναι αυξητική μέχρι και την όγδοη ημέρα συντήρησης, με πολύ μικρή μείωση μετά το πέρας αυτής. Σε κάθε είδους συσκευασία ο μικροβιακός πληθυσμός κυμαίνεται σε παρόμοια επίπεδα. Το αποτέλεσμα αυτό ενδέχεται να οφείλεται στους λόγους που προαναφέρθηκαν κατά την μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης των συσκευασιών στους 4°C.

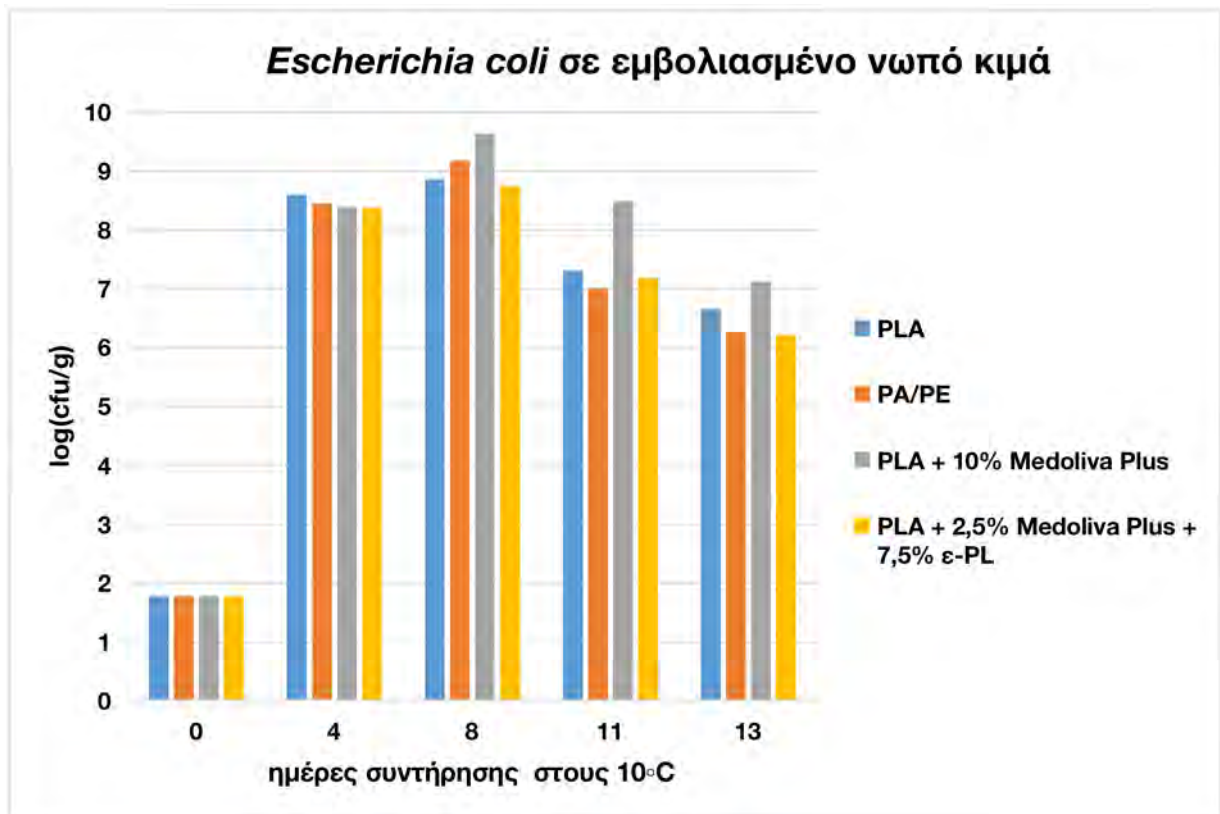
6.3 Νωπός χοιρινός κιμάς (εμβολιασμένος με παθογόνα μικρόβια)

6.3.1 Ανάπτυξη *Escherichia coli*



Διάγραμμα 11. Μεταβολή της *Escherichia coli* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

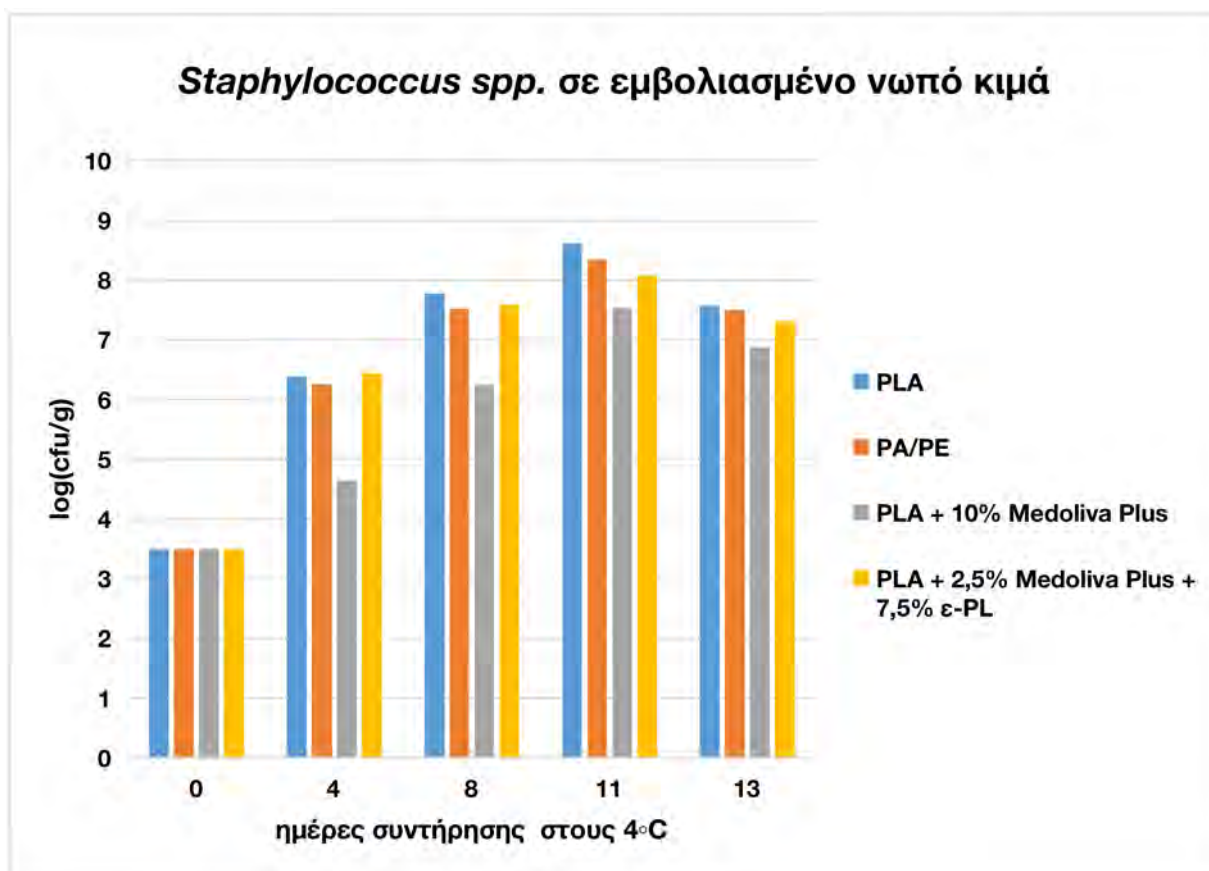
Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 4°C (Διάγραμμα 11), ο πληθυσμός της *Escherichia coli* παρουσιάζει αύξηση έως την όγδοη ημέρα συντήρησης σε κάθε συνθήκη συσκευασίας και με το πέρας της σταδιακά μειώνεται. Στη συσκευασία που περιέχεται το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, εμφανίζεται μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης, συγκριτικά με τις υπόλοιπες συνθήκες συσκευασίας και η μέγιστη πληθυσμιακή κορύφωση φτάνει σε χαμηλότερο λογάριθμο. Επιπλέον, διαφαίνεται πως η συσκευασία με την πολυφαινόλη Medoliva Plus σε συγκέντρωση 10%, διεγείρει την ανάπτυξη της *Escherichia coli*, παρόλο που σύμφωνα με την βιβλιογραφία οι πολυφαινόλες δρουν ανασταλτικά ως προς τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό (Higuera-Ciápara et al, 2024). Πιο συγκεκριμένα, η συσκευασία που περιέχει την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus παρουσιάζει διαφορά έως και 1 log(cfu/g) σε σχέση με τις υπόλοιπες συνθήκες συσκευασίας.



Διάγραμμα 6.12 Μεταβολή της *Escherichia coli* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

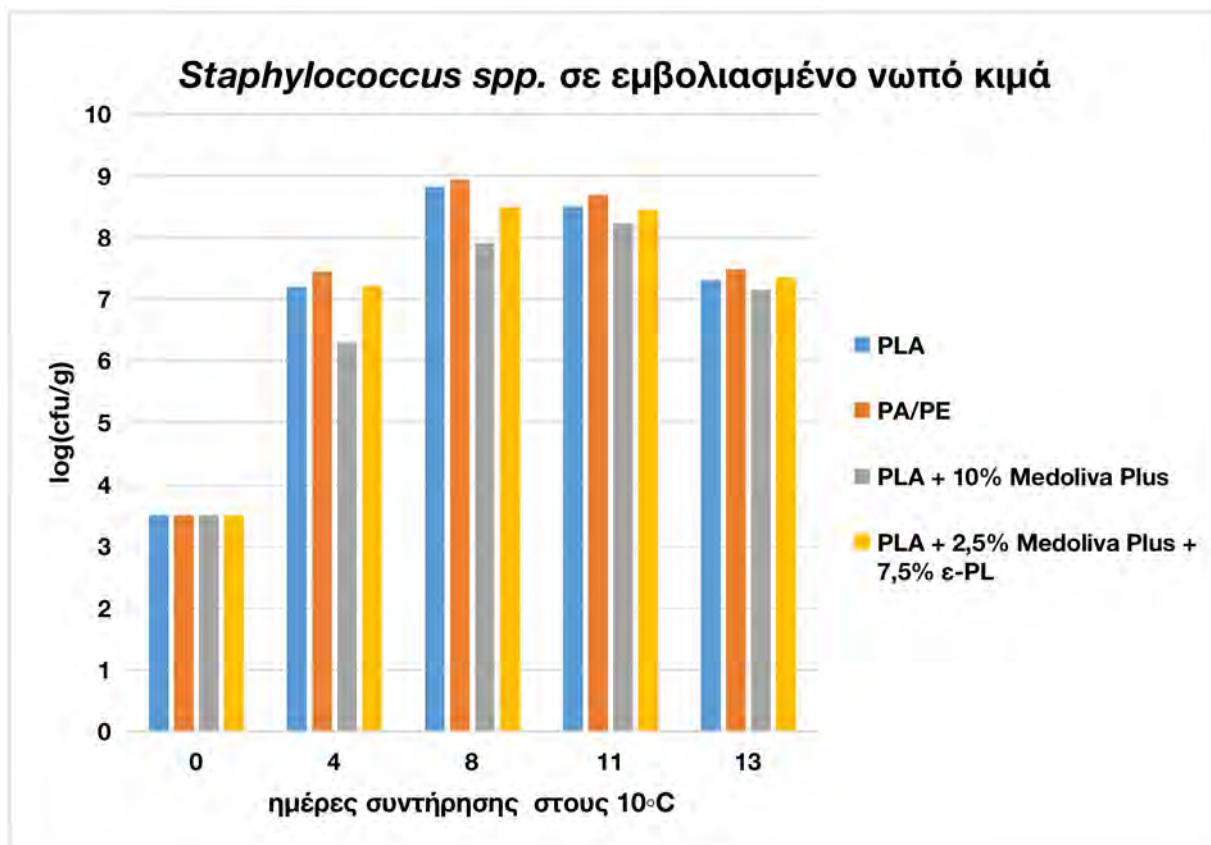
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα στο **Διάγραμμα 12**, η πολυφαινόλη Medoliva Plus σε συγκέντρωση 10%, διεγείρει και στην περίπτωση αυτή την ανάπτυξη της *Escherichia coli*. Στην θερμοκρασία αυτή, η συσκευασία που περιέχει την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus παρουσιάζει διαφορά έως και 1,5 log(cfu/g) σε σχέση με τις υπόλοιπες συνθήκες συσκευασίας. Για τις υπόλοιπες συσκευασίες, ο μικροβιακός πληθυσμός ανέρχεται σε παρόμοιο λογαριθμικό εύρος, γεγονός που σημαίνει ότι η επίδραση των αντιμικροβιακών στον μικροοργανισμό-στόχο δεν διαφέρει από την κοινή συσκευασία.

6.3.2 Ανάπτυξη *Staphylococcus spp.*



Διάγραμμα 13. Μεταβολή του *Staphylococcus spp.* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Για τον *Staphylococcus spp.*, όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 13**, το PLA και το PA/PE παρουσιάζουν σταθερή αύξηση της βακτηριακής ανάπτυξης, με το PA/PE να παρουσιάζει ελαφρώς χαμηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης. Η συσκευασία PLA που περιέχει την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, παρουσιάζει βραδύτερη μικροβιακή ανάπτυξη σε σύγκριση τόσο με PLA και το PA/PE, όσο και με το PLA που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πολυφαινόλη Medoliva Plus αυτές καθαυτές έχουν ισχυρότερη ανασταλτική επίδραση στον *Staphylococcus spp.*, από ότι το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL. Ειδικότερα τις 10 πρώτες ημέρες συντήρησης, η συσκευασία που περιέχει μόνο την πολυφαινόλη Medoliva Plus, παρουσιάζει μειωμένο μικροβιακό φορτίου έως και 2 log(cfu/g).

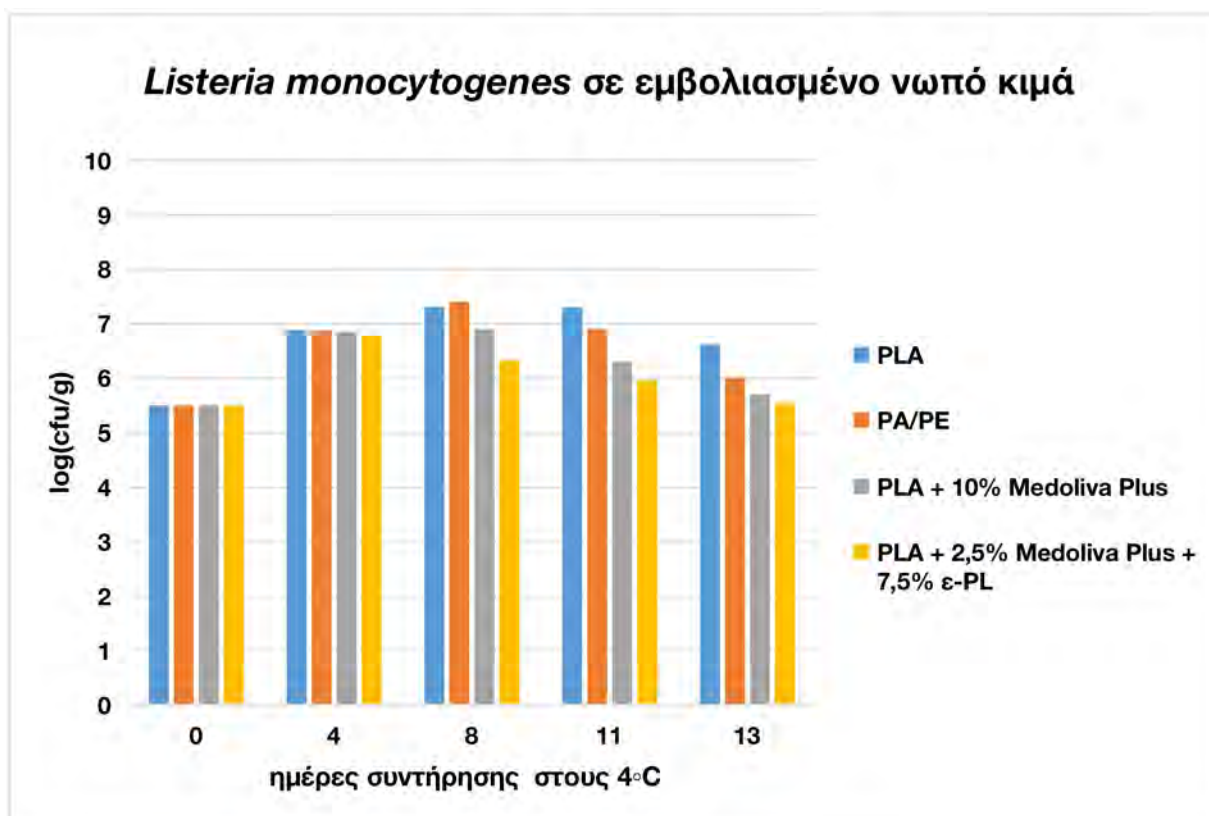


Διάγραμμα 14. Μεταβολή του *Staphylococcus* spp. για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 14**, αποτελεσματικότερη ανασταλτική επίδραση παρουσιάζει και στην θερμοκρασία των 10°C, η συσκευασία που περιέχει την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, χωρίς όμως να υπάρχει σημαντική απόκλιση στο μικροβιακό πληθυσμό που ανέρχονται και τα τέσσερα είδη συσκευασίας. Όπως και στην θερμοκρασία των 4°C, τις 10 πρώτες ημέρες συντήρησης, η συσκευασία που περιέχει μόνο την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, παρουσιάζει μειωμένο μικροβιακό φορτίου μικρότερης λογαριθμικής τάξεως 0,5 log(cfu/g).

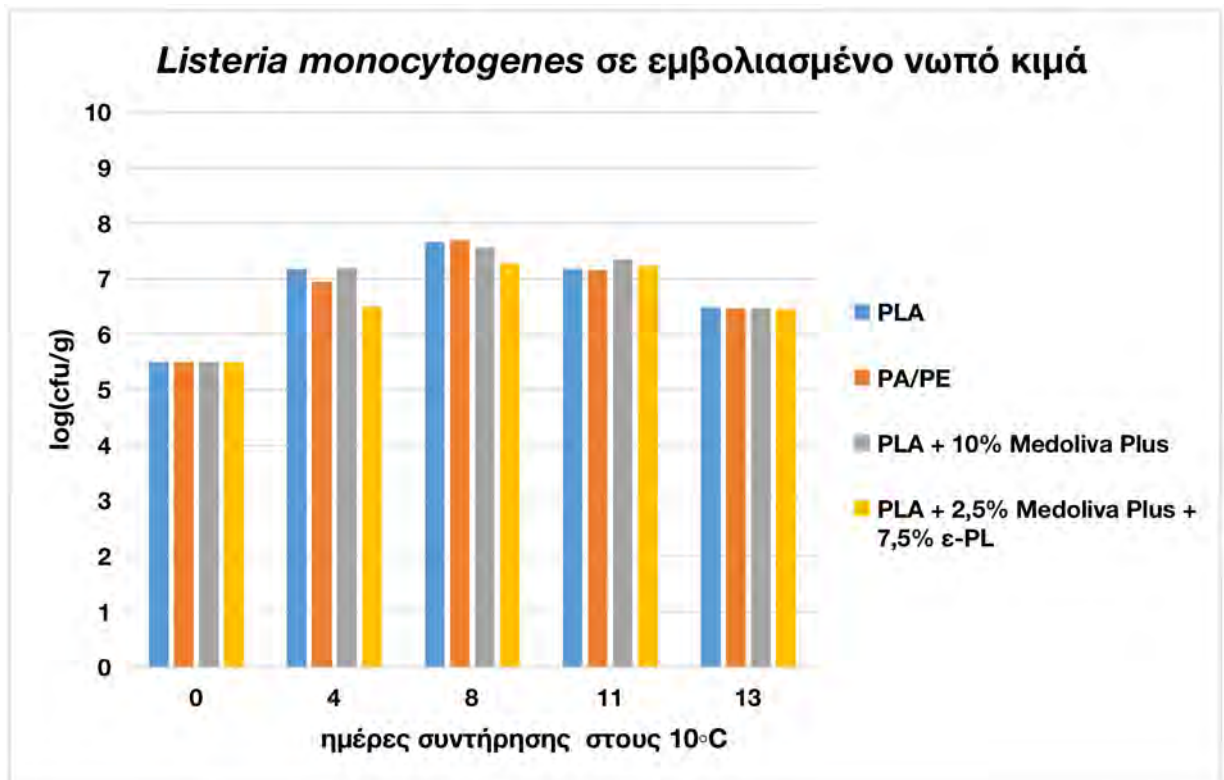
Αν και αξιοποιήθηκε εκλεκτικό υπόστρωμα με σκοπό την ανάπτυξη *Staphylococcus aureus*, κατά την επώαση δεν αναπτύχθηκε το συγκεκριμένο είδος σε καμία από τις δύο θερμοκρασίες συντήρησης.

6.3.3 Ανάπτυξη *Listeria monocytogenes*



Διάγραμμα 15. Μεταβολή της *Listeria monocytogenes* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

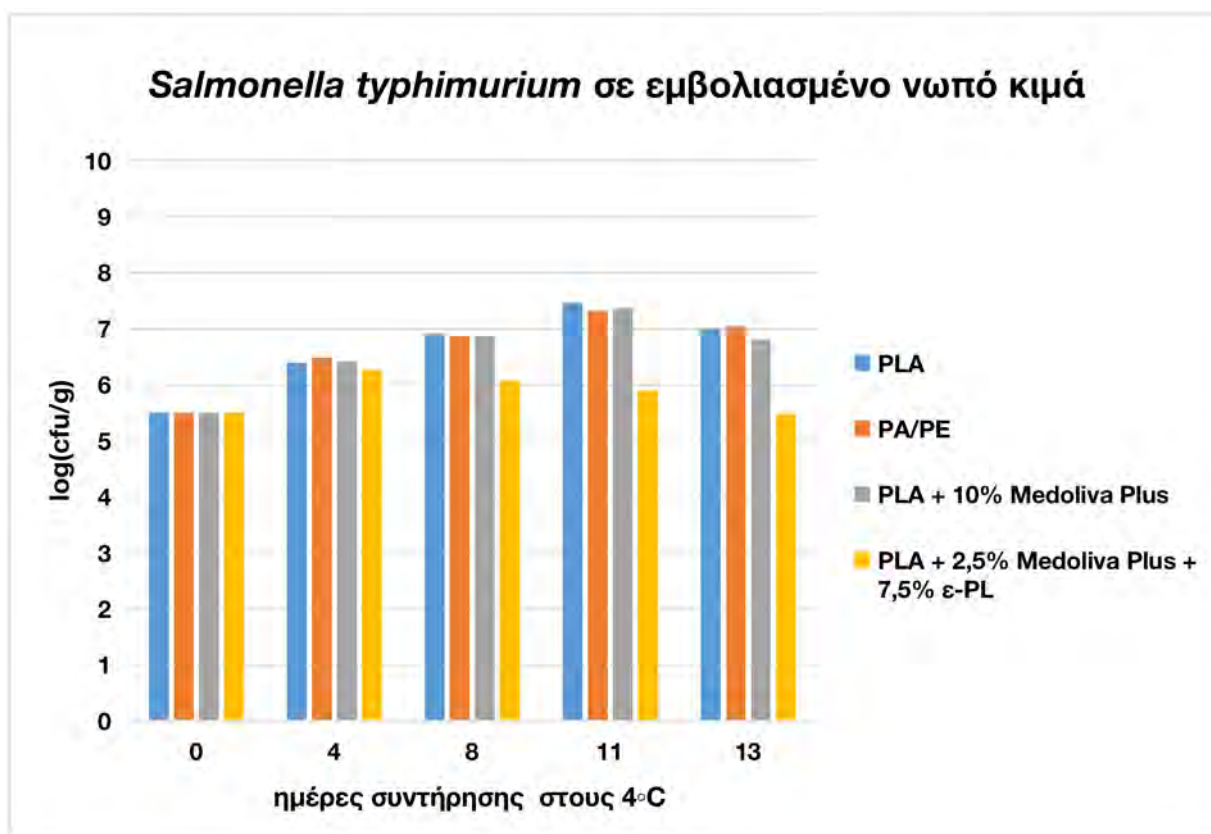
Όπως φαίνεται από το **Διάγραμμα 15**, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* παρουσιάζει αύξηση έως την όγδοη ημέρα συντήρησης για το PLA, το PA/PE και για το PLA που περιέχει 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, ενώ η συσκευασία που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL παρουσιάζει αύξηση έως την τέταρτη ημέρα ανάπτυξης. Παρατηρείται ότι στη συσκευασία που περιέχεται το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, εμφανίζεται μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης, συγκριτικά με τις υπόλοιπες συνθήκες συσκευασίας και η μέγιστη πληθυσμιακή κορύφωση φτάνει σε λογάριθμο έως και 1 log(cfu/g) χαμηλότερο από την απλή συσκευασία PLA.



Διάγραμμα 16. Μεταβολή της *Listeria monocytogenes* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

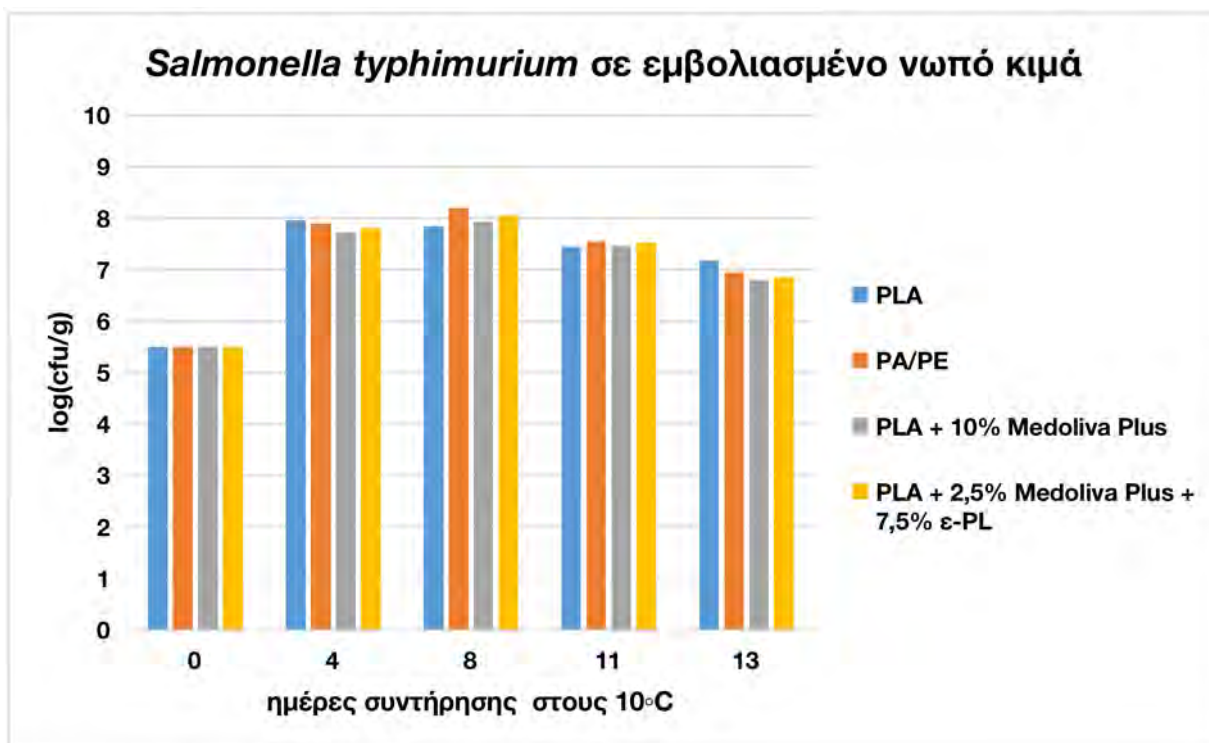
Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C, σύμφωνα με το **Διάγραμμα 16**, η πορεία της ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι αυξητική μέχρι και την όγδοη ημέρα αποθήκευσης, με πολύ μικρή μείωση μετά το πέρας αυτής. Σε κάθε είδους συσκευασία ο μικροβιακός πληθυσμός κυμαίνεται σε παρόμοια λογαριθμικά επίπεδα καθόλη τη διάρκεια της συντήρησης.

6.3.4 Ανάπτυξη *Salmonella typhimurium*



Διάγραμμα 17. Μεταβολή της *Salmonella typhimurium* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Για την *Salmonella typhimurium* στην θερμοκρασία των 4°C (Διάγραμμα 17), διαφαίνεται αύξηση καθόλη τη διάρκεια συντήρησης για το PLA, το PA/PE και για το PLA που περιέχει 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, με ελάχιστη μείωση του πληθυσμού της κατά την δέκατη τρίτη ημέρα, ενώ η συσκευασία που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL παρουσιάζει μείωση του μικροβιακού φορτίου από την τέταρτη ημέρα αποθήκευσης. Σημειώνεται πως διαφορά της συσκευασίας με το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL και των υπολοίπων υπερβαίνει το 1 log(cfu/g).

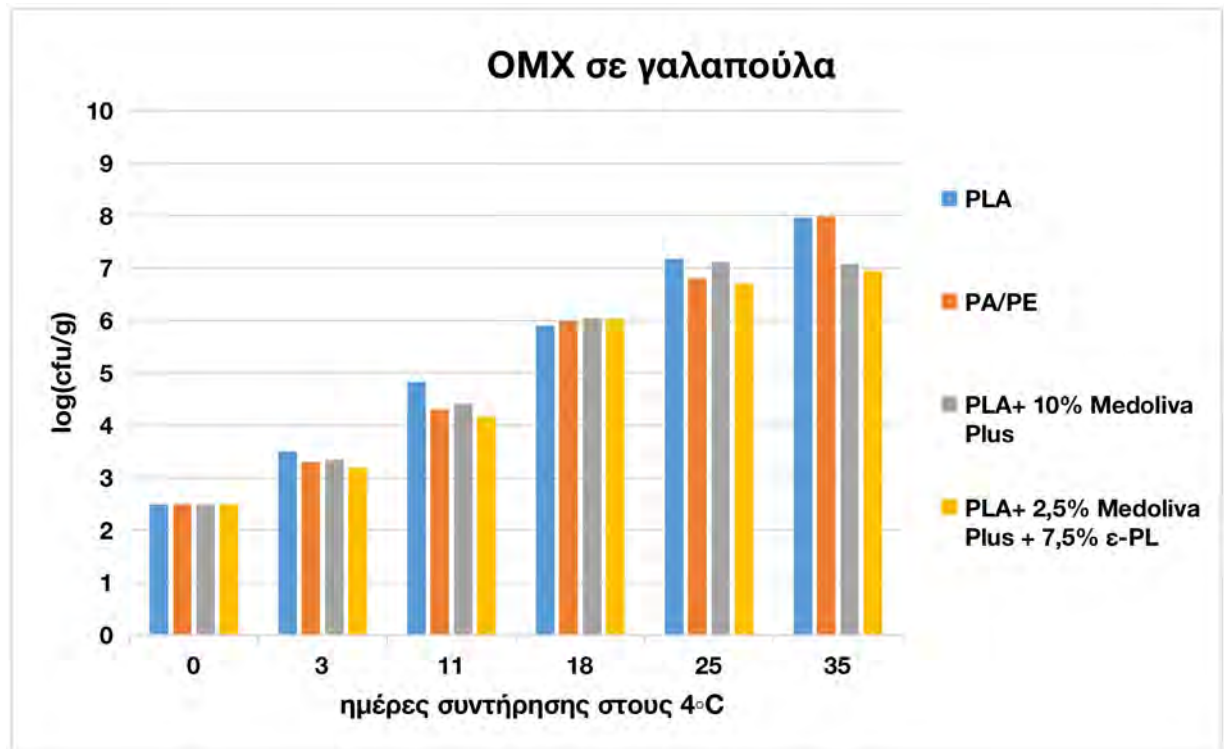


Διάγραμμα 18. Μεταβολή της *Salmonella typhimurium* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C, σύμφωνα με το **Διάγραμμα 18**, η πορεία της ανάπτυξης της *Salmonella typhimurium* είναι αυξητική μέχρι και την όγδοη ημέρα αποθήκευσης, με πολύ μικρή μείωση μετά το πέρας αυτής. Τα επίπεδα της *Salmonella typhimurium* για κάθε είδους συσκευασίας κυμαίνονται σε παρόμοιο λογαριθμικό εύρος καθόλη τη διάρκεια της συντήρησης.

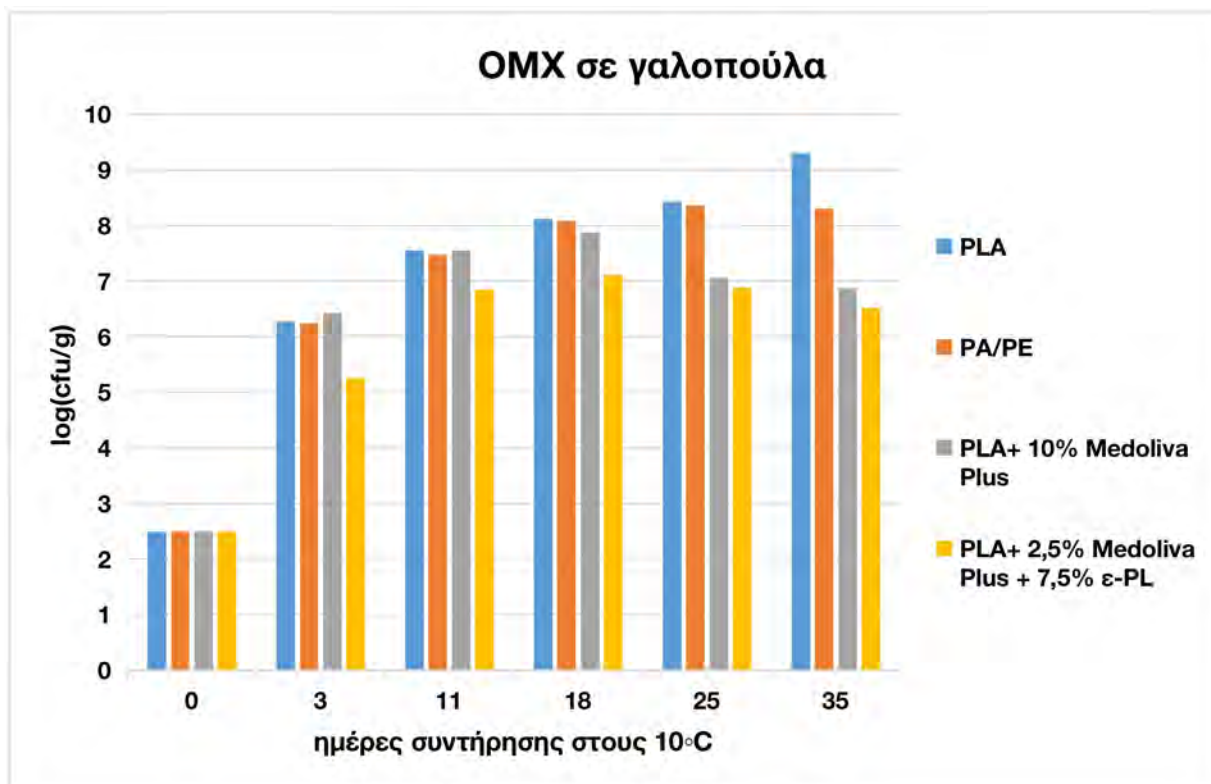
6.4 Παστεριωμένες φέτες γαλοπούλας

6.4.1 Ανάπτυξη Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX)



Διάγραμμα 19. Μεταβολή της OMX για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Για την Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα, όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 19**, παρατηρείται αυξητικός ρυθμός ανάπτυξης καθόλη τη διάρκεια της συντήρησης του προϊόντος. Αν και διαφαίνεται η αυξητική πορεία του μικροβιακού φορτίου με το πέρας των ημερών αποθήκευσης, ο πληθυσμός της OMX παρουσιάζει αργό ρυθμό ανάπτυξης.

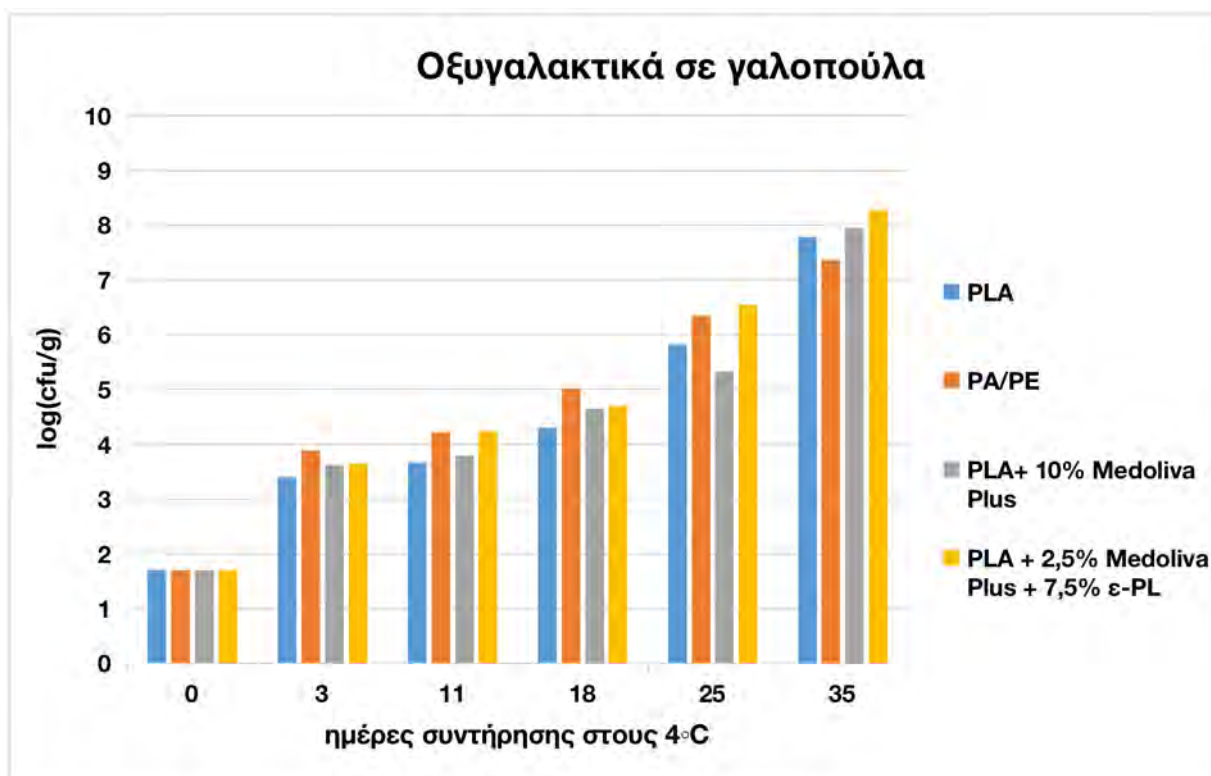


Διάγραμμα 20. Μεταβολή της OMX για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Όπως φαίνεται στο **Διάγραμμα 20**, ο πληθυσμός της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας παρουσιάζει αύξηση σε όλη την διάρκεια της συντήρησης των δειγμάτων για το PLA και το PA/PE. Ενώ για το PLA που περιέχει 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus και το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, παρατηρείται ότι ο μικροβιακός πληθυσμός φτάνει στο μέγιστο της ανάπτυξης του μέχρι την δέκατη όγδοη ημέρα και στην συνέχεια μειώνεται σταδιακά. Ειδικότερα την 35^η ημέρα, η διαφορά μεταξύ της απλής συσκευασίας PLA συγκριτικά με τις ενισχυμένες με αντιμικροβιακά ανέρχεται σε πληθυσμό $>2 \log(\text{cfu/g})$.

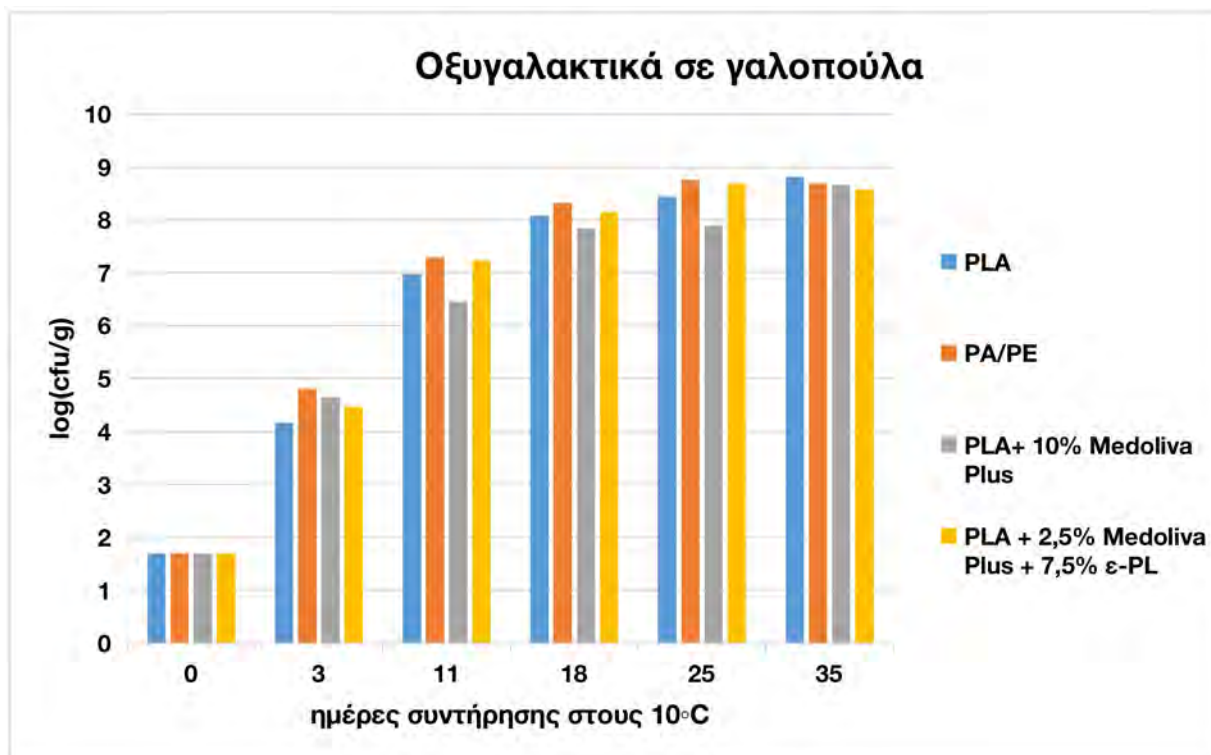
Συνολικά, το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL συμβάλλει στη μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης σε σύγκριση με τις απλές συσκευασίες PLA και PA/PE, αλλά δεν την αναστέλλουν πλήρως, ιδίως για μεγαλύτερους χρόνους αποθήκευσης και στις δύο θερμοκρασίες.

6.4.2 Ανάπτυξη Οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB)



Διάγραμμα 21. Μεταβολή των LAB για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

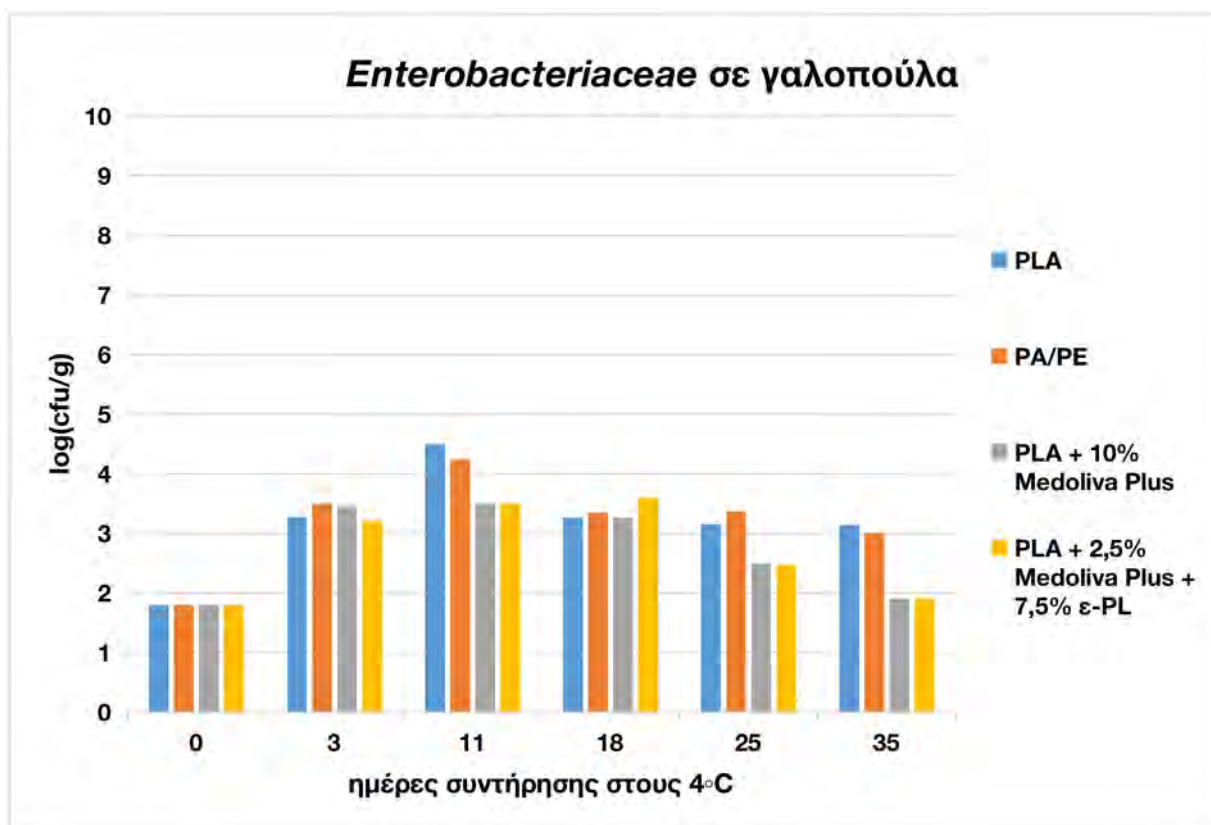
Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 4°C, σύμφωνα με το **Διάγραμμα 21**, τα οξυγαλακτικά βακτήρια καθόλη τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων παρουσιάζουν συνεχή αύξηση του πληθυσμού τους. Ο αργός και συγχρόνως αυξητικός ρυθμός ανάπτυξης των οξυγαλακτικών ιδιαίτερα στα υλικά που έχουν ενσωματωθεί οι αντιμικροβιακές ουσίες οφείλονται στην διάσπαση της μαλτοδεξτρίνης. Η μαλτοδεξτρίνη, που αποτελεί τον φορέα ενθυλάκωσης των αντιμικροβιακών, διασπάται από τα βακτήρια αυτά και παράγονται μόρια γλυκόζης, που αποτελούν την κύρια πηγή ενέργειας των οξυγαλακτικών (Wang et al, 2021). Άλλη πιθανή αιτία της διέγερσης των LAB, αποτελεί η ενεργοποίηση βασικών βιοσυνθετικών ενζύμων των οξυγαλακτικών βακτηρίων από την επίδραση της πολυφαινόλη Medoliva Plus (Giavasis et al, 2012).



Διάγραμμα 22. Μεταβολή των LAB για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

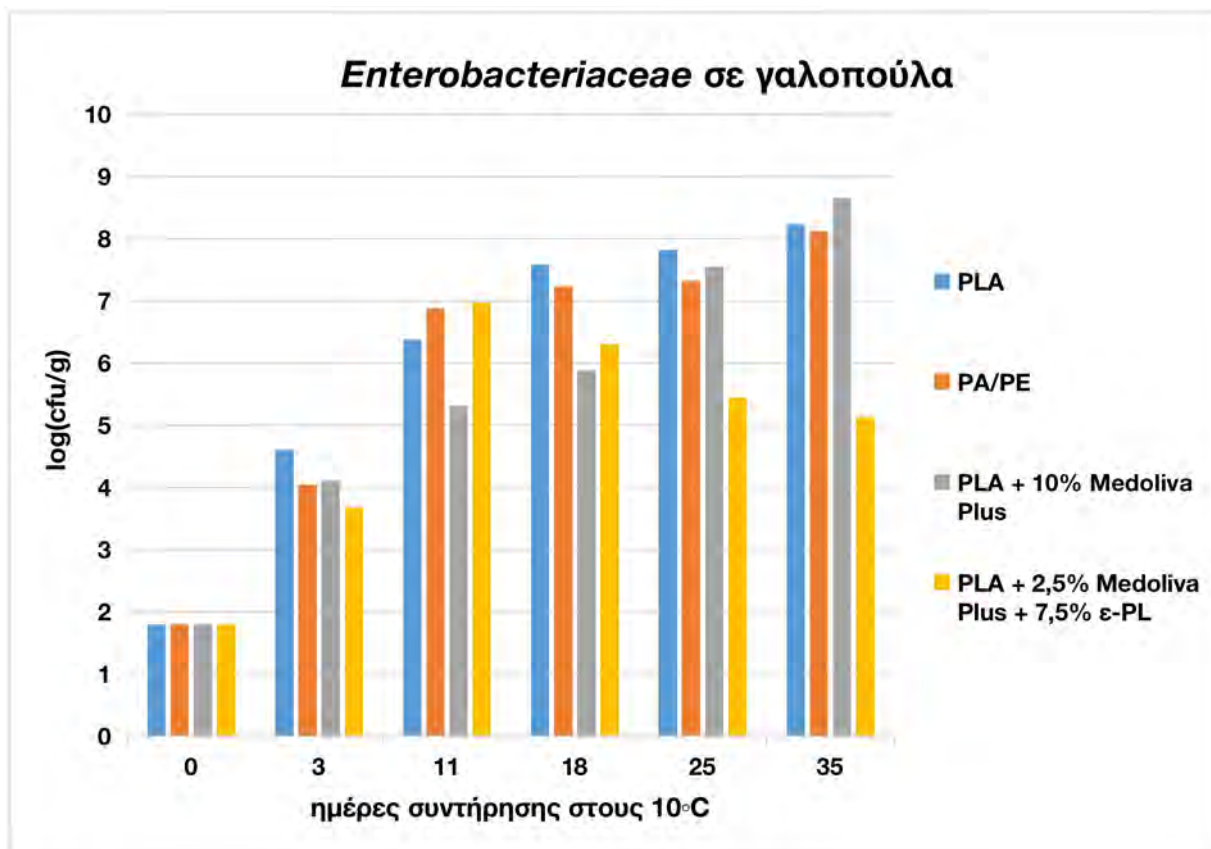
Για τα οξυγαλακτικά στους 10°C (Διάγραμμα 22), τα βακτήρια παρουσιάζουν ραγδαία αύξηση του πληθυσμού τους καθόλη τη διάρκεια αποθήκευσης των δειγμάτων. Η αύξηση αυτή είναι ταχύτερη σε σχέση με τη θερμοκρασία των 4°C, γεγονός που αποδίδεται στη μεγαλύτερη θερμοκρασία που ενισχύει τον μεταβολικό ρυθμό των βακτηρίων. Οι αντιμικροβιακές ουσίες, όπως η πολυφαινόλη Medoliva Plus και η ε-PL, φαίνεται να έχουν περιορισμένη αποτελεσματικότητα στη συγκράτηση της αύξησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε αυτή τη θερμοκρασία. Όπως και στους 4°C, διαφαίνεται η εφαρμογή της μαλτοδεξτρίνης στα υλικά συσκευασίας διεγείρει την ανάπτυξη των LAB.

6.4.3 Ανάπτυξη *Enterobacteriaceae*



Διάγραμμα 23. Μεταβολή των *Enterobacteriaceae* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

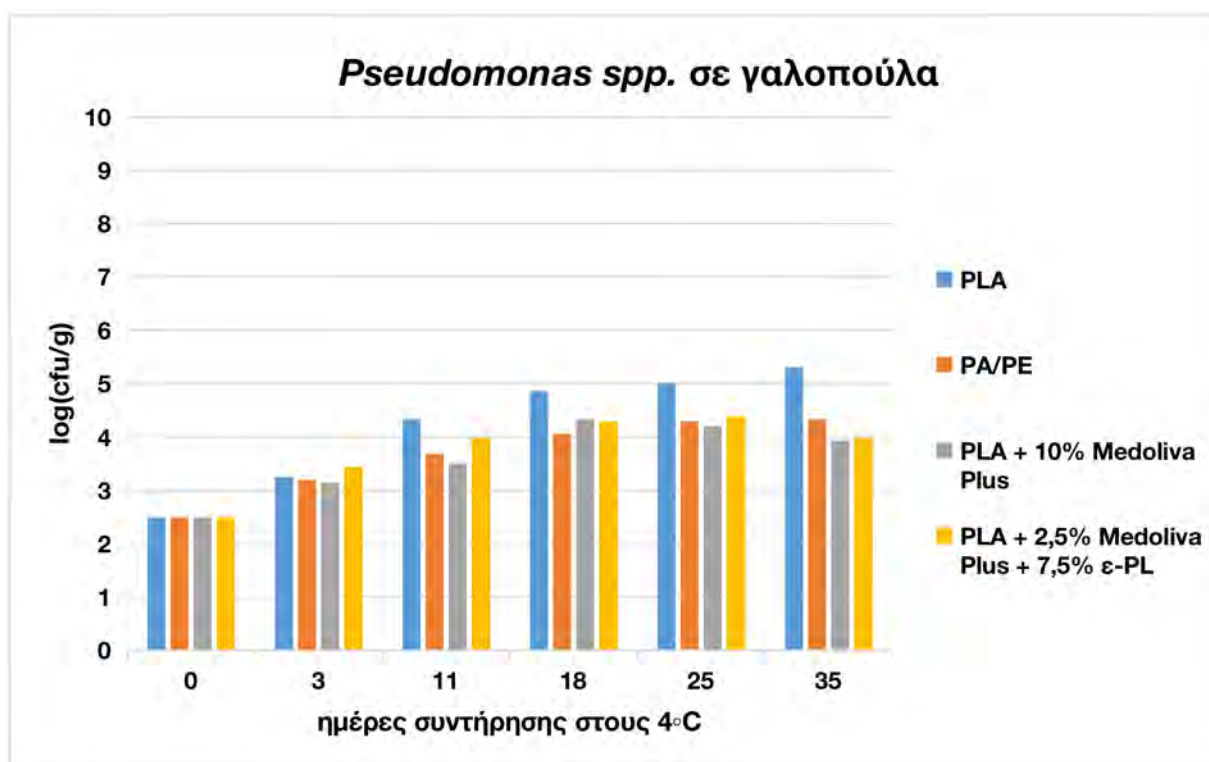
Στο **Διάγραμμα 23**, παρατηρείται πως στις συνθήκες συσκευασίας των απλών πλαστικών (PLA, PA/PE), όπου δεν περιέχονται αντιμικροβιακοί παράγοντες, παρουσιάζεται υψηλότερη βακτηριακή ανάπτυξη στη δεδομένη θερμοκρασία. Στην συσκευασία PLA + 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, επιδεικνύεται κάποια αντιμικροβιακή δράση, μειώνοντας την ανάπτυξη βακτηρίων σε σύγκριση με το PLA και το PA/PE, αλλά όχι τόσο αποτελεσματικά όσο ο συνδυασμός με την ε-PL. Πιο συγκεκριμένα, η ε-PL ενισχύει την ήδη υπάρχουσα δράση της πολυφαινόλη Medoliva Plus και συνολικά η συσκευασία που περιέχει το μίγμα αντιμικροβιακών ουσιών, παρουσιάζει την καλύτερη απόδοση στον έλεγχο της ανάπτυξης *Enterobacteriaceae*.



Διάγραμμα 24. Μεταβολή των *Enterobacteriaceae* για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

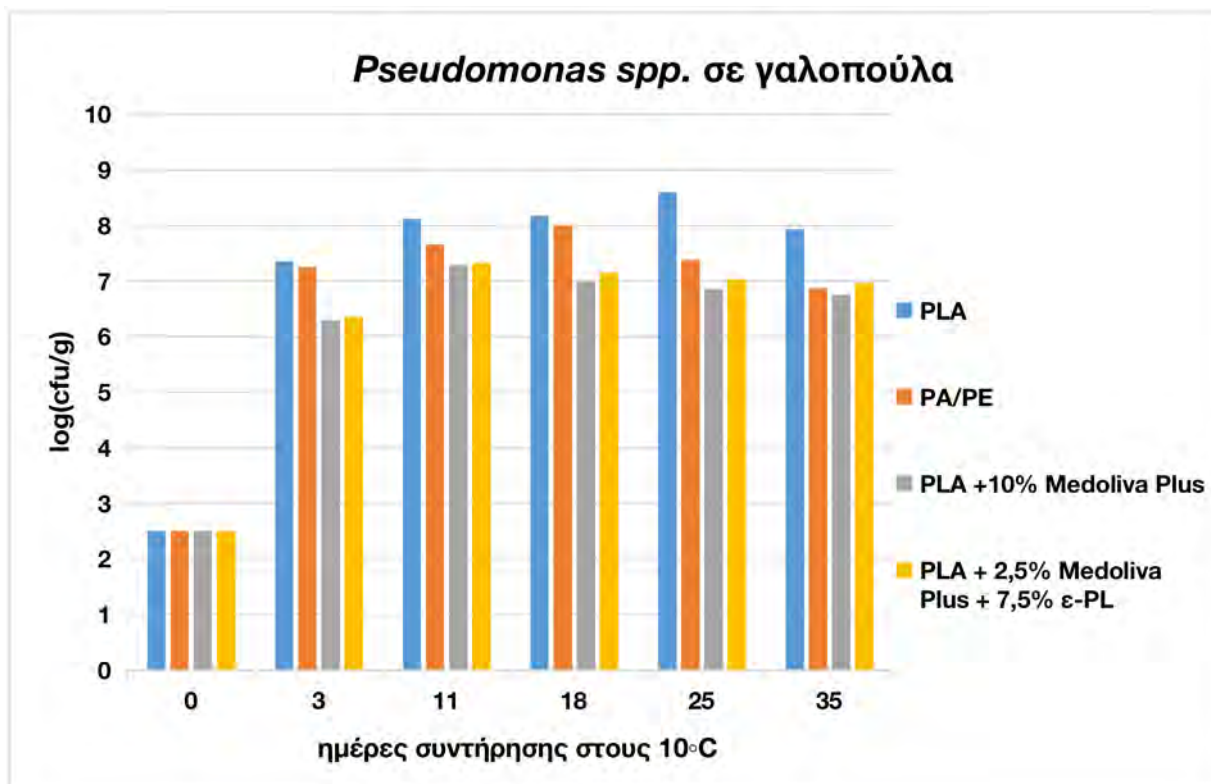
Στα αποτελέσματα για τη θερμοκρασία των 10°C (Διάγραμμα 24), ο πληθυσμός των *Enterobacteriaceae* παρουσιάζει αύξηση σε όλη την διάρκεια της συντήρησης των δειγμάτων για το PLA, το PA/PE και το PLA + 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus. Η συσκευασία που περιέχει τις πολυφαινόλες παρουσιάζει μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης συγκριτικά με τις απλές συσκευασίες PLA και PA/PE, με την ενδέκατη και δέκατη όγδοη ημέρα αποθήκευσης να υπάρχει διαφορά στο μικροβιακό φορτίου τουλάχιστον 1 log(cfu/g). Σε αντίθεση με τις τρεις αυτές συσκευασίες, στη συσκευασία με το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, παρατηρείται πως ο μικροβιακός πληθυσμός φτάνει στο μέγιστο της ανάπτυξης του μέχρι την ενδέκατη ημέρα και στην συνέχεια μειώνεται σταδιακά. Το μίγμα αντιμικροβιακών φαίνεται να έχει ισχυρότερες αντιμικροβιακές ιδιότητες λόγω της συνέργειας αυτών, έναντι της μεμονωμένης δράσης τους, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από την υπάρχουσα επιστημονική βιβλιογραφία (Yang et al, 2020).

6.4.4 Ανάπτυξη *Pseudomonas* spp.



Διάγραμμα 25. Μεταβολή των *Pseudomonas* spp. για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 4°C.

Σύμφωνα με το **Διάγραμμα 25**, ο μικροβιακός πληθυσμός του *Pseudomonas* spp. για τις συνθήκες συσκευασίας PA/PE, PLA + 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus και για το PLA που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα σε όλη την διάρκεια της αποθήκευσης, γεγονός που σημαίνει πως η δράση των αντιμικροβιακών δεν επηρεάζει σημαντικά την επέκταση της διάρκειας ζωής της γαλοπούλας. Συγκριτικά με το απλό PLA, οι προαναφερθείσες συσκευασίες διατηρούν σε χαμηλότερα επίπεδα τον μικροβιακό πληθυσμό και συγκεκριμένα σε διαφορά της τάξης του 1 log(cfu/g).

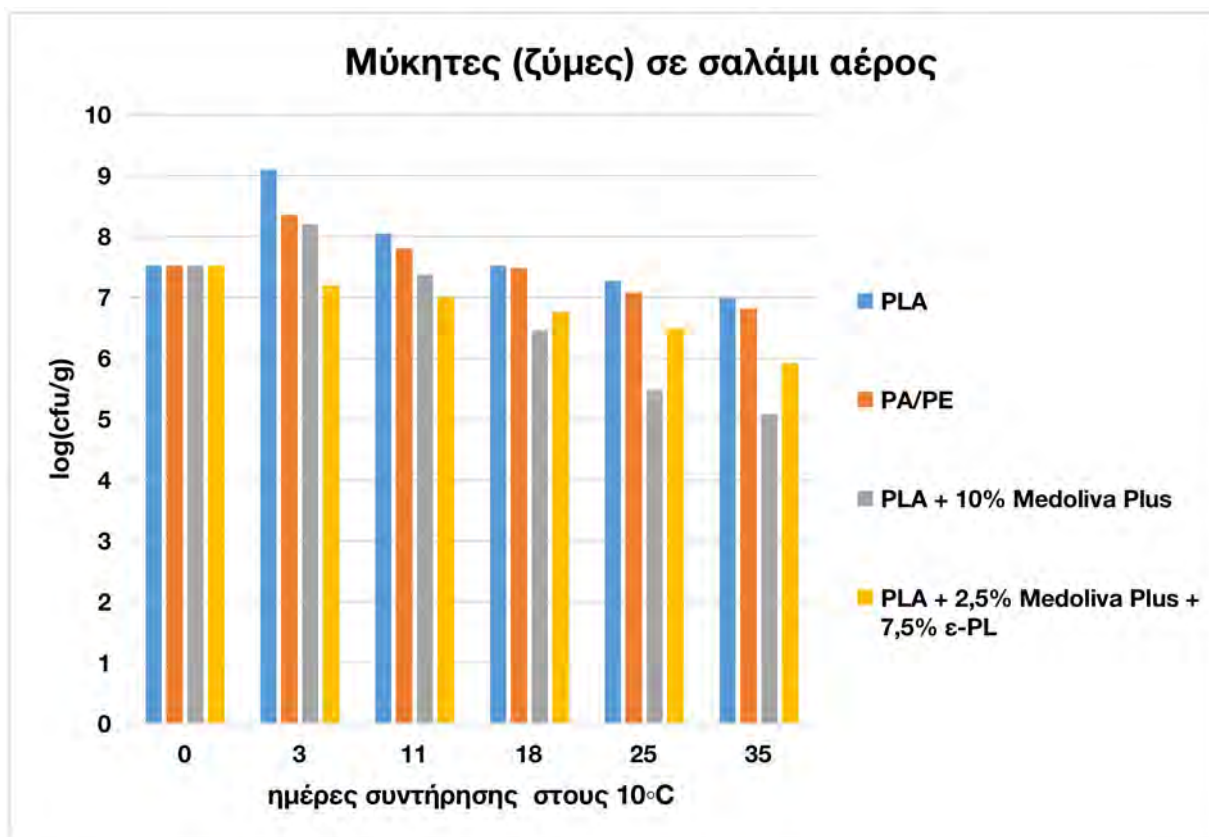


Διάγραμμα 26. Μεταβολή των *Pseudomonas* spp. για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στο **Διάγραμμα 26**, παρατηρείται παρόμοια πορεία ανάπτυξης του μικροβιακού πληθυσμού με τους 4°C και για τις τέσσερις συνθήκες συσκευασίας, με τη διαφορά πως το μικροβιακό φορτίο ανέρχεται σε υψηλότερα επίπεδα, περίπου 1-2 log(cfu/g).

6.5 Ζυμούμενο σαλάμι αέρος

6.5.1 Ανάπτυξη Μυκήτων (ζύμες)



Διάγραμμα 27. Μεταβολή των Μυκήτων (ζυμών) για κάθε συνθήκη συσκευασίας στους 10°C.

Στο **Διάγραμμα 27**, οι συσκευασίες που έχουν ενισχυθεί με αντιμικροβιακά παρουσιάζουν χαμηλότερο μικροβιακό φορτίο σε σύγκριση με τις απλές συσκευασίες. Στην θερμοκρασία αυτή, η διαφορά του πληθυσμού των ζυμών μεταξύ της τρίτης και της τριακοστής πέμπτης ημέρας αποθήκευσης, φτάνει έως και τα 2 log(cfu/g), ενώ καθόλη την διάρκεια της συντήρησης, η διαφορά στο μικροβιακό φορτίο μεταξύ των απλών πλαστικών και των ενισχυμένων με αντιμικροβιακές ουσίες, ανέρχεται στα >1 log(cfu/g). Συνολικά, για κάθε συνθήκη συσκευασίας δεν σημειώθηκε ανάπτυξη μούχλας, αλλά μόνο ζυμών.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο παρόν κεφάλαιο, θα γίνει αναφορά των συμπερασμάτων της μελέτης που παρουσιάστηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία.

Για το **νωπό χοιρινό κιμά (φυσική μικροχλωρίδα)** με βάση τη σειρά των πειραμάτων που ολοκληρώθηκαν, εξάγονται τα εξής συμπεράσματα:

- Στους 4°C, παρατηρήθηκε ανασταλτική δράση των αντιμικροβιακών συσκευασιών έναντι των μικροοργανισμών *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα και των *Enterobacteriaceae*, με εξαίρεση τα οξυγαλακτικά βακτήρια.
- Στους 10°C υπήρξε αναστολή της δράσης κυρίως για το είδος της *Escherichia coli*, αλλά όχι για τα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία παρουσίασαν αντίσταση στις αντιμικροβιακές ουσίες.
- Η συνεργηστική δράση μεταξύ της πολυφαινόλη Medoliva Plus και της ε-PL επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα ως προς την διατηρησιμότητα του προϊόντος, λόγω της διατήρησης του μικροβιακού πληθυσμού σε χαμηλότερα επίπεδα, αλλά και του βραδύτερου ρυθμού ανάπτυξης.

Για το **νωπό χοιρινό κιμά (εμβολιασμένος με παθογόνα μικρόβια)** σύμφωνα με το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε, εξάγονται τα εξής συμπεράσματα:

- Για την *Escherichia coli* παρατηρήθηκε ότι η συσκευασία με την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus διεγείρει την ανάπτυξη της και στις δύο θερμοκρασίες, ενώ αυτή που περιέχει το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL λειτουργεί ανασταλτικά στην εκάστοτε συνθήκη συντήρησης.
- Για τον *Staphylococcus spp.*, ανασταλτικά έδρασε μόνο η 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus, σε αντίθεση με την συσκευασία της πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL, που κυμαίνεται σε παρόμοιο λογαριθμικό εύρος με τις απλές συσκευασίες.
- Οι δύο ενεργές συσκευασίες με αντιμικροβιακά παρουσίασαν παρόμοια και σημαντική ανασταλτική δράση εναντίον του μικροοργανισμού *Listeria*

monocytogenes στους 4°C, ενώ στους 10°C σημειώθηκε μικρότερη αντιμικροβιακή επίδραση .

- Η συσκευασία που περιέχει μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL έδρασε ανασταλτικά έναντι της *Salmonella typhimurium* για την θερμοκρασία των 4°C, ενώ στους 10°C, ο μικροβιακός πληθυσμός διατηρήθηκε σε παρόμοια επίπεδα για κάθε συνθήκη συσκευασίας.

Με το πέρας των πειραμάτων για τις **παστεριωμένες φέτες γαλοπούλας**, εξάγονται τα εξής συμπεράσματα:

- Για την Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα παρατηρήθηκε η αποτελεσματική αντιμικροβιακή δράση των συσκευασιών με την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus και με το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL και στις δύο θερμοκρασίες μελέτης, 4°C και 10°C.
- Σχετικά με τα οξυγαλακτικά βακτήρια, οι αντιμικροβιακές συσκευασίες δεν παρουσίασαν καμία ανασταλτική δράση.
- Στους 4°C υπήρξε αναστολή των *Enterobacteriaceae* και από τις δύο ενισχυμένες με αντιμικροβιακά συσκευασίες, ενώ στους 10°C μόνο το μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL παρουσίασε ανασταλτική δράση, ενώ η συσκευασία με την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus διεγείρει την ανάπτυξη αυτών.
- Για τον μικροοργανισμό *Pseudomonas spp.*, σημειώθηκε αντιμικροβιακή δράση σε επίπεδα μικροβιακού φορτίου παρόμοια με το πλαστικό PA/PE και στις δύο θερμοκρασίες.

Για το **ζυμούμενο σαλάμι αέρος** έπειτα της ολοκλήρωσης των πειραματικών διαδικασιών, στην θερμοκρασία αποθήκευσης των 10°C σημειώθηκε αναστολή των ζυμών, με την συσκευασία που περιέχει την 10% πολυφαινόλη Medoliva Plus να παρουσιάζει αποτελεσματικότερη δράση.

Από όλα τα παραπάνω διεξάγεται το συμπέρασμα ότι η εφαρμογή ενεργών συσκευασιών με μίγμα πολυφαινόλη Medoliva Plus - ε-PL επιδεικνύει γενικά θετικά αποτελέσματα στην αναστολή της ανάπτυξης τόσο αλλοιογόνων, όσο και παθογόνων

μικροοργανισμών σε νωπά, ζυμούμενα και παστεριωμένα προϊόντα κρέατος, ειδικά σε χαμηλότερες θερμοκρασίες συντήρησης, της τάξεως των 4°C, συγκριτικά με τους 10°C. Η συνεργιστική δράση των αντιμικροβιακών ουσιών είναι πιο αποτελεσματική στη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού και στην επιβράδυνση της ανάπτυξης τους. Πιο συγκεκριμένα, η μείωση αυτή κυμαίνεται μεταξύ 0,5-1 log (cfu/g) γεγονός που οφείλεται στην επίδραση των αντιμικροβιακών κυρίως στην επιφάνεια των προς μελέτη προϊόντων.

Η εφαρμογή των δύο αντιμικροβιακών συστατικών στο υλικό PLA, αποτελεί μία σημαντική καινοτομία για την βιομηχανία τροφίμων, καθώς ενισχύει τη διάρκεια ζωής και την ασφάλεια των προϊόντων κρέατος. Το PLA, ως βιοαποικοδομήσιμο και επομένως φιλικό προς το περιβάλλον υλικό, παρουσιάζει πλεονεκτήματα έναντι των παραδοσιακών πλαστικών. Ιδιαίτερα, μια ενεργή συσκευασία με βάση το PLA που περιέχει αντιμικροβιακούς παράγοντες, όπως η πολυφαινόλη Medoliva Plus και η πολυλυσίνη ε-PL, συμβάλλει όχι μόνο στην παράταση της διάρκειας ζωής των προϊόντων, αλλά και στη διατήρηση και βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειάς τους, προσφέροντας παράλληλα περιβαλλοντικά οφέλη.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adams, M.R. and Moss, M.O. (2008). Food Microbiology. 3rd Edition. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
2. Ahmed, J., Hiremath, N., & Jacob, H. (2016). Antimicrobial, rheological, and thermal properties of plasticized polylactide films incorporated with essential oils to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Campylobacter jejuni*. *Journal of Food Science*, 81(2), E419-E429.
3. Ala, M. A. N., & Shahbazi, Y. (2019). The effects of novel bioactive carboxymethyl cellulose coatings on food-borne pathogenic bacteria and shelf life extension of fresh and sauced chicken breast fillets. *Lwt*, 111, 602-611.
4. Almasi, H., Jahanbakhsh Oskouie, M., & Saleh, A. (2021). A review on techniques utilized for design of controlled release food active packaging. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(15), 2601-2621.
5. Al-Moghazy, M., Mahmoud, M., & Nada, A. A. (2020). Fabrication of cellulose-based adhesive composite as an active packaging material to extend the shelf life of cheese. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 264-275.
6. Andrade, M. A., Barbosa, C. H., Cerqueira, M. A., Azevedo, A. G., Barros, C., Machado, A. V., ... & Ramos, F. (2023). PLA films loaded with green tea and rosemary polyphenolic extracts as an active packaging for almond and beef. *Food Packaging and Shelf Life*, 36, 101041.
7. Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and infection*, 1(2), 125-129.
8. Antonova, N. P., Vasina, D. V., Lendel, A. M., Usachev, E. V., Makarov, V. V., Gintsburg, A. L., ... & Gushchin, V. A. (2019). Broad bactericidal activity of the Myoviridae bacteriophage lysins LysAm24, LysECD7, and LysSi3 against Gram-negative ESKAPE pathogens. *Viruses*, 11(3), 284.
9. Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773. <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>

10. Arslan, S., Eyi, a, Özdemir, F., 2011. Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. *J. Dairy Sci.* 94, 5851–6. doi:10.3168/jds.2011-4676
11. Balaban, N., & Rasooly, A. (2000). Staphylococcal enterotoxins. *International journal of food microbiology*, 61(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00377-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00377-9)
12. Bautista, D. A. (2014). SPOILAGE PROBLEMS | Problems Caused by Bacteria. In C. A. Batt & M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition) (pp. 465-470). Academic Press. ISBN 9780123847331. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00314-1.
13. Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of clinical microbiology*, 38(7), 2465–2467. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.7.2465-2467.2000>
14. Brody, A. L., Strupinsky, E. P., & Kline, L. R. (2001). Active packaging for food applications. CRC press.
15. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
16. Butler, B. L., Vergano, P. J., Testin, R. F., Bunn, J. M., & Wiles, J. L. (1996). Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of food science*, 61(5), 953-956.
17. Cai, R., Zhang, M., Cui, L., Yuan, Y., Yang, Y., Wang, Z., & Yue, T. (2019). Antibacterial activity and mechanism of thymol against *Alicyclobacillus acidoterrestris* vegetative cells and spores. *Lwt*, 105, 377-384.
18. Carpenter, T. S., Parkin, J., & Khalid, S. (2016). The free energy of small solute permeation through the *Escherichia coli* outer membrane has a distinctly asymmetric profile. *The journal of physical chemistry letters*, 7(17), 3446-3451.
19. Chen, M., Li, L., Xia, L., Kong, Y., Jiang, S., Chen, X., & Wang, H. (2023). Preparation of PLGA/ε-polylysine nanofibers and their application for pork preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 35, Article 101031. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101031>
20. Chen, M. & Hoover, D. G. (2003). Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(3), 82-100.

21. Choe, Eunok & Min, David. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Compr Rev Food Sci F* 8:345-358. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 8. 345 - 358. 10.1111/j.1541-4337.2009.00085.x.
22. Chu, Z., Zhao, T., Li, L., Fan, J., & Qin, Y. (2017). Characterization of antimicrobial poly (lactic acid)/nano-composite films with silver and zinc oxide nanoparticles. *Materials*, 10(6), 659.
23. Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 38(2), 99-107.
24. Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.
25. Dalmaso, M., Hill, C., & Ross, R. P. (2014). Exploiting gut bacteriophages for human health. *Trends in microbiology*, 22(7), 399-405.
26. David, G., Gontard, N., & Angellier-Coussy, H. (2019). Mitigating the impact of cellulose particles on the performance of biopolyester-based composites by gas-phase esterification. *Polymers*, 11(2), 200.
27. Dawson, P. L. (2000). Packaging. In *Poultry meat processing* (pp. 83-106). CRC Press.
28. Deshmukh, R.K., Gaikwad, K.K. Natural antimicrobial and antioxidant compounds for active food packaging applications. *Biomass Conv. Bioref.* 14, 4419–4440 (2024). <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02623-w>
29. Diez-Gonzalez, F. (2014). TOTAL VIABLE COUNTS | Specific Techniques. In C. Batt & M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). Academic Press. ISBN 9780123847331. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00332-3.
30. Doyle, M. P., & Wood, R. (2014). Microbiological safety of meat. *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed.). Academic Press.
31. Dudley, E. G. (2022). Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 5th Edition. *Emerging Infectious Diseases*, 28(1), 267. <https://doi.org/10.3201/eid2801.211862>.
32. Dutta, J., Tripathi, S., & Dutta, P. K. (2012). Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. *Food Science and Technology International*, 18(1), 3-34.

33. Eden, R. (2014). ENTEROBACTERIACEAE, COLIFORMS AND E. COLI | Classical and Modern Methods for Detection and Enumeration. In C. A. Batt & M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). Academic Press. ISBN 9780123847331. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00097-5.
34. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2022. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 2022; 20(12):7666, 273 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>
35. Escobar, A., Perez, M., Romanelli, G., & Blustein, G. (2020). Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(12), 9243-9269.
36. Fadiji, T., Rashvand, M., Daramola, M. O., & Iwarere, S. A. (2023). A review on antimicrobial packaging for extending the shelf life of food. *Processes*, 11(2), 590.
37. Faner, R., Sibila, O., Agustí, A., Bernasconi, E., Chalmers, J. D., Huffnagle, G. B., ... & Monsó, E. (2017). The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *European Respiratory Journal*, 49(4).
38. Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in food science & technology*, 21(10), 510-523.
39. Farnaud, S., & Evans, R. W. (2003). Lactoferrin—a multifunctional protein with antimicrobial properties. *Molecular immunology*, 40(7), 395-405.
40. Fiore, A., Park, S., Volpe, S., Torrieri, E., & Masi, P. (2021). Active packaging based on PLA and chitosan-caseinate enriched rosemary essential oil coating for fresh minced chicken breast application. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100708.
41. Fiorentini, C., Leni, G., de Apodaca, E. D., Fernández-de-Castro, L., Rocchetti, G., Cortimiglia, C., Spigno, G., & Bassani, A. (2024). Development of coated PLA films containing a commercial olive leaf extract for the food packaging sector. *Antioxidants*, 13, 519. <https://doi.org/10.3390/antiox13050519>
42. Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., Mandrell, R. E., & Kozukue, N. (2006). Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*. *Journal of food protection*, 69(2), 354–361. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.2.354>

43. Fries, R. (2002). Reducing Salmonella transfer during industrial poultry meat production. *World's Poultry Science Journal*, 58(4), 527-540. <https://doi.org/10.1079/WPS20020038>
44. Gadang, V. P., Hettiarachchy, N. S., Johnson, M. G., & Owens, C. (2008). Evaluation of antibacterial activity of whey protein isolate coating incorporated with nisin, grape seed extract, malic acid, and EDTA on a turkey frankfurter system. *Journal of Food Science*, 73(8), M389-M394.d at 4 C in vacuum packages. *LWT-Food Science and Technology*, 38(1), 21-28.
45. Gao, H., Fang, X., Chen, H., Qin, Y., Xu, F., & Jin, T. Z. (2017). Physiochemical properties and food application of antimicrobial PLA film. *Food Control*, 73, 1522-1531.
46. Geornaras, I., Yoon, Y., Belk, K. E., Smith, G. C., & Sofos, J. N. (2007). Antimicrobial activity of ϵ -polylysine against *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* in various food extracts. *Journal of Food Science*, 72(8), M330-M334.
47. Giavasis, I., Tsante, E., Goutsidis, P., Papatheodorou, K., & Petrotos, K. (2012). Stimulatory effect of novel polyphenol-based supplements from olive mill waste on the growth and acid production of lactic acid bacteria. In *Microbes in Applied Research: Current Advances and Challenges* (pp. 308-312).
48. Gillaspay, A.F., & Iandolo, J.J. (2014). STAPHYLOCOCCUS | Introduction. In C.A. Batt & M.L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition) (pp. 482-486). Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00316-5.
49. Glicerina, V., Siroli, L., Canali, G., Chinnici, F., Capelli, F., Lanciotti, R., ... & Romani, S. (2021). Efficacy of biodegradable, antimicrobial packaging on safety and quality parameters maintenance of a pear juice and rice milk-based smoothie product. *Food Control*, 128, 108170.
50. Guan, G., Azad, M. A. K., Lin, Y., Kim, S. W., Tian, Y., Liu, G., & Wang, H. (2019). Biological effects and applications of chitosan and chito-oligosaccharides. *Frontiers in physiology*, 10, 516.
51. Haddad Kashani, H., Schmelcher, M., Sabzalipoor, H., Seyed Hosseini, E., & Moniri, R. (2018). Recombinant endolysins as potential therapeutics against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: current status of research and novel delivery strategies. *Clinical microbiology reviews*, 31(1), 10-1128.

52. Han, J. H. (2003). Antimicrobial food packaging. *Novel food packaging techniques*, 8, 50-70.
53. Hardin, M.D. (2024). Microbial contamination | decontamination of processed meat. In M. Dikeman (Ed.), *Encyclopedia of Meat Sciences* (Third Edition). (pp. 189-195). Elsevier. ISBN 9780323851985. doi:10.1016/B978-0-323-85125-1.00010-7.
54. Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., ... & World Health Organization Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group. (2015). World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS medicine*, 12(12), e1001923.
55. Hernández-García, E., Vargas, M., & Torres-Giner, S. (2022) 'Quality and Shelf-Life Stability of Pork Meat Fillets Packaged in Multilayer Polylactide Films', *Foods*, 11(3), p. 426. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods11030426>.
56. Heydari, A., Hadian, J., Esmaeili, H., Kanani, M. R., Mirjalili, M. H., & Sarkhosh, A. (2019). Introduction of *Thymus daenensis* into cultivation: Analysis of agro-morphological, phytochemical and genetic diversity of cultivated clones. *Industrial Crops and Products*, 131, 14-24.
57. Higuera-Ciapara, I., Benitez-Vindiola, M., Figueroa-Yañez, L. J., & Martínez-Benavidez, E. (2024). Polyphenols and CRISPR as Quorum Quenching Agents in Antibiotic-Resistant Foodborne Human Pathogens (*Salmonella Typhimurium*, *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* 0157: H7). *Foods*, 13(4), 584.
58. Hocking, A.D. (2014). SPOILAGE PROBLEMS | Problems Caused by Fungi. In C.A. Batt & M.L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). Academic Press. ISBN 9780123847331. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00315-3.
59. Huang, Z., Zhang, Z., Tong, J., Malakar, P. K., Chen, L., Liu, H., ... & Zhao, Y. (2021). Phages and their lysins: Toolkits in the battle against foodborne pathogens in the postantibiotic era. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3319-3343.
60. Hurst, A. (1981). Nisin. In *Advances in applied microbiology* (Vol. 27, pp. 85-123). Academic Press.
61. Izadi, F., Pajohi-Alamoti, M., Emamifar, A. et al. (2024) 'Fabrication and Characterization of Active Poly(Lactic Acid) Films Containing *Thymus daenensis*

- Essential Oil/Beta-cyclodextrin Inclusion Complex and Silver Nanoparticles to Extend the Shelf Life of Ground Beef', *Food Bioprocess Technol*, 17, pp. 1309–1320. doi: 10.1007/s11947-023-03200-3.
62. Jahani, S., Shakiba, A., & Jahani, L. (2015). The Antimicrobial effect of lactoferrin on Gram-negative and Gram-positive bacteria. *International Journal of Infection*, 2(3).
 63. Jiang, Y., Zhang, Y., & Deng, Y. (2023). Latest Advances in Active Materials for Food Packaging and Their Application. *Foods*, 12(22), 4055.
 64. Jin, T., Liu, L., Zhang, H., & Hicks, K. (2009). Antimicrobial activity of nisin incorporated in pectin and polylactic acid composite films against *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(2), 322-329.
 65. Khalil, H. A., Saurabh, C. K., Tye, Y. Y., Lai, T. K., Easa, A. M., Rosamah, E., ... & Banerjee, A. (2017). Seaweed based sustainable films and composites for food and pharmaceutical applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 77, 353-362.
 66. Khan, I., & Oh, D. H. (2016). Integration of nisin into nanoparticles for application in foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 34, 376-384.
 67. Kim, N. H., Kim, H. W., Moon, H., & Rhee, M. S. (2020). Sodium chloride significantly enhances the bactericidal actions of carvacrol and thymol against the halotolerant species *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. *Lwt*, 122, 109015.
 68. Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, 52, pp. 299–305.
 69. Labuza, T., & Breene, W. (1989). Applications of "active packaging" for quality of fresh and extended improvement of shelf-life and nutritional shelf life foods. *Retrieved*, 17(2018), 2.
 70. Lan, W., Zhang, N., Liu, S., Chen, M., & Xie, J. (2019). ϵ -Polylysine inhibits *Shewanella putrefaciens* with membrane disruption and cell damage. *Molecules*, 24(20). <https://doi.org/10.3390/molecules24203727>. Article 20.
 71. Law 2939/01, "Packaging and alternative management of packaging and other products" - Establishment of the National Organization for the Enlarged Management of Packaging and Other Products E.O.E.E.D.S.A.P.", *Government Gazette* 179/2001.

72. Lawson, L. D. (1996). The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. *Garlic*.
73. Li, X., Zhang, R., Hassan, M.M., Cheng, Z., Mills, J., Hou, C., Realini, C.E., Chen, L., Day, L., Zheng, X. et al. (2022) 'Active Packaging for the Extended Shelf-Life of Meat: Perspectives from Consumption Habits, Market Requirements and Packaging Practices in China and New Zealand', *Foods*, 11(18), p. 2903. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods11182903>.
74. Liu, H., Pei, H., Han, Z., Feng, G., & Li, D. (2015). The antimicrobial effects and synergistic antibacterial mechanism of the combination of ϵ -Polylysine and nisin against *Bacillus subtilis*. *Food control*, 47, 444-450.
75. Liu, Y., Ahmed, S., Sameen, D. E., Wang, Y., Lu, R., Dai, J., ... & Qin, W. (2021). A review of cellulose and its derivatives in biopolymer-based for food packaging application. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 532-546.
76. Loc-Carrillo, C., & Abedon, S. T. (2011). Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*, 1(2), 111-114.
77. Lücke, L.M. (2014). Lactic Acid Bacteria: Their Uses in Meat and Meat Products. *Food and Beverage Fermentation Technology*, 219-241.
78. Lubber, P., & Scherer, K. (2014). Foodborne disease. *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed). Academic Press.
79. Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., Jones, T. F., Fazil, A., Hoekstra, R. M., & International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 50(6), 882–889. <https://doi.org/10.1086/650733>
80. Malathi, A. N., Santhosh, K. S., & Nidoni, U. (2014). Recent trends of biodegradable polymer: biodegradable films for food packaging and application of nanotechnology in biodegradable food packaging. *Current Trends in Technology and Science*, 3(2), 73-79.
81. Malek, N. S. A., Faizwan, M., Khusaimi, Z., Bonnia, N. N., Rusop, M., & Asli, N. A. (2021, April). Preparation and characterization of biodegradable polylactic acid (PLA) film for food packaging application: A Review. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1892, No. 1, p. 012037). IOP Publishing.

82. Mazzotta, E., Muzzalupo, R., Chiappetta, A., & Muzzalupo, I. (2022). Control of the verticillium wilt on tomato plants by means of olive leaf extracts loaded on chitosan nanoparticles. *Microorganisms*, 10(1), 136.
83. Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., ... & Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food chemistry*, 210, 402-414.
84. Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). Food packaging—roles, materials, and environmental issues. *Journal of food science*, 72(3), R39-R55.
85. Martins, J. T., Cerqueira, M. A., Souza, B. W., Carmo Avides, M. D., & Vicente, A. A. (2010). Shelf life extension of ricotta cheese using coatings of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 58(3), 1884-1891.
86. Millette, M. C. L. T., Le Tien, C., Smoragiewicz, W., & Lacroix, M. (2007). Inhibition of *Staphylococcus aureus* on beef by nisin-containing modified alginate films and beads. *Food control*, 18(7), 878-884.
87. Mohammed, A. N., & Abdel Aziz, S. A. A. (2019). Novel approach for controlling resistant *Listeria monocytogenes* to antimicrobials using different disinfectants types loaded on silver nanoparticles (AgNPs). *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 1954-1961.
88. Musella, E., Ouazzani, I. C. E., Mendes, A. R., Rovera, C., Farris, S., Mena, C., ... & Poças, F. (2021). Preparation and characterization of bioactive chitosan-based films incorporated with olive leaves extract for food packaging applications. *Coatings*, 11(11), 1339.
89. Namasivayam, S. K. R., John, A., RS, A. B., Kavisri, M., & Moovendhan, M. (2022). Biocompatible formulation of cationic antimicrobial peptide Polylysine (PL) through nanotechnology principles and its potential role in food preservation—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222, 1734-1746.
90. Narasimha Rao, D., & Sachindra, N. M. (2002). Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews International*, 18(4), 263-293.

91. Nawaz, N., Wen, S., Wang, F., Nawaz, S., Raza, J., Iftikhar, M., & Usman, M. (2022). Lysozyme and its application as antibacterial agent in food industry. *Molecules*, 27(19), 6305.
92. Negash, A. W., & Tsehai, B. A. (2020). Current applications of bacteriocin. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 4374891.
93. Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(4), 593-656.
94. No, H., & Meyers, S. (1995). Preparation and characterization of chitin and chitosan—A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 4(2), 27-52.
95. Omar S. H. (2010). Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia pharmaceutica*, 78(2), 133–154. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0912-18>
96. Onyeaka, H., Obileke, K., Makaka, G., & Nwokolo, N. (2022). Current research and applications of starch-based biodegradable films for food packaging. *Polymers*, 14(6), 1126.
97. Pabon, K. S. M., Aponte, A. A. A., Duque, J. F. S., & Villada, H. S. (2021). Characterization and antimicrobial efficacy of active biocomposite containing polylactic acid, oregano essential oil and nisin for pork storage. *Food Science and Technology*, 42, e67420.
98. Papadakis S., (2023). Food Packaging (pp. 491-540). Tziolas Publications.
99. Patel, A. K., Singhanian, R. R., Pandey, A., Joshi, V. K., Nigam, P. S., Soccol, C. R. (2014). ENTEROBACTERIACEAE, COLIFORMS AND E. COLI | Introduction. In C. A. Batt & M. L. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). (pp. 659-666). Academic Press. ISBN 9780123847331. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00096-3.
100. Pelissari, F. M., Yamashita, F., & Grossmann, M. V. E. (2011). Extrusion parameters related to starch/chitosan active films properties. *International journal of food science & technology*, 46(4), 702-710.
101. Pierquet, J., Arendt, S. W., Rahamat, S., Hall, N., Mandernach, S., Reeb, V., & Speltz, M. (2020). *Listeria monocytogenes* Occurrence and Adherence to Recommendations: Small and Large Retail Delicatessens in Iowa. *Food protection trends*, 40(5), 320–331.

102. Plotka, M., Kapusta, M., Dorawa, S., Kaczorowska, A. K., & Kaczorowski, T. (2019). Ts2631 endolysin from the extremophilic thermus scotoductus bacteriophage vB_Tsc2631 as an antimicrobial agent against gram-negative multidrug-resistant bacteria. *Viruses*, 11(7), 657.
103. Priyadarshi, R., & Rhim, J. W. (2020). Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 62, 102346.
104. Rabea, E. I., Badawy, M. E., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>.
105. Radford, D., Guild, B., Strange, P., Ahmed, R., Lim, L. T., & Balamurugan, S. (2017). Characterization of antimicrobial properties of Salmonella phage Felix O1 and Listeria phage A511 embedded in xanthan coatings on Poly (lactic acid) films. *Food microbiology*, 66, 117-128.
106. Radusin, T., Tomšik, A., Šarić, L., Ristić, I., Giacinti Baschetti, M., Minelli, M., & Novaković, A. (2019). Hybrid Pla/wild garlic antimicrobial composite films for food packaging application. *Polymer Composites*, 40(3), 893-900.
107. Raposo, A., Pérez, E., de Faria, C.T., Ferrús, M.A. and Carrascosa, C. (2016). Food Spoilage by Pseudomonas spp.—An Overview. In Foodborne Pathogens and Antibiotic Resistance, O.V. Singh (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9781119139188.ch3>.
108. Râpă, M., Miteluț, A. C., Tănase, E. E., Grosu, E., Popescu, P., Popa, M. E., ... & Vasile, C. (2016). Influence of chitosan on mechanical, thermal, barrier and antimicrobial properties of PLA-biocomposites for food packaging. *Composites Part B: Engineering*, 102, 112-121.
109. Ray, B.; Bhunia, A.K. *Fundamental Food Microbiology*, 5th ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2013.
110. Restuccia, D., Spizzirri, U. G., Parisi, O. I., Cirillo, G., Curcio, M., Iemma, F., ... & Picci, N. (2010). New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food control*, 21(11), 1425-1435.
111. Rhim, J. W., Hong, S. I., Park, H. M., & Ng, P. K. (2006). Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity.

- Journal of agricultural and food chemistry, 54(16), 5814–5822.
<https://doi.org/10.1021/jf060658h>
112. Ricke, Steve & Rivera Calo, Juliany & Kaldhone, Pravin. (2015). Salmonella Control in Food Production. 10.1016/B978-0-12-800245-2.00007-1.
 113. Lopez-Romero, J. C., González-Ríos, H., Borges, A., & Simões, M. (2015). Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 795435.
 114. Samelis, J., Bedie, G. K., Sofos, J. N., Belk, K. E., Scanga, J. A., & Smith, G. C. (2005). Combinations of nisin with organic acids or salts to control *Listeria monocytogenes* on sliced pork bologna store
 115. Sarfraz, J., Hansen, A. Å., Haugen, J.-E., Le, T.-A., Nilsen, J., Skaret, J., Huynh, T.P. and Pettersen, M.K. (2021) 'Biodegradable Active Packaging as an Alternative to Conventional Packaging: A Case Study with Chicken Fillets', *Foods*, 10(5), p. 1126. Available at: <https://doi.org/10.3390/foods10051126>.
 116. Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1 Suppl), 215S–217S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.215S>
 117. Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Jones, J. L., & Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerging infectious diseases*, 17(1), 7–15. <https://doi.org/10.3201/eid1701.p11101>
 118. Schleifer, E. Martin, G. Lina, and O. Dumitrescu. (2014). "STAPHYLOCOCCUS | *Staphylococcus aureus*." In *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition), edited by Carl A. Batt and Mary Lou Tortorello, 501-507. Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00317-7.
 119. Schlech III, W. F., & Acheson, D. (2000). Foodborne listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, 31(3), 770-775.
 120. Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society reviews*, 39(11), 4067–4079. <https://doi.org/10.1039/b922183m>

121. Shavisi, N., Khanjari, A., Basti, A. A., Misaghi, A., & Shahbazi, Y. (2017). Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and Ziziphora clinopodioides essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat science*, 124, 95-104.
122. Silva, E. M., Da Silva, J. S., Pena, R. S., & Rogez, H. (2011). A combined approach to optimize the drying process of flavonoid-rich leaves (*Inga edulis*) using experimental design and mathematical modelling. *Food and bioproducts Processing*, 89(1), 39-46.
123. Simon, R., Tennant, S. M., Wang, J. Y., Schmidlein, P. J., Lees, A., Ernst, R. K., Pasetti, M. F., Galen, J. E., & Levine, M. M. (2011). Salmonella enterica serovar enteritidis core O polysaccharide conjugated to H: g,m flagellin as a candidate vaccine for protection against invasive infection with S. enteritidis. *Infection and immunity*, 79(10), 4240–4249. <https://doi.org/10.1128/IAI.05484-11>
124. Smith, J. P., Hoshino, J., & Abe, Y. (1995). Interactive packaging involving sachet technology. In *Active food packaging* (pp. 143-173). Boston, MA: Springer US.
125. Sofi, S. A., Singh, J., Rafiq, S., Ashraf, U., Dar, B. N., & Nayik, G. A. (2018). A comprehensive review on antimicrobial packaging and its use in food packaging. *Current Nutrition & Food Science*, 14(4), 305-312.
126. Stoleru, E., Zaharescu, T., Hitruc, E. G., Vesel, A., Ioanid, E. G., Coroaba, A., ... & Vasile, C. (2016). Lactoferrin-immobilized surfaces onto functionalized PLA assisted by the gamma-rays and nitrogen plasma to create materials with multifunctional properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(46), 31902-31915.
127. Su, R., Li, T., Fan, D., Huang, J., Zhao, J., Yan, B., Zhou, W., Zhang, W., & Zhang, H. (2019). The inhibition mechanism of ϵ -polylysine against *Bacillus cereus* emerging in surimi gel during refrigerated storage. *Journal of the science of food and agriculture*, 99(6), 2922–2930. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9505>
128. Süfer, Ö., Oz, A. T., & Çelebi Sezer, Y. (2017). Poly (lactic acid) films in food packaging systems. *Food Sci. Nutr. Technol*, 2(4).
129. Suman, S. P., Joseph, P., & Naveena, B. M. (2017). Preservation of meat products. In *Handbook of Meat and Meat Processing* (2nd ed., pp. 367-400). John Wiley & Sons.

- 130.Sung, S. Y., Sin, L. T., Tee, T. T., Bee, S. T., Rahmat, A. R., Rahman, W. A. W. A., ... & Vikhraman, M. (2013). Antimicrobial agents for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, 33(2), 110-123.
- 131.Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W. (2003). Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal of food science*, 68(2), 408-420.
- 132.Swetha, T. A., Bora, A., Mohanrasu, K., Balaji, P., Raja, R., Ponnuchamy, K., ... & Arun, A. (2023). A comprehensive review on polylactic acid (PLA)–Synthesis, processing and application in food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 234, 123715.
- 133.Tabatabaee Bafroee, A. S., Khanjari, A., Teimourifard, R., & Yarmahmoudi, F. (2020). Development of a novel active packaging film to retain quality and prolong the shelf life of fresh minced lamb meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11), e14880.
- 134.Talebi, F., Misaghi, A., Khanjari, A., Kamkar, A., Gandomi, H., & Rezaeigolestani, M. (2018). Incorporation of spice essential oils into poly-lactic acid film matrix with the aim of extending microbiological and sensorial shelf life of ground beef. *Lwt*, 96, 482-490.
- 135.Talon, R., & Leroy, S. (2014). Fermented Foods | Fermented Meat Products and the Role of Starter Cultures. In C. Batt & M. Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition). Academic Press. ISBN 9780123847331. doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00116-6.
- 136.Tawakkal, I. S., Cran, M. J., & Bigger, S. W. (2016). Interaction and quantification of thymol in active PLA-based materials containing natural fibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2).
- 137.Tawakkal, I. S., Cran, M. J., & Bigger, S. W. (2017). Effect of poly (lactic acid)/kenaf composites incorporated with thymol on the antimicrobial activity of processed meat. *Journal of food processing and preservation*, 41(5), e13145.
- 138.Title of English-language original:Food Microbiology:An introduction, Fourth Edition by Karl R. Mathews, Kalmia E. Kniel and Thomas Montville,ISBN:9781555819385,published by ASM press. Greek-language edition copyright ©2021 by Digital Publications. All rights reserved.

139. Todd, E. C., Greig, J. D., Bartleson, C. A., & Michaels, B. S. (2008). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 4. Infective doses and pathogen carriage. *Journal of Food Protection*, 71(11), 2339-2373.
140. Tomšik, A., Pavlič, B., Vladić, J., Cindrić, M., Jovanov, P., Sakač, M., ... & Vidović, S. (2017). Subcritical water extraction of wild garlic (*Allium ursinum* L.) and process optimization by response surface methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 79-88.
141. Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2016). *Microbiology: An Introduction*. Pearson.
142. U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2020. Substances Added to Food (formerly EAFUS) [WWW Document]. URL <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=FoodSubstances&sort=Sortterm&order=ASC&startrow=1&type=basic&search=thymol>
143. Zhu, M., Du, M., Cordray, J., & Ahn, D. U. (2005). Control of *Listeria monocytogenes* contamination in ready-to-eat meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(2), 34-42.
144. Van den Broek, L. A., Knoop, R. J., Kappen, F. H., & Boeriu, C. G. (2015). Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate polymers*, 116, 237-242.
145. Vermeiren, L., Devlieghere, F., van Beest, M., de Kruijf, N., & Debevere, J. (1999). Developments in the active packaging of foods. *Trends in food science & technology*, 10(3), 77-86.
146. Wang, L., Zhang, C., Zhang, J., Rao, Z., Xu, X., Mao, Z., & Chen, X. (2021). Epsilon-poly-L-lysine: Recent Advances in Biomanufacturing and Applications. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 748976. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.748976>
147. Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., ... & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285.
148. Wang, W., Gu, F., Deng, Z., Zhu, Y., Zhu, J., Guo, T., ... & Xiao, H. (2021). Multilayer surface construction for enhancing barrier properties of cellulose-based packaging. *Carbohydrate Polymers*, 255, 117431.

149. Wang, F., Ji, X., Li, Q., Zhang, G., Peng, J., Hai, J., ... & Lin, L. (2020). TSPphg lysin from the extremophilic thermus bacteriophage TSP4 as a potential antimicrobial agent against both gram-negative and gram-positive pathogenic bacteria. *Viruses*, 12(2), 192.
150. Wang, H., Qian, J., & Ding, F. (2018). Emerging chitosan-based films for food packaging applications. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(2), 395-413.
151. Wyrwa, J., & Barska, A. (2017). Innovations in the food packaging market: Active packaging. *European Food Research and Technology*, 243, 1681-1692.
152. Yan, M. R., Hsieh, S., & Ricacho, N. (2022). Innovative food packaging, food quality and safety, and consumer perspectives. *Processes*, 10(4), 747.
153. Yang, H. J., & Song, K. B. (2016). Application of lemongrass oil-containing polylactic acid films to the packaging of pork sausages. *Korean journal for food science of animal resources*, 36(3), 421.
154. Yang, H., Li, Q., Yang, L., Sun, T., Li, X., Zhou, B., & Li, J. (2020). The competitive release kinetics and synergistic antibacterial characteristics of tea polyphenols/ ϵ -poly-l-lysine hydrochloride core-shell microcapsules against *Shewanella putrefaciens*. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(12), 3542-3552.
155. Ye, R., Xu, H., Wan, C., Peng, S., Wang, L., Xu, H., ... & Wei, H. (2013). Antibacterial activity and mechanism of action of ϵ -poly-l-lysine. *Biochemical and biophysical research communications*, 439(1), 148-153.
156. Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., ... & Coma, V. (2018). Active packaging applications for food. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*, 17(1), 165-199.
157. Yildiz, E., & Aydogdu Emir, A. (2024). Expanding the shelf life of chicken fillets by the use of polylactic acid (PLA) active films: An investigation of orange oil antibacterial potential. *Polymer Engineering & Science*.
158. Youssef, A. M., El-Sayed, S. M., El-Sayed, H. S., Salama, H. H., & Dufresne, A. (2016). Enhancement of Egyptian soft white cheese shelf life using a novel chitosan/carboxymethyl cellulose/zinc oxide bionanocomposite film. *Carbohydrate polymers*, 151, 9-19.
159. Zafar, U., Vivacqua, V., Calvert, G., Ghadiri, M., & Cleaver, J. S. (2017). A review of bulk powder caking. *Powder Technology*, 313, 389-401.

160. Zhong, Y., Godwin, P., Jin, Y., & Xiao, H. (2020). Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1), 27-35.
161. Zimina, M., Babich, O., Prosekov, A., Sukhikh, S., Ivanova, S., Shevchenko, M., & Noskova, S. (2020). Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. *Antibiotics*, 9(9), 553.