



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
Τμήμα Ιατρικής

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία & Περιβαλλοντική Υγιεινή»

**«Μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης αιθέριου
ελαίου χαμομηλιού κατά του *Staphylococcus*
aureus σε παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο»**

Μεταπτυχιακή Εργασία

Χριστόφορος Κωσταρέλλος
A.M.: M030622007

Λάρισα, 2025



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
Faculty of Medicine

Postgraduate Program
«Applied Public Health and Environmental Sanitation»

**« Study of the antimicrobial activity of
chamomile essential oil against *Staphylococcus
aureus* in a Greek traditional sausage»**

Master Thesis

Christoforos Kostarellos

R.N.: M030622007

Larissa, 2025

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Νικόλαος Σολωμάκος
(επιβλέπων)

Αναπληρωτής Καθηγητής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Υγείας
Τμήμα Κτηνιατρικής

Πεξάρá Ανδρεάνα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Υγείας
Τμήμα Κτηνιατρικής

Γκόβαρης Αλέξανδρος

Καθηγητής
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Υγείας
Τμήμα Κτηνιατρικής

Λάρισα, 2025

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	4
Περίληψη	6
Abstract	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	8
ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	9
ΜΕΡΟΣ Α.....	10
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	10
A.1 Αιθέριο έλαιο χαμομηλιού.....	11
A.1.1 Γενικές πληροφορίες.....	11
A.1.2 Ενεργά Συστατικά.....	11
A.1.3 Βιολογικές Δράσεις.....	13
Αντιμικροβιακή δράση	13
Αντιοξειδωτική δράση	14
Άλλες ιδιότητες.....	15
A.2 Χρυσίζων Σταφυλόκοκκος (<i>S. aureus</i>).....	16
A.2.1 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά	16
A.2.2 Σταφυλοκοκκική τοξίνωση	17
A.3 Επιδημιολογία τροφιμογενών νοσημάτων	19
A.3.1 Επιδημιολογικά δεδομένα σε διεθνές επίπεδο	19
A.3.2 Επιδημιολογικά δεδομένα σε εθνικό επίπεδο	22
A.4 Παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο	24
ΜΕΡΟΣ Β.....	27
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	27
B.1 Σκοπός.....	28
B.2 Μέρος 1ο : Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριου ελαίου	28
χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λουκάνικου.....	28
B.2.1 Υλικά.....	28
B.2.2. Μέθοδοι.....	28
Παρασκευή αιθέριου ελαίου από αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (<i>Chamomilla recutita</i>)	29
Ομαδοποίηση των δειγμάτων του λουκάνικου.....	29
Διενέργεια οργανοληπτικού ελέγχου	29
B.2.3 Ανάλυση Δεδομένων	30
B.3 Μέρος 2ο : Διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε λουκάνικο χοιρινού κρέατος	31

B.3.1. Υλικά.....	31
B.3.2 Μέθοδοι.....	31
Παρασκευή αιθέριου ελαίου από αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (<i>Chamomilla recutita</i>)	32
Ομαδοποίηση των δειγμάτων	32
Μικροβιολογική Ανάλυση	33
Χημική Ανάλυση.....	33
B.3.3 Ανάλυση δεδομένων.....	33
ΜΕΡΟΣ Γ.....	34
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	34
Γ.1 Μέρος 1ο : Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λουκάνικου.....	35
Γ.1.1 Οσμή	35
Γ.1.2 Γεύση	36
Γ.1.3 Συνολική Αποδοχή.....	37
Γ.2 Μέρος 2ο : Διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε λουκάνικο χοιρινού κρέατος	38
Γ.2.1 Μικροβιολογική Ανάλυση	38
Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)	38
<i>S. aureus</i>	39
Γ.2.2 Χημική Ανάλυση.....	41
Μεταβολή του pH.....	41
Μεταβολή της ενεργότητας νερού.....	42
ΜΕΡΟΣ Δ.....	43
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	43
Δ.1 Κύρια συμπεράσματα της μελέτης.....	44
Δ.1.1 Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά λουκάνικου χοιρινού κρέατος	45
Δ.1.2 Αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά τροφιμογενών παθογόνων	47
Δ.1.3 Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά λουκάνικου χοιρινού κρέατος	48
Δ.2 Συζήτηση	49
Δ.2.1 Σύγκριση με άλλες μελέτες.....	49
Δ.2.2 Αποτίμηση συμπερασμάτων & μελέτης.....	50
Χρησιμότητα συμπερασμάτων	50
Πλεονεκτήματα της μελέτης.....	50
Δ.2.3 Επίλογος & προτάσεις περαιτέρω έρευνας	51
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ.....	52

Περίληψη

Υπόβαθρο: Η αυξανόμενη ζήτηση της αγοράς για φυσικά συντηρητικά στον τομέα των τροφίμων έχει οδηγήσει στην αξιοποίηση των αιθέριων ελαίων ως αντιμικροβιακών παραγόντων. Παρά τη δυναμική αυτή τάση, ο αριθμός των διαθέσιμων δεδομένων ως προς τη χρήση των αιθέριων ελαίων σε παραδοσιακά τρόφιμα είναι περιορισμένος, κυρίως ως προς τη μικροβιολογική τους αποτελεσματικότητα σε τρόφιμα.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης, τέθηκε η διερεύνηση και αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) κατά του παθογόνου μικροοργανισμού *S. aureus*, σε υπόστρωμα παραδοσιακού χωριάτικου λουκάνικου.

Μεθοδολογία: Διενεργήθηκε συγκριτική ανάλυση (ως προς τα οργανοληπτικά, μικροβιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του παραδοσιακού χωριάτικου λουκάνικου), ως προς την προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού, έναντι δειγμάτων μαρτύρων, χωρίς την προσθήκη του αιθέριου ελαίου κατά τη συντήρηση σε συνθήκες ψύξης. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε εκτενής οργανοληπτικός έλεγχος για τον καθορισμό των συγκεντρώσεων του αιθέριου ελαίου, προκειμένου να επιλεχθούν οι τιμές που δεν επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Ακολούθως, ελέγχθηκε η επίδραση δύο οργανοληπτικά αποδεκτών συγκεντρώσεων αιθέριου ελαίου [0,2% και 0,4%] έναντι του *S. aureus*. Περαιτέρω, προσδιορίστηκε η επίδραση του ελαίου έναντι των πληθυσμών της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (O.M.X.).

Αποτελέσματα: Τα προς εξέταση οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση και συνολική αποδοχή) της προσθήκης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2% (CM2) και 0,4% (CM4) παρέμειναν αποδεκτά μέχρι και την 9^η ημέρα και την 12^η ημέρα, αντίστοιχα. Εν συνεχεία, διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη αιθέριου ελαίου: i) επιμηκύνει την αποδοχή του προϊόντος ως προς την οσμή και μετά την 6 ημέρα συντήρησης του σε θερμοκρασία ψύξης ii) επιμηκύνει την αποδοχή του προϊόντος ως προς τη γεύση iii) λειτουργεί βελτιωτικά ως προς τη συνολική αποδοχή του προϊόντος στην πάροδο της συντήρησης σε συνθήκες ψύξης. Αμφότερα τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών μετρήσεων (έναντι των πληθυσμών του *S. aureus*) υπέδειξαν μείωση των πληθυσμών του παθογόνου στα δείγματα που έγινε εφαρμογή του αιθέριου ελαίου. Οι μικροβιολογικές δοκιμές επιβεβαίωσαν τη δυνατότητα του αιθέριου ελαίου να βελτιώνει την ασφάλεια του προϊόντος χωρίς να επηρεάζει αισθητά τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

Συμπεράσματα: Το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού φαίνεται να αποτελεί μια υποσχόμενη φυσική εναλλακτική για τη διασφάλιση της ασφάλειας και της ποιότητας παραδοσιακών τροφίμων, όπως το χωριάτικο λουκάνικο, προάγοντας παράλληλα μια πιο βιώσιμη παραγωγή.

Λέξεις-Κλειδιά: αιθέριο έλαιο χαμομηλιού, χωριάτικο λουκάνικο, αντιμικροβιακή δράση, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Background: The increasing market demand for natural preservatives in the food sector has led to the utilization of essential oils as antimicrobial agents. Despite this emerging trend, the amount of available data regarding the application of essential oils in traditional foods remains limited, particularly concerning the assessment of their microbiological effectiveness in in vivo substrates.

Objective: The aim of the present study was to examine and evaluate the antimicrobial activity of chamomile essential oil (*Chamomilla recutita*) against the foodborne pathogen *S. aureus* in a Greek traditional sausage during refrigerated storage.

Methods: A comparative analysis was conducted (in terms of the organoleptic, microbiological, and chemical characteristics of the sausage) to evaluate the addition of chamomile essential oil compared to the control samples. Specifically, an extensive organoleptic evaluation was initially conducted to determine the essential oil concentrations that do not affect the sensory characteristics of the product. Subsequently, the effect of two acceptable concentrations of the essential oil [0,2%, and 0,4% v/w] was tested against the pathogenic microorganism *S. aureus*. Furthermore, the oil's effect on the total bacterial count (T.B.C.) colonies was assessed as an indicator of the oil's overall microbial impact on the product.

Results: The examined organoleptic characteristics (odor, taste, and overall acceptance) of the addition of chamomile essential oil at concentrations of 0,2% (CM2) and 0,4% (CM4) remained acceptable until the 9th and the 12th day of refrigerated storage. Furthermore, it was determined that the addition of essential oil: i) extends the product's acceptability in terms of odor even after the 6th day of refrigeration storage as in the control group, ii) slows the decline in the product's acceptability in terms of taste, iii) improved the overall acceptance of the product over time. The results of the microbiological analyses (*S. aureus* and T.B.C.) indicated a reduction in the populations of the pathogen which was dependent on the level of the addition of the essential oil. The microbiological tests confirmed the essential oil's ability to enhance the safety of the product without significantly affecting its sensory characteristics at the higher level of the essential oil (0,4%, CM4).

Conclusions: Chamomile essential oil appears to be a promising natural alternative for maintaining the safety and quality of traditional foods, such as traditional sausage, while also promoting more sustainable production practices.

Keywords: essential chamomile oil, traditional sausage, antimicrobial action, *Staphylococcus aureus*

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικ.01	Δευτερογενείς μεταβολίτες του χαμομηλιού <i>Chamomilla recutita</i>	σ.012
Εικ.02	Χρυσίζων Σταφυλόκοκκος (<i>S. aureus</i>)	σ.016
Εικ.03	Επιδημιολογικά δεδομένα τροφιμογενών νοσημάτων σε διεθνές επίπεδο κατά την πενταετία 2018-2022.....	σ.019
Εικ.04	Επιδημιολογικά δεδομένα καταγεγραμμένων επιδημιών, κρουσμάτων νοσηλειών και θανάτων από βακτηριακές τοξίνες σε διάστημα πενταετίας.....	σ.021
Εικ.05	Επιδημιολογικά δεδομένα τροφιμογενών νοσημάτων σε εθνικό επίπεδο κατά την πενταετία 2018-2022.....	σ.022
Εικ.06	Απεικονιστική σύνοψη ευρημάτων για την επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά χοιρινού λουκάνικου.....	σ.045
Εικ.07	Απεικονιστική σύνοψη ευρημάτων για την επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού έναντι των πληθυσμών της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (O.M.X.) και του παθογόνου <i>S. aureus</i> , σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου.....	σ.047
Εικ.08	Απεικονιστική σύνοψη ευρημάτων για την επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά χοιρινού λουκάνικου.....	σ.048

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίν.01	Υλικά πρώτου πειραματικού μέρους	σ.028
Πίν.02	Διάρθρωση μεθοδολογίας πρώτου πειραματικού μέρους.....	σ.029
Πίν.03	Αντιστοιχία βαθμολογίας ορίου αποδοχής και χαρακτηρισμού για τη διενέργεια του οργανοληπτικού ελέγχου.....	σ.030
Πίν.04	Υλικά δεύτερου πειραματικού μέρους	σ.031
Πίν.05	Διάρθρωση μεθοδολογίας δεύτερου πειραματικού μέρους.....	σ.031
Πίν.06.	Ομαδοποίηση των δειγμάτων σύμφωνα με τον ενοφθαλμισμό και την συγκέντρωση προστιθέμενου αιθέριου ελαίου.....	σ.033

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διά.01.	Οργανοληπτικός έλεγχος σύγκρισης της οσμής δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου με την προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2% (CM2), 0,4% (CM4), καθώς και μαρτύρων (CONT).....	σ.035
Διά.02.	Οργανοληπτικός έλεγχος σύγκρισης της γεύσης δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου με την προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2% (CM2), 0,4% (CM4), καθώς και μαρτύρων (CONT).....	σ.036
Διά.03.	Οργανοληπτικός έλεγχος σύγκρισης της συνολικής αποδοχής δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2%(CM2), 0,4%(CM4), καθώς και μαρτύρων (CONT).....	σ.037
Διά.04.	Αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά της OMX σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης για 12 ημέρες.....	σ.038
Διά.05.	Αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά του <i>S.aureus</i> σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης, για 15 ημέρες.....	σ.039
Διά.06.	Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού επί της μεταβολής του pH σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης (4°C) για 15 ημέρες.....	σ.041
Διά.07.	Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού επί της ενεργότητας ύδατος σε υπόστρωμα	

ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Η εκπόνηση της παρούσας ερευνητικής εργασίας υπάγεται στο πλαίσιο διενέργειας της διπλωματικής εργασίας του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία και Περιβαλλοντική Υγιεινή», στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ως κεντρικό αντικείμενο της εργασίας τίθενται η διερεύνηση και αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) έναντι των τροφιμογενών παθογόνων, κι ειδικότερα έναντι των αποικιών του *S. aureus*, σε υπόστρωμα χωριάτικου λουκάνικου. Πέραν αυτού, δευτερογενώς, επιδιώκεται να διερευνηθεί η επίδραση του ελαίου σε επιλεγμένα οργανοληπτικά και χημικά χαρακτηριστικά του εν λόγω υποστρώματος (γεύση, οσμή, συνολική αποδοχή, pH, ενεργότητα νερού). Η σημασία διερεύνησης της προαναφερθείσας σχέσης άπτεται σε δύο καίριους παράγοντες. Αφενός, στο γεγονός πως τα αιθέρια έλαια, σε καθορισμένες συγκεντρώσεις, χρησιμοποιούνται κατά κόρον στη βιομηχανία αρωμάτων και φαρμάκων, καθώς και στη βιομηχανία τροφίμων βελτιωτικά συστατικά γεύσης (1). Αφετέρου, στο γεγονός πως η παγκόσμια αγορά επιτάσσει μια στροφή προς τη σύζευξη της διατήρησης των παραδοσιακών τροφίμων (ΠΟΠ, ΠΓΕ, ΕΠΠ, βιολογικά προϊόντα) με τη διασφάλιση της παρουσίας των βέλτιστων χαρακτηριστικών που εμφανίζουν τα σύγχρονα προϊόντα (δηλαδή των επιμέρους χαρακτηριστικών που αφορούν την ασφάλεια του καταναλωτή, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και το χρόνο ημίσειας ζωής) (2,3). Συναρτήσει όσων αναφέρθηκαν, τίθεται σαφής η σημασία της λεπτομερούς ανασκόπησης των υφιστάμενων βιβλιογραφικών δεδομένων που πραγματεύονται την αντιμικροβιακή χρήση αιθέριων ελαίων στη βιομηχανία τροφίμων. Παρομοίως, εξίσου σημαντική τίθεται η διενέργεια νέων σχετικών μελετών που θα λειτουργήσουν επικουρικά στην υπάρχουσα γνώση. Στο εν λόγω πλαίσιο εντάσσεται και η προκείμενη μελέτη, η οποία πραγματεύεται τη διενέργεια ενός *in vivo* πειράματος αξιολόγησης της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού έναντι παθογόνων τροφιμογενών μικροοργανισμών (*S. aureus*), σε υπόστρωμα παραδοσιακού προϊόντος : του χωριάτικου λουκάνικου.

Καθ' υπακοή του γενικού πλαισίου διερεύνησης της αξιοποίησης των αιθέριων ελαίων ως αντιμικροβιακών παραγόντων στα τρόφιμα κι ιδίως στα παραδοσιακά προϊόντα, η παρούσα μελέτη επιδιώκει τη θεωρητική προσπέλαση του ερευνητικού αντικειμένου, σε συνδυασμό με μία ερευνητική προσέγγιση. Το ερευνητικό μέρος της μελέτης αναφέρεται σε τρισκελή συγκριτική ανάλυση (ως προς τα οργανοληπτικά, μικροβιολογικά και χημικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος χοιρινού λουκάνικου) της προσθήκης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού, έναντι των μαρτύρων. Προς επίτευξη αυτού, η εργασία διαρθρώνεται στο θεωρητικό μέρος της «Βιβλιογραφικής Ανασκόπησης» και στα αλληλένδετα ερευνητικά μέρη της «Μεθοδολογίας» και των συνοδών «Αποτελεσμάτων».

Στις ενότητες που ακολουθούν, αναλύονται τα επιμέρους τμήματα του δομικού σκελετού της εργασίας, όπως αναφέρθηκαν παραπάνω.

ΜΕΡΟΣ Α.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A.1 Αιθέριο έλαιο χαμομηλιού

A.1.1 Γενικές πληροφορίες

Το χαμομήλι (*Chamomilla recutita*) αποτελεί ένα ποώδες μονοετές φυτό, με προέλευση από τη νότια Ευρώπη, το οποίο έχει πλέον διαδοθεί σε ολόκληρο τον κόσμο (4). Ανήκει στην οικογένεια των *Asteraceae* και στη βιβλιογραφία συναντάται και ως *Matricaria chamomilla* L., *M. recutita* L., *M. suaveolens* L.. Παρόλ'αυτά, σύμφωνα με τους διεθνείς κανόνες της βοτανικής ονοματολογίας, το όνομα που συνίσταται να χρησιμοποιείται είναι το *Chamomilla recutita* (5).

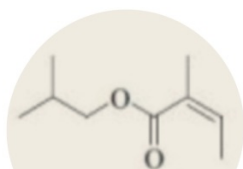
Τα άνθη του χαμομηλιού μοιάζουν με της μαργαρίτας, δεδομένου ότι στο κέντρο τους εντοπίζεται ένας κεντρικός δίσκος κίτρινου χρώματος που περιμετρικά φέρει 15 έως 20 πέταλα. Ο βλαστός του είναι κατακόρυφος και λεπτός, με πολλές διακλαδώσεις, καθεμιά από τις οποίες καταλήγει σε ένα άνθος. Το ύψος του κυμαίνεται από 20 έως 80 εκατοστά, ενώ τα φύλλα του είναι μακριά και στενά (4).

Η αξιοποίηση του χαμομηλιού είναι συνυφασμένη με την εξέλιξη του ανθρώπινου πολιτισμού, δεδομένου ότι εδώ και χιλιετίες γίνεται χρήση του συγκεκριμένου βοτάνου τόσο ως αφέψημα όσο και ως αιθέριο έλαιο από αποξηραμένα πέταλα του άνθους του. Η διαχρονική χρήση του χαμομηλιού, ως φυτικό φάρμακο, μπορεί να εξηγηθεί από την τάση των βοτάνων να δρουν αργά, συνήθως με ελάχιστες τοξικές παρενέργειες. Για το λόγο αυτό το χαμομήλι αποτελεί ένα από τα παλαιότερα, πιο διαδεδομένα αλλά και περισσότερο τεκμηριωμένα φαρμακευτικά φυτά της ανθρωπότητας (6).

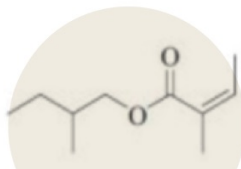
A.1.2 Ενεργά Συστατικά

Το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού παρουσιάζει μια πληθώρα βιοενεργών συστατικών. Το φυτό αποδίδει 0,24 – 1,9 % πτητικού ελαίου, το οποίο αποτελείται με τη σειρά του από ένα μείγμα αρκετών ελαίων. Κατά τη διαδικασία της απόσταξης με ατμό (ευρεία τεχνική για την παραγωγή αιθέριων ελαίων) το έλαιο αποκτά ένα χρώμα που ποικίλει από έντονο μπλε σε βαθύ πράσινο τις πρώτες ημέρες παραγωγής και σταδιακά μετατρέπεται σε ένα σκούρο κίτρινο κατά την αποθήκευσή του (7).

Περίπου 120 δευτερεύοντες μεταβολίτες έχουν εντοπιστεί στο χαμομήλι, εκ των οποίων 28 τερπενοειδών και 36 φλαβονοειδών (8,9). Τα άνθη και τα κεφάλια των ανθέων είναι τα κύρια όργανα παραγωγής του αιθέριου ελαίου. Είναι αξιοσημείωτο ότι το αιθέριο έλαιο από άνθη χαμομηλιού αποτελείται κυρίως από παράγωγα σεσκιτερπενίων (75-90%), ενώ περιέχει μόνο ίχνη μονοτερπενίων. Το έλαιο περιέχει μέχρι και 20% πολυίνες. Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου που εξάγεται από τα άνθη χαμομηλιού είναι το (E)-β-φαρνεσένιο (4.9-8.1%), η τερπενική αλκοόλη (φαρνεσόλη), η χαμαζουλένη (2,3-10,9%), το α-βισαβολόλη (4,8-11,3%) όπως και τα δύο οξείδια της α-βισαβολόλης Α (25,5-28,7%) και Β (12,2-30,9%) (10,11). Αναλυτικά οι σημαντικότεροι δευτερεύοντες μεταβολίτες απεικονίζονται στην Εικόνα 01 (12).



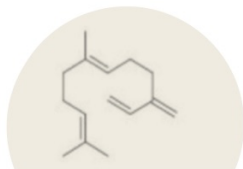
1 Ισοβουτυλική
αγγελικάτη



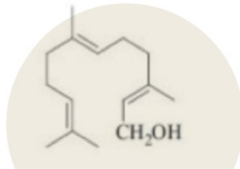
2 2-Μέθυλοβουτυ-
λική αγγελικάτη



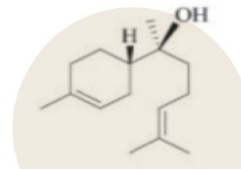
3 Φαρνεσίνη



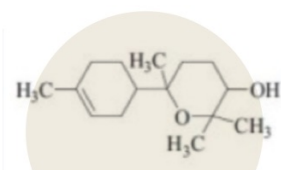
4 β-Φαρνεσίνη



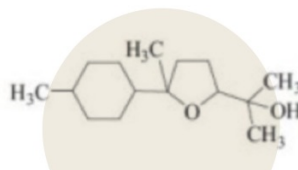
5 Φαρνεσόλη



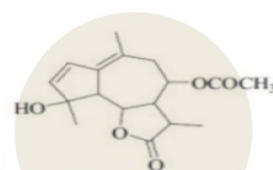
6 (-)-α-Βισαβολόλη



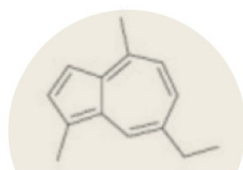
7 Οξείδιο της
βισαβολόλης Α



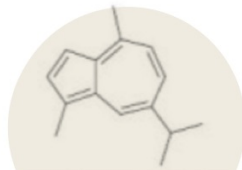
8 Οξείδιο της
βισαβολόλης Β



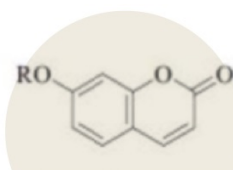
9 Ματρικίνη



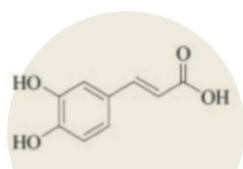
10 Χαμαζουλένιο



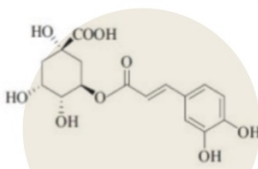
11 Γκουαϊαζουλένιο



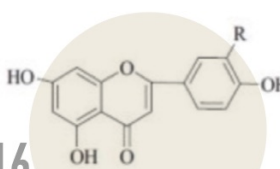
12 Ουμβελλιφερόνη (R=H)
13 Ερνιαρινίνη (R=CH₃)



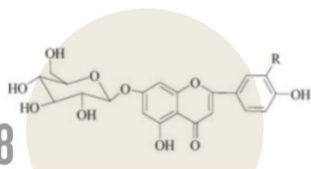
14 Καφεϊκό Οξύ



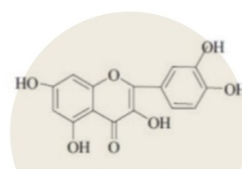
15 Χλωρογενικό
Οξύ



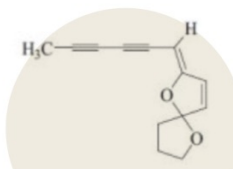
16 Απιγενίνη (R=H)
17 Λουτεολίνη (R=OH)



18
19 Απιγενίνη-7-Ο-Γλυκοζίδη (R=H)
Λουτεολίνη-7-Ο-Γλυκοζίδη (R=OH)



20 Κουερσετίνη



21 Ζ-Ενινοδικυκλικός
αιθέρας

Εικόνα 01. Δευτερογενείς μεταβολίτες του χαμομηλιού *Chamomilla recutita* (12).

A.1.3 Βιολογικές Δράσεις

Αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού έχει ερευνηθεί ενδελεχώς. Σύμφωνα με την πλειονότητα των μελετών επί της δοκιμής της αντιβακτηριακής δράσης των αιθέριων ελαίων και εκχυλισμάτων, η τεχνική διάχυσης σε άγαρ χρησιμοποιώντας δισκία είναι η πιο διαδεδομένη. Χρησιμοποιώντας αυτή την τεχνική, στη μελέτη των Stanojevic et al. (13), αναφέρεται πως ο πιο ευαίσθητος μικροοργανισμός στη δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού είναι ο *S. aureus*, ενώ ο πιο ανθεκτικός ο *Pseudomonas aeruginosa*. Ομοίως, στη μελέτη των Owlia et al. (14) γίνεται αναφορά για την ελλιπή δράση του ελαίου ενάντια στο μικροοργανισμό *Pseudomonas aeruginosa*. Εντούτοις, σημειώνεται η χαρακτηριστική μείωση σχηματισμού βιοϋμενίων καθώς και η παραγωγή αλγινικού οξέος (παράγοντες που δρουν καθοριστικά στη ρύθμιση του βακτηριακού πληθυσμού ικανού να παράξει βιοϋμένια). Λοιπές μελέτες διαπιστώνουν πως το αιθέριο έλαιο προσδίδει τις μικρότερες τιμές MIC στα Gram-θετικά βακτήρια και τις μεγαλύτερες στα Gram-αρνητικά (15), κι ειδικότερα τη μεγαλύτερη ζώνη αναστολής κατά του *Bacillus cereus* και τις μικρότερες τιμές MIC και MBC κατά του *S. aureus* (16). Τα αποτελέσματα αυτά έγκεινται στη διαφοροποίηση που παρουσιάζει το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηριακών κυττάρων, τα Gram-αρνητικά βακτήρια διαθέτουν σε σχέση με τα Gram-θετικά βακτήρια. Η διαφοροποίηση αφορά στο συμπαγές και δομικά περίπλοκο τοίχωμα, το οποίο είναι πλούσιο σε λιποπολυσακχαρίτες και περιορίζει αρκετά την είσοδο διαφόρων αντιμικροβιακών ουσιών στο εσωτερικό του κυττάρου. Επιπρόσθετα, οι μελέτες των Sakkas et al. (17) και Satyal et al. (18) υποδεικνύουν πως η χρήση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού, ακόμα και εμπορικών σκευασμάτων, δρα ιδίως αποτελεσματικά έναντι του *S. aureus* MRSA σε σχέση με άλλα στελέχη αναφοράς. Βάσει της μελέτης των Shakya et al. (19), το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού μειώνει σημαντικά την ανάπτυξη του παθογόνου *Enterococcus faecalis*. Παράλληλα, σύμφωνα με τη μελέτη των Höferl et al. (20), η προέλευση του χαμομηλιού αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τον καθορισμό της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου. Αναφορικά, υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση (MIC = 2000 µg/mL) παρατηρήθηκε σε περιοχές συγκομιδής χαμομηλιού της Νοτίου Αφρικής και της Ουγγαρίας.

Συγκρίνοντας την αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού εξαγόμενου με τη χρήση τεσσάρων οργανικών διαλυτών (μεθανόλη, αιθανόλη, διαιθυλεθέρας και εξάνιο), οι Roby et al. (21) κατέληξαν πως το έλαιο διατηρεί μέγιστη δράση εναντίον όλων των υπό εξέταση μικροοργανισμών κυρίως με τη χρήση της μεθανόλης και λιγότερο με αυτή του διαιθυλεθέρα. Σε παρόμοιες μελέτες, αυτές των Ismail et al. (22) και Mariod et al. (23), όπου εξετάστηκε η χρήση εκχυλίσματος διαλυτών μεθανόλης και αιθανόλης διαφόρων συγκεντρώσεων, διαπιστώθηκε ότι η αντιμικροβιακή δράση εμφανίζεται αποκλειστικά σε υψηλές συγκεντρώσεις (50, 100, 200 mg/mL) και μόνο έναντι του *S. aureus*. Στην μελέτη των Ismail et al. χρησιμοποιήθηκε και εκχύλισμα υδατικού διαλύτη, το οποίο αποδείχθηκε πως δεν έχει επαρκή αντιμικροβιακή δράση εναντία σε όλους τους υπό δοκιμή μικροοργανισμούς. Αντιθέτως, στη μελέτη των Boudieb et al. (24), το εκχύλισμα υδατικού διαλύτη παρουσίασε την πιο ισχυρή αντιμικροβιακή δράση σε όλα τα υπό εξέταση στελέχη, πλην του *Pseudomonas sp.*, το οποίο παρουσίασε ευαισθησία μόνο στο εκχύλισμα διαλύτη μεθανόλης. Η πρώτη ύλη στην οποία θα γίνει η εκχύλιση διαφαίνεται να κατέχει σημαντικό ρόλο στην εν δυνάμει αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου. Χαρακτηριστικά, εκχύλιση από άνθη έδρασε εναντίων 20 στελεχών *S. aureus* MRSA, σε σχέση με τα 7 στελέχη στα οποία έδρασε το εκχύλισμα από φύλλα του φυτού (25,26).

Αντιοξειδωτική δράση

Η αντιοξειδωτική δράση των αιθέριων ελαίων, και ειδικότερα του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*), έχει αποτελέσει κεντρικό αντικείμενο πληθώρας μελετών. Στο εύρος των μελετών, έχουν εφαρμοσθεί διαφορετικές μέθοδοι αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ελαίου, όπως: DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), αποχρωματισμός β-καροτενίου, ικανότητα χηλίωσης σιδηρούχων ιόντων και αναστολή της λιπιδικής υπεροξειδωσης. Πλέον διαδεδομένη μέθοδος θεωρείται η DPPH. Ακολουθώς, παρατίθενται υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα ανά χρησιμοποιούμενη μέθοδο.

Στη μελέτη των Stanojevic et al. (27), παρατηρήθηκε μέγιστη αντιοξειδωτική δράση έπειτα από 90' αντίδρασης με τη δοκιμή DPPH. Αντίθετα, η μελέτη των Mahdavi et al. (28,29), έδειξε i) μικρότερη δραστικότητα σε αμφοτέρως τις δοκιμές DPPH και αποχρωματισμού του β-καροτενίου, σε σχέση με τα πρότυπα BHT (Butylated Hydroxytoluene) και α-τοκοφερόλη, και ii) συγκρίσιμη ικανότητα χηλίωσης σιδηρούχων ιόντων σε σχέση με το πρότυπο κιτρικό οξύ. Στην προκείμενη μελέτη, χρησιμοποιήθηκε επίσης η δοκιμή ABTS για να εξεταστεί η αντιοξειδωτική ικανότητα του αιθέριου ελαίου που αποκτήθηκε με διάφορες εξαγωγικές τεχνικές (απόσταξη με υδρατμούς, ατμοελκυστική αποσταγματοποίηση με ταυτόχρονη απόσταξη ατμού χρησιμοποιώντας οργανικό διαλύτη, διαβροχή και εξαγωγή υπερκρίσιμου νερού). Τα αποτελέσματα ποικίλουν ανάλογα με την χρησιμοποιούμενη τεχνική, με την ατμιστική αποστράγγιση να παρέχει τη υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση (29). Σύμφωνα με μελέτη των Formisano et al. (30), σε αιθέριο έλαιο χαμομηλιού συγκομιδής δεκατριών διαφορετικών περιοχών, το οποίο είχε εκχυλιστεί σε οργανικό διαλύτη μεθανόλης, διαπιστώθηκε υψηλή αντιοξειδωτική δράση με εφαρμογή τόσο της δοκιμής DPPH όσο και της δοκιμής FRAP. Η συγγραφική ομάδα κατέληξε ότι η αντιοξειδωτική δράση επηρεάζεται κυρίως από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες συγκομιδής και τη χημική σύσταση του δείγματος. Υψηλότερα επίπεδα δράσης εμφανίζουν τα δείγματα των ελαίων που είναι πλούσια σε οξυγονωμένες ενώσεις και εκείνα που περιέχουν υψηλά επίπεδα φαινολικών ενώσεων. Τέλος, σε πείραμα που χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία ABTS για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας δύο εκχυλισμάτων (εκχύλισμα αιθανικού αιθυλεστέρα και υδατικό εκχύλισμα) από διαφορετικά μέρη του φυτού (άνθος, φύλλο, στέλεχος και ρίζα), τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υδρόφιλη αντιοξειδωτική δράση (HAA) ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τη λιπόφιλη (LAA) (31).

Ως προς τη συσχέτιση των μεθόδων εκχύλισης και της αντιοξειδωτικής δράσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού, οι Abdoul-Latif et al. (32), χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία DPPH, διαπίστωσαν ότι το μεθανολικό εκχύλισμα παρουσιάζει την υψηλότερη δραστικότητα. Ομοίως, οι Munir et al. (32), μέσω της ίδιας δοκιμασίας, αναφέρουν υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση του μεθανολικού εκχυλίσματος σε σύγκριση με το αιθανολικό εκχύλισμα και υπογραμμίζουν τον ρόλο του διαλύτη εκχύλισης στην αντιοξειδωτική δράση. Παρομοίως, οι Roby et al. (33), κατατάσσουν σε σειρά ισχύς απομάκρυνσης του DPPH το μεθανολικό εκχύλισμα ακολουθούμενο στενά από το αιθανολικό, και στη συνέχεια το εκχύλισμα με αιθυλαιθέρα και εξάνιο. Επιπλέον, οι Cvetanović et al. (34), συνέκριναν την αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων που παράχθηκαν με διάφορες τεχνικές εκχύλισης (εκχύλιση με μικροκύματα, Soxhlet και εκχύλιση με υπερήχους) χρησιμοποιώντας δύο διαλύτες (αιθανόλη και νερό) και εκχυλίσματα που παράχθηκαν με εκχύλιση υποκρίσιμου νερού (subcritical water). Διαπιστώθηκε πως το εκχύλισμα με υποκρίσιμο νερό είχε την ισχυρότερη ικανότητα απομάκρυνσης του DPPH όπως και την υψηλότερη δυνατότητα αναγωγής των ιόντων Fe^{3+} σε Fe^{2+} σε σύγκριση με τα άλλα εκχυλίσματα.

Όσον αφορά την επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης, οι Sotiropoulou et al. (35), εξέτασαν την ικανότητα απομάκρυνσης του DPPH σε υδατικά εκχυλίσματα στις ακόλουθες θερμοκρασίες 25, 80 και 100 °C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το εκχύλισμα στους 80 °C είχε την υψηλότερη δραστηριότητα, ενώ δεν αναφέρθηκε καμία δραστηριότητα για το εκχύλισμα που παρασκευάστηκε στους 25 °C. Αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να εξηγηθούν από την μέγιστη περιεκτικότητα φαινολικών ενώσεων, που επιτυγχάνεται στους 80 °C σε σύγκριση με τις υπόλοιπες θερμοκρασίες. Πράγματι, οι υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να επιτρέψουν την εκχύλιση περισσότερων πολυφαινόλων. Βέβαια, ξεπερνώντας τους 100 °C, υπάρχει σημαντική πιθανότητα απώλειας απαραίτητων ασταθών ενώσεων. Συμπληρωματικά, η επίδραση της θερμοκρασίας διερευνήθηκε και στη μελέτη των οι Pereira et al. (36) όπου, χρησιμοποιήθηκε μια πολυμεταβλητή προσέγγιση κι εξετάστηκε η επίδραση διαφόρων παραμέτρων εκχύλισης στην αντιοξειδωτική ικανότητα του υδροαλκοολικού εκχυλίσματος, το οποίο προέκυψε με τη διαδικασία δυναμικής εκχύλισης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θερμοκρασία εκχύλισης, η αναλογία φυτού προς διαλύτη και η ισχύς της αιθανόλης ήταν οι παράγοντες που επηρέασαν περισσότερο το εκχύλισμα.

Άλλες ιδιότητες

Τα εκχυλίσματα και τα αιθέρια έλαια χαμομηλιού έχουν μελετηθεί συστηματικά και για τις αντικαρκινικές τους ιδιότητες σε διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές. Στη μελέτη των Ali et al. (37), εξετάστηκε η αντικαρκινική δράση του αιθέριου ελαίου αξιολογούμενη σε κυτταρική σειρά ανθρώπινου καρκινώματος του μαστού (MCF-7). Τα αποτελέσματα φανέρωσαν πώς το αιθέριο έλαιο είναι ικανό να αναστείλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων με δοσοεξαρτώμενο τρόπο, αφού η αναστολή προσέγγισε το 89% μετά από 24 ώρες έκθεσης στη μέγιστη συγκέντρωση, 640 μg/mL. Παρομοίως σε άλλο πείραμα αντικαρκινικής δράσης ελαίων κατά δύο ανθρώπινων κυτταρικών σειρών προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (HL-60 και NB4), διαπιστώθηκε πως το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού κατάφερε να αναστείλει την ανάπτυξη και των δύο κυτταρικών σειρών. Υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας σημειώθηκαν κατά των κυττάρων NB4 (86,03% στα 200 μg/mL) έναντι των HL-60 (78,4% στα 200 μg/mL) (38). Αντίθετα, το μεθανολικό εκχύλισμα χαμομηλιού, εξεταζόμενο από τους Fraihat et al. (39) σε δύο στερεές κυτταρικές σειρές ανθρώπινου μελανώματος (A375.S2 και WM1361A), κατάφερε την αναστολή του πολλαπλασιασμού μόνο της μιας μελανοκυτταρικής σειράς WM1361A (IC₅₀ = 25,2 μg/mL).

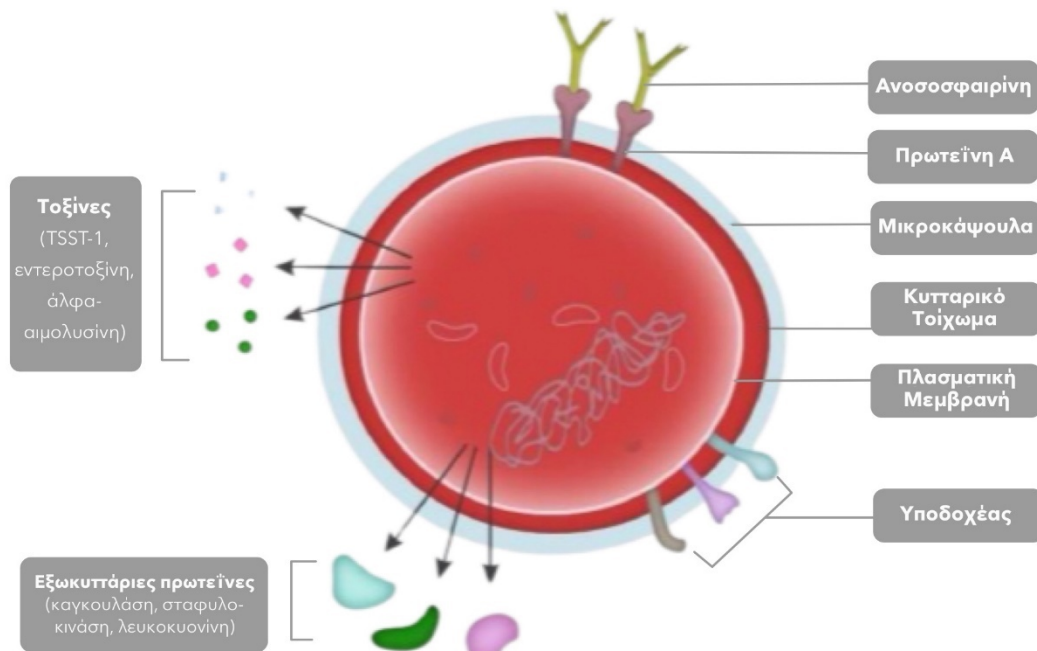
Αναφορικά με τη συσχέτιση της μεθόδου εκχύλισης και της αντικαρκινικής δράσης του ελαίου χαμομηλιού, οι Cvetanović et al. (40), διαπίστωσαν πως τα εκχυλίσματα με υποκρίσιμο νερό προσφέρουν την πιο αποτελεσματική κυτταροτοξική δράση κατά της κυτταρικής σειράς ινοβλαστών ποντικού (IC₅₀ = 19,65 μg/mL), της κυτταρικής σειράς ανθρώπινου καρκινώματος του τραχήλου Hep2c (IC₅₀ = 20,54 μg/mL) και της κυτταρικής σειράς ανθρώπινου ραβδομυοσαρκώματος (IC₅₀ = 30,54 μg/mL).

Οι αντικαρκινικές δυνατότητες τόσο των υδατικών εκχυλισμάτων σπόρων χαμομηλιού που συλλέχθηκαν υπό διαφορετικές συνθήκες pH όσο και των αντίστοιχων σουλφατικών παράγωγων τους έχουν αξιολογηθεί έναντι της καρκινικής σειράς κυττάρων Ehrlich ascites carcinoma (EAC). Εν προκειμένω, όλα τα εκχυλίσματα και στις 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις (300, 600, 900 μg/mL), φάνηκε να αναστέλουν ελαφρώς την ανάπτυξη της κυτταρικής σειράς EAC (41). Τέλος, οι αντικαρκινικές ιδιότητες του εκχυλίσματος αιθέριου ελαίου χαμομηλιού φαίνεται να σχετίζονται με την απόπτωση και τη νέκρωση των καρκινικών κυττάρων, όπως και με τη μείωση των ικανοτήτων μετανάστευσης και διείσδυσης των νέων ογκογενετικών κυττάρων (42)

A.2 Χρυσίζων Σταφυλόκοκκος (*S. aureus*)

A.2.1 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά

Ο *S. aureus* είναι ένα συμβιωτικό, ευκαιριακά παθογόνο Gram+ βακτήριο που μπορεί δυνητικά να προκαλέσει ένα ευρύ φάσμα λοιμώξεων (από απλές επιφανειακές δερματικές λοιμώξεις μέχρι θανάσιμες σηπτικές συνδρομές) (43). Το συγκεκριμένο βακτήριο έχει απασχολήσει ιδιαίτερα τα συστήματα υγείας ανά τον κόσμο, διότι εμφανίζει τοξίνο-μεσολαβούμενη λοιμογόνο δράση, με ευρεία διάδοσή στο περιβάλλον, υψηλή διεισδυτικότητα και αντοχή στα αντιβιοτικά (44). Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια εμφανίζεται ως κύριος παθογόνος παράγοντας τόσο για ενδονοσοκομειακές λοιμώξεις όσο και για τροφιμογενείς εξάρσεις.



Εικόνα 02. Χρυσίζων Σταφυλόκοκκος (*S. aureus*)

Μορφολογικά, ο *S. aureus* ανήκει στους Gram + κόκκους, έχει διάμετρο 0,5-1,5 μm και σχηματίζει βακτηριακές αποικίες (απαντάται μεμονωμένα ή με τη μορφή δυο ή τεσσάρων κυττάρων). Τα είδη του γένους *Staphylococcus* είναι προαιρετικά αναερόβια και αναπτύσσονται σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών (7 έως 48,5° C, με βέλτιστη στους 30 έως 37° C), τιμών pH (4,2 έως 9,3, με βέλτιστη τιμή 7 έως 7,5) και συγκεντρώσεων χλωριούχου νατρίου (έως 15% NaCl) (45). Οι μεταβολικές διεργασίες των κυττάρων του γένους *Staphylococcus* περιλαμβάνουν τόσο οξειδωτικές όσο και ζυμωτικές αντιδράσεις, με το οξυγόνο να λειτουργεί ως τελικός αποδέκτης των ηλεκτρονίων. Κατά τη διάρκεια αυτών των διεργασιών συμμετέχει πάντα το ένζυμο καταλάση (46). Ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός μπορεί να χρησιμοποιεί μια ποικιλία υδατανθράκων ως πηγή άνθρακα, από τον μεταβολισμό των οποίων προκύπτουν διάφορα οξέα, αλλά όχι διοξείδιο του άνθρακα (CO₂). Σε αναερόβιες συνθήκες, το κύριο προϊόν ζύμωσης της γλυκόζης είναι το γαλακτικό οξύ. Αντίθετα, σε αερόβιες συνθήκες σχηματίζεται οξικό οξύ και μικροποσότητες CO₂(47).

A.2.2 Σταφυλοκοκκική τοξίνωση

Αναφορικά με την τροφιμογενή επιμολυντική ικανότητα του, ο *S. aureus* εμφανίζεται ως ένα από τα παθογόνα βακτήρια που απασχολούν κατά κόρον τα συστήματα δημόσιας υγείας ανά τον κόσμο (48). Η πρώτη καταγεγραμμένη σταφυλοκοκκική τροφιμογενής λοίμωξη χρονολογείται το 1884 και καταγράφηκε στο Στέενμπεργκ, που ανήκει στην πολιτεία του Μίσιγκαν των ΗΠΑ, έπειτα από κατανάλωση επιμολυσμένου τυριού (49).

Μια τυπική τροφιμογενή σταφυλοκοκκική τοξίνωση χαρακτηρίζεται από τη γρήγορη εμφάνιση συμπτωμάτων έπειτα από την κατανάλωση του επιμολυσμένου τροφίμου, συνήθως σε διάστημα 3-5 ωρών. Η εν λόγω συνθήκη συσχετίζεται με τις παραγόμενες τοξίνες κατά τον πολλαπλασιασμό του βακτηρίου στο τρόφιμο (48). Παρόλο που η σταφυλοκοκκική τοξίνωση συνήθως αυτοπεριορίζεται και υποχωρεί εντός 24-48 ωρών από την έναρξή της, ενδέχεται να είναι σοβαρή, ιδίως στα βρέφη, τους ηλικιωμένους και τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (48,50). Περίπου το 10% των ατόμων που έχουν προσβληθεί από ΣΤΔ θα προσέλθουν στο νοσοκομείο (50,51). Η αντιμετώπιση της ΣΤΔ είναι υποστηρικτική, με τα αντιβιοτικά να μην χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία (52). Ο *S. aureus* μπορεί να μην ανιχνευθεί με καλλιέργεια στις περιπτώσεις που τα τρόφιμα έχουν μολυνθεί και η τοξίνη έχει σχηματιστεί πριν από το μαγείρεμα (50,53). Μελέτη επί της θνησιμότητας της ΣΤΔ, η οποία περιλάμβανε 7.126 περιπτώσεις, φανέρωσε ποσοστό θνησιμότητας της τάξεως του 0,03%. Βέβαια, όλοι οι θάνατοι αφορούσαν ηλικιωμένους ασθενείς (50).

Ως τελικό διαγνωστικό κριτήριο για τη σταφυλοκοκκική τοξίνωση χρησιμοποιείται η ανίχνευση σταφυλοκοκκικών εντεροτοξινών στο πιθανώς παθογόνο τρόφιμο (54), ή στην ανεύρεση τουλάχιστον 105 g⁻¹ *S. aureus* σε υπολείμματα του τροφίμου (55). Η σταφυλοκοκκική εντεροτοξίνη μπορεί να ανιχνευθεί μέσω τριών μεθόδων: βιοδοκιμών, μεθόδων μοριακής βιολογίας και ανοσολογικών τεχνικών (55,56). Ανάμεσα στις πιο διαδεδομένες βιοδοκιμές συγκαταλέγονται: η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης μέσω αντίστροφης μεταγραφάσης (RT-PCR) και η ποσοτική αντίστροφης μεταγραφάσης αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (RT-quantitative PCR) και οι τρεις μέθοδοι μπορούν να πραγματοποιηθούν για την αξιολόγηση του τοξικού δυναμικού του στελέχους (55). Η ενζυμική ανοσοδοκιμασία και η ενζυμική ανοσοφθορίζουσα δοκιμή, οι οποίες αποτελούν τις πλέον χρησιμοποιούμενες ανοσολογικές μεθόδους, βασίζονται στη χρήση πολυκλωνικών ή μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των εντεροτοξινών (55). Αναφορικά με τις μοριακές μεθόδους τυποποίησης, ο γενετικός χαρακτηρισμός του *S. aureus* πραγματοποιείται με χρήση εύρους μεθόδων, συμπεριλαμβανομένης της πολυτοπικής τυποποίησης αλληλουχίας (multilocus sequence typing), της τυποποίησης SPA και SCCmec, καθώς και της ηλεκτροφόρησης σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο (PFGE). Διακυμάνσεις στην ικανότητα διάκρισης των συγκεκριμένων μεθόδων μπορούν να περιοριστούν σημαντικά μέσω του συνδυασμού δύο ή περισσότερων τεχνικών (57).

Διάφοροι τύποι τροφίμων εμφανίζονται ως κατάλληλα μέσα ανάπτυξης του *S. aureus*. Ωστόσο, τα συχνότερα σχετιζόμενα τρόφιμα είναι το κρέας και τα προϊόντα κρέατος, τα πουλερικά και τα προϊόντα αυγών, το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, οι σαλάτες καθώς και τα προϊόντα

αρτοποιίας (48,58). Τα τρόφιμα που σχετίζονται με τη σταφυλοκοκκική τοξίνωση διαφέρουν από χώρα σε χώρα κυρίως λόγω διαφορών στις διατροφικές συνήθειες και τα καταναλωτικά πρότυπα (59).

A.3 Επιδημιολογία τροφιμογενών νοσημάτων

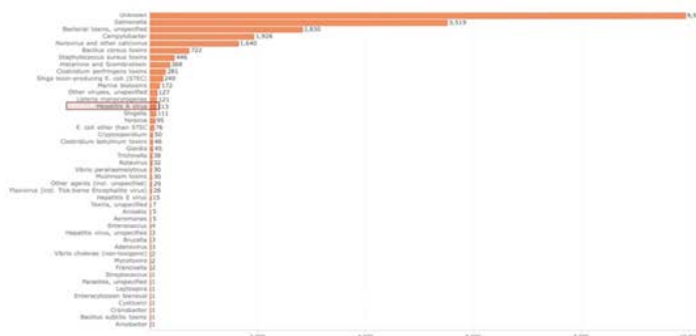
A.3.1 Επιδημιολογικά δεδομένα σε διεθνές επίπεδο

Σημαντικές πηγές άντλησης επιδημιολογικών δεδομένων για τις τροφιμογενείς λοιμώξεις σε Ευρωπαϊκό επίπεδο αποτελούν η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA) και το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ECDC). Στην Εικόνα 03, συνοψίζονται τα κύρια σημεία των ετήσιων εκθέσεων των EFSA/ECDC, αναφορικά με τη συχνότητα δήλωσης των τροφιμογενών νοσημάτων για την πενταετία 2018-2022 (59). Εν προκειμένω, παρουσιάζονται τα καίρια δεδομένα για τις εξάρσεις τροφιμογενών λοιμώξεων που οφείλονται σε βακτηριακές τοξίνες αγνώστου προελεύσεως και σταφυλοκοκκικές τοξίνες σε διάστημα πενταετίας (59).

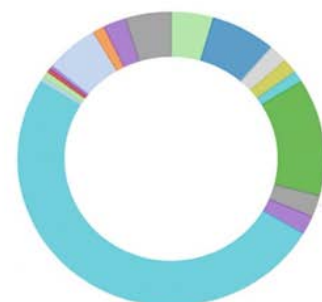
ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΕΙΣ ΕΠΙΔΗΜΙΕΣ (FOODBORN OUTBRAKES): ΔΙΕΘΝΩΣ



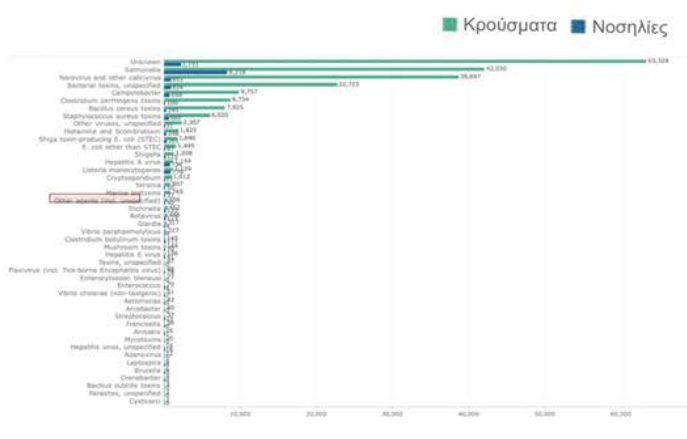
Αριθμός επιδημιών ανά αιτιολογικό παράγοντα



Κατανομή θανάτων ανά αιτιολογικό παράγοντα



Αριθμός κρουσμάτων & νοσηλειών ανά αιτιολογικό παράγοντα

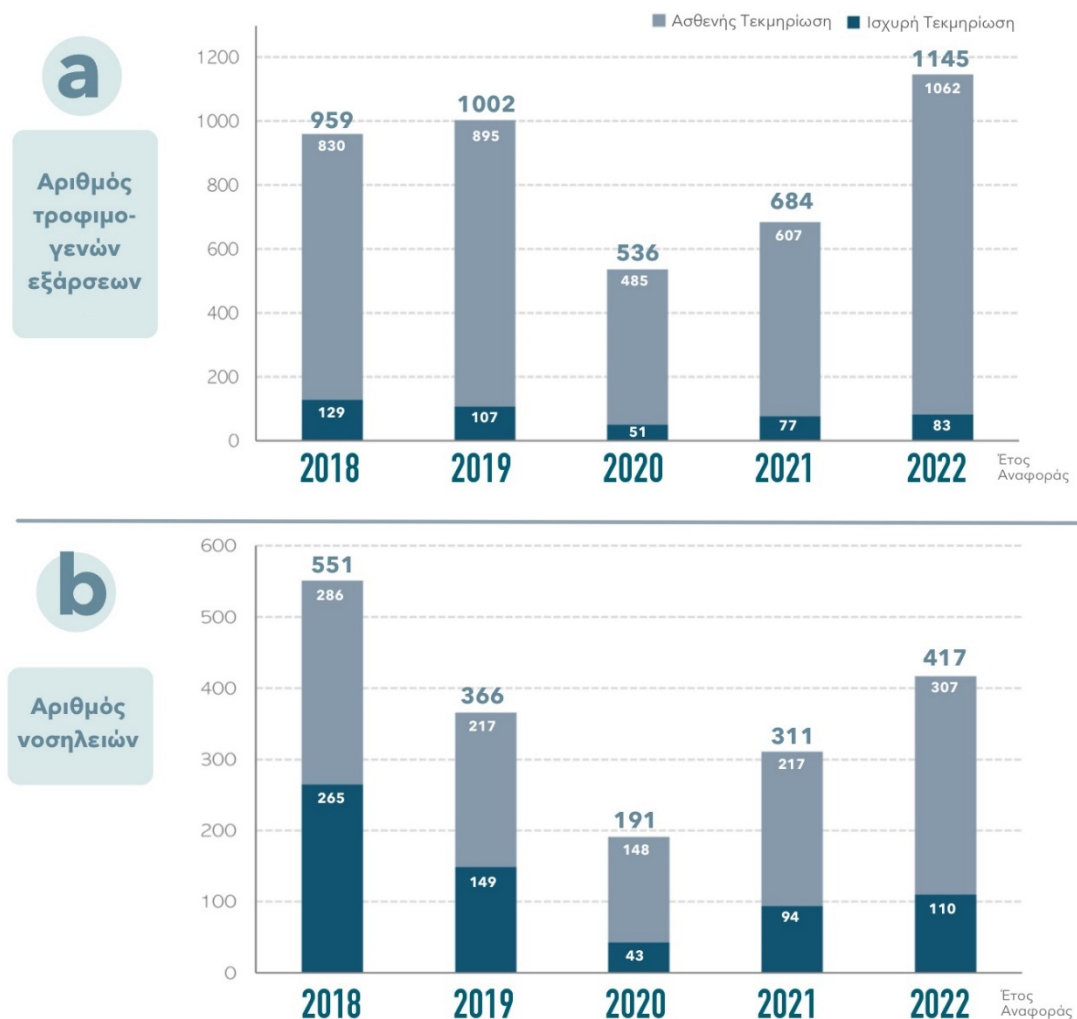


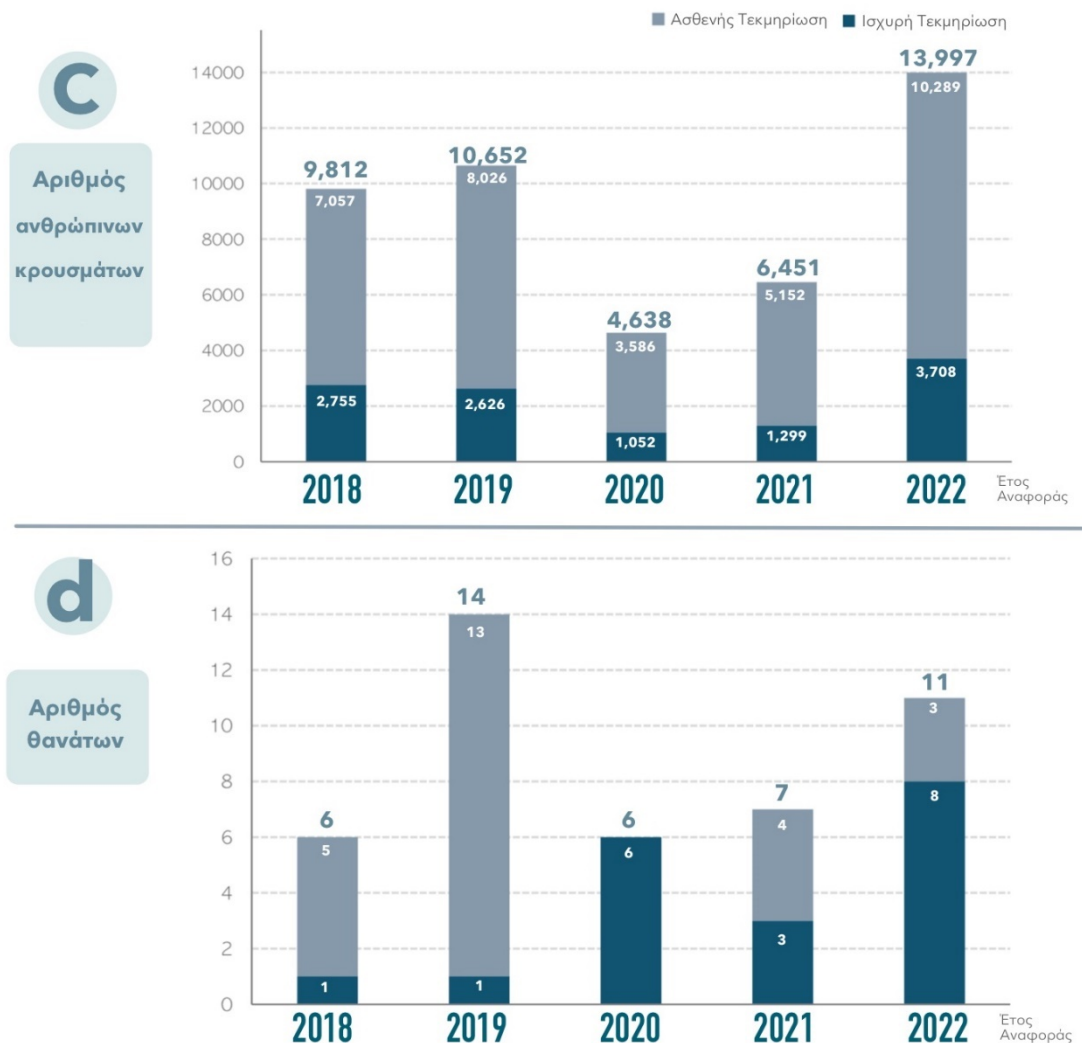
Εικόνα 03. Επιδημιολογικά δεδομένα τροφιμογενών νοσημάτων σε διεθνές επίπεδο κατά την πενταετία 2018-2022.

Τα καίρια σημεία της έκθεσης παρατίθενται ως εξής:

- η σαλμονέλωση αποτελεί το συχνότερα δηλούμενο τροφογενές νόσημα την πενταετία 2018-2022, με δηλωθέντα στοιχεία: 5.539 επιδημίες, 42.030 κρούσματα, 8.218 νοσηλείες και 32 επιβεβαιωμένους θανάτους. Τα τρόφιμα που θεωρήθηκαν συχνότεροι πιθανοί αγωγοί μετάδοσης του βακτηρίου *Salmonella spp.* ήταν το αυγό, τα προϊόντα αυγού και τα τρόφιμα που περιέχουν πολλά συστατικά/υλικά (mixed foods). Ως λοιποί, επίσης συχνοί, αιτιολογικοί παράγοντες των συρροών τροφιμογενούς νοσήματος, καταγράφηκαν οι βακτηριακές τοξίνες (2830 επιδημίες), το καμπυλοβακτηρίδιο (1926 επιδημίες) και οι νοροϊοί (1640 επιδημίες).
- η λιστερίωση και η σαλμονέλωση συγκαταλέγονται ως τα νοσήματα με την υψηλότερη θνητότητα (50,40% και 12,90% αντίστοιχα)
- η σταφυλοκοκκική τοξίνωση αποτελεί τον έβδομο (7^ο) αιτιολογικό παράγοντα καταγεγραμμένου τροφιμογενούς νοσήματος, αριθμώντας 446 επιδημίες, 6020 κρούσματα, 540 νοσηλείες και 4 θανάτους.

Στην Εικόνα 04, παρουσιάζονται επιδημιολογικά δεδομένα αναφορικά με το συνολικό αριθμό των τροφιμογενών εξάρσεων από βακτηριακές τοξίνες συμπεριλαμβανομένων και αυτών που παράγονται από *S. aureus* την τελευταία πενταετία σε όλη την επικράτεια της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τα επιμέρους ραβδογράμματα της εικόνας απεικονίζουν τον αριθμό των τροφιμογενών εξάρσεων (4A), των περιστατικών που χρειάστηκαν νοσηλεία (4B), των ανθρώπινων κρουσμάτων (4C), και τέλος των περιστατικών που κατέληξαν σε θάνατο (4D).





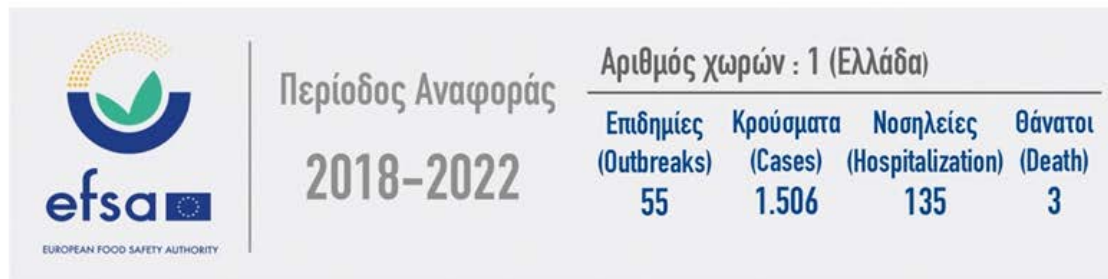
Εικόνα 04: Επιδημιολογικά δεδομένα αναφορικά με τον αριθμό:
(Α) καταγεγραμμένων επιδημιών, (Β) ανθρώπινων κρουσμάτων, (C) νοσηλειών,
(D) θανάτων από βακτηριακές τοξίνες σε διάστημα πενταετίας (59).

Τα τρόφιμα που θεωρήθηκαν οι συχνότεροι πιθανοί αγωγοί μετάδοσης της τοξίνης του βακτηρίου *S. aureus* την πενταετία 2018-2022 ήταν τα τρόφιμα που περιέχουν πολλά συστατικά/υλικά (mixed foods) καθώς ενοχοποιήθηκαν για 162 εκ των 446 καταγεγραμμένων επιδημιών, το κρέας και τα προϊόντα κρέατος (92/446), το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (50/446), το ψάρι και τα θαλασσινά (29/446) όπως και τα τρόφιμα μη ζωικής προέλευσης (29/446). Τέσσερις εκ των 560 νοσηλειών από τοξίνη του *S. aureus* προκάλεσαν το θάνατο ασθενών. Εξ 'αυτών, οι τρεις θάνατοι συνδέθηκαν με κατανάλωση αυγού και προϊόντων αυγού και ο ένας με κρέας και προϊόντων κρέατος. Αναφορικά με τα σημεία εκκίνησης των τροφιμογενών επιδημιών που οφείλονται στο βακτήριο *S. aureus*, i) 165 εκ των 446 είχαν ως αφετηρία κάποιο εστιατήριο, παμπ ή υπαίθριο σημείο πώλησης, ii) 82 εκ των 446 επιδημιών ξεκίνησαν από τρόφιμα οικιακής παρασκευής και τέλος iii) 75 επιδημίες άρχισαν από σημεία μαζικής εστίασης όπως εστιατόρια σε χώρους εργασίας και σχολεία (59).

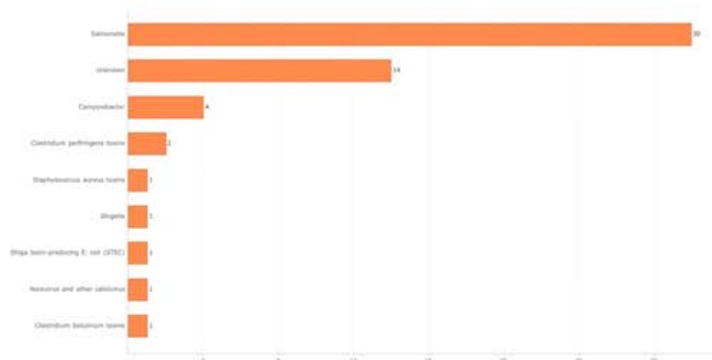
A.3.2 Επιδημιολογικά δεδομένα σε εθνικό επίπεδο

Στην Εικόνα 05, συνοψίζονται ομοιοτρόπως τα κύρια σημεία της ετήσιας έκθεσης κατά EFSA/ECDC, αναφορικά με τη συχνότητα δήλωσης των τροφιμογενών νοσημάτων, αποκλειστικά στην Ελλάδα για την πενταετία 2018-2022 (59).

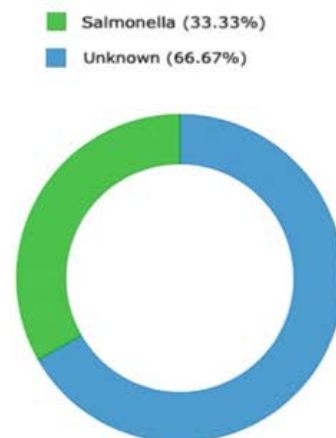
ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΕΙΣ ΕΠΙΔΗΜΙΕΣ (FOODBORN OUTBRAKES): ΕΛΛΑΔΑ



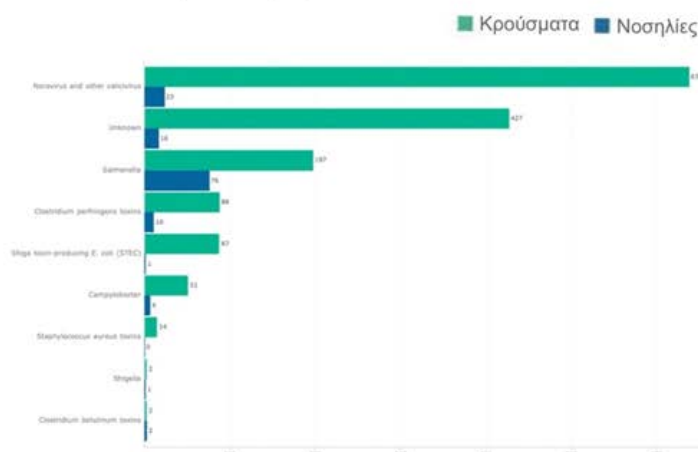
Αριθμός επιδημιών ανά αιτιολογικό παράγοντα



Κατανομή θανάτων ανά αιτιολογικό παράγοντα



Αριθμός κρουσμάτων & νοσηλείων ανά αιτιολογικό παράγοντα



Causative agent

- Unknown
- Staphylococcus aureus to...
- Shigella
- Shiga toxin-producing E. ...
- Salmonella
- Norovirus and other calici...
- Clostridium perfringens t...
- Clostridium botulinum tox...
- Campylobacter

Εικόνα 05. Επιδημιολογικά δεδομένα τροφιμογενών νοσημάτων σε εθνικό επίπεδο κατά την πενταετία 2018-2022.

Τα κύρια σημεία της έκθεσης για την Ελλάδα σταχυολογούνται ως εξής :

- το βακτήριο *Salmonella spp.* (30) και το καμπυλοβακτηρίδιο (4) αναδεικνύονται ως οι συχνότεροι αιτιολογικοί παράγοντες τροφιμογενών νοσημάτων στην Ελλάδα για την πενταετία 2018-2022. Για τη σαλμονέλλωση τα δηλωθέντα στοιχεία είναι : 30 επιδημίες, 197 κρούσματα και 76 νοσηλείες και ένας θάνατος. Για το καμπυλοβακτηρίδιο, τα δηλωθέντα στοιχεία είναι : 4 επιδημία, 51 κρούσματα και 1 νοσηλεία.
- ως προς θνητότητα των τροφιμογενών νοσημάτων στην Ελλάδα, καταγράφηκαν συνολικά 3 θάνατοι που προκλήθηκαν από το βακτήριο *Salmonella spp.* ο ένας και από άγνωστο αιτιολογικό παράγοντα.
- η σταφυλοκοκκική τοξίνωση στην Ελλάδα αποτελεί τον πέμπτο (5ο) αιτιολογικό παράγοντα καταγεγραμμένου τροφιμογενούς νοσήματος, αριθμώντας 1 επιδημία, 14 κρούσματα, εκ των οποίων καμία νοσηλεία (0) και κανένα θάνατο (0).

Πέραν της έκθεσης κατά EFSA/ECDC (59), σε εθνικό επίπεδο, επιδημιολογικά δεδομένα αναφορικά με τα τροφιμογενή νοσήματα, γνωστοποιούνται και από τον Εθνικό Οργανισμό Δημόσιας Υγείας (ΕΟΔΥ). Εν έτει 2022, ο ΕΟΔΥ δημοσίευσε την πιο πρόσφατη έκθεση του, η οποία πραγματεύεται τα επιδημιολογικά δεδομένα συρροών κρουσμάτων των τροφιμογενών νοσημάτων στην Ελλάδα κατά το χρονικό διάστημα 2004-2022, όπως προέκυψαν από την καταγραφή τους μέσω του Συστήματος Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων (ΣΥΔΝ) (60).

Στην εν λόγω έκθεση, υπογραμμίζονται τα ακόλουθα κύρια σημεία (ΕΟΔΥ, 2022):

- σύμφωνα με το ΣΥΔΝ, στην Ελλάδα, καταγράφηκαν συνολικά 580 δηλωθέντες συρροές κρουσμάτων τροφιμογενών νοσημάτων, στο διάστημα 2004-2022.
- η πλειονότητα των συρροών κρουσμάτων τροφιμογενούς νοσήματος ήταν βακτηριακής αιτιολογίας. Ειδικότερα, το συχνότερα δηλούμενο τροφιμογενές νόσημα ήταν η σαλμονέλλωση κι ο συχνότερα αναγνωριζόμενος αιτιολογικός παράγοντας ήταν το βακτήριο *Salmonella spp.*
- ο αριθμός των συρροών παρουσίασε εποχική κατανομή, με αυξητική τάση κατά τους θερινούς μήνες και κορύφωση τον Αύγουστο, αλλά, σταδιακή πτώση τους επόμενους μήνες.
- οι δηλωθέντες συρροές, τουλάχιστον κατά το ήμισυ, χαρακτηρίζονταν ως συρροές μικρής έκτασης και αφορούσαν ένα νοικοκυριό.
- οι συρροές συσχετίστηκαν κατά 92,6% με εμπλοκή συγκεκριμένου τροφίμου και κατά 7,4% με κατανάλωση μολυσμένου νερού. Διερευνώντας το χώρο κατανάλωσης του ύποπτου τροφίμου, ως αγωγού μετάδοσης του νοσήματος, διαπιστώθηκε οικιακή κατανάλωση κατά 46% και εκτός οικίας κατά το υπόλοιπο ποσοστό. Οι χώροι εστίασης (ταχυφαγεία κλπ) έλαβαν ποσοστό 28%, ενώ τα ξενοδοχεία 7,4%.

A.4 Παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο

Για τη σύνθεση του προϊόντος, κρέας θεωρείται μόνο εκείνο το κομμάτι του σφάγιου που αποτελείται τουλάχιστον κατά 45% από μυϊκό ιστό και όχι περισσότερο από 30% από λιπώδη και 25% από συνδετικό ιστό (όπως ορίζει η Κοινοτική Νομοθεσία για τους χοίρους). Επιπλέον, το «νωπό κρέας» αφορά σε κρέας i) άνευ διαδικασιών συντήρησης (πλην ψύξης, κατάψυξης ή ταχείας κατάψυξης) ii) κρέας συσκευασμένο σε κενό αέρος ή σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα (61). Το κρέας προέρχεται από ενήλικα ζώα, είναι στεγνό και διαθέτει μέτρια ικανότητα συγκράτησης υγρασίας (ΙΣΥ), διασφαλίζοντας έτσι μείωση της δραστηριότητας ενεργού νερού (A_w) στην κρεατόμαζα κι άρα καθυστέρηση στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Το pH του κρέατος κυμαίνεται μεταξύ 5,6 και 5,8, ενώ η δραστηριότητα ενεργού νερού (A_w) είναι μικρότερη από 0,980 (62).

Η διαδικασία παραγωγής πραγματοποιείται υπό πρότυπες συνθήκες υγιεινής. Αν για τεχνολογικούς λόγους απαιτείται τεμαχισμός κατεψυγμένου κρέατος, πρέπει να καταψύχεται άμεσα μετά την τυποποίηση και να παραμένει στην κατάψυξη μέχρι τη χρήση. Η τυποποίηση του κρέατος κρίνεται αναγκαία βάσει της περιεκτικότητάς σε λίπος και συνδετικό ιστό. Για τη διασφάλιση της καλύτερης αξιοποίησης του κρέατος και την παραγωγή προϊόντων σταθερής ποιότητας, περιλαμβάνεται απομάκρυνση τενόντων και συνδετικού ιστού. Η διαδικασία γίνεται χειροκίνητα ή με μηχανικά μέσα [μαλακοί διαχωριστές (Baader), ειδικές κιμαδομηχανές] (63). Το άπαχο κρέας χρησιμοποιείται κυρίως φρέσκο. Για την καλύτερη αφυδάτωση και διατήρηση του τελικού προϊόντος, το κρέας κόβεται σε κομμάτια μεγέθους γρόνθου και τοποθετείται για 1-2 ημέρες σε ψυγείο, σε λεκάνες κατάλληλες για τρόφιμα, ώστε να απομακρυνθεί η περιττή υγρασία.

Το χωριάτικο λουκάνικο πρόκειται για ένα προϊόν παραγόμενο από τεμαχισμένο (σύγκοπτο) κρέας, τα οποία κατατάσσονται σε μια ενδιάμεση κατηγορία μεταξύ των προϊόντων ζύμωσης-ωρίμανσης και αυτών που υφίστανται πλήρη θερμική επεξεργασία. Η παραγωγή τους ξεκινά με τον τεμαχισμό των πρώτων και βοηθητικών υλών, οι οποίες στη συνέχεια αναμιγνύονται ώστε να παραχθεί μια κρεατόμαζα, η οποία ενθικεύεται σε φυσικά ή τεχνητά διαπερατά περιβλήματα. Μετά την ενθήκευση, τα προϊόντα υφίστανται στάδιο ελεγχόμενης, μερικής ζύμωσης σε κατάλληλο περιβάλλον, ακολουθούμενο από θερμική επεξεργασία και, ανάλογα με τον τύπο, από ελαφρά κάπνιση και σύντομη, ελεγχόμενη αφυδάτωση.

Στην παρασκευή χωριάτικων λουκάνικων, πρέπει να επιλέγεται ορθά το λίπος, όπως το λαρδί.. Το λαρδί πρέπει να έχει κοκκώδη υφή, να είναι συνεκτικό και στερεό, όχι μαλακό ή λιπαρό. Το μαλακό λαρδί, που περιέχει υψηλά επίπεδα ακόρεστων λιπαρών οξέων με χαμηλό σημείο τήξης, μπορεί να προκαλέσει γρήγορη τάγγιση και προβλήματα στη γεύση, την οσμή και τη διατήρηση του χρώματος. Το λίπος και τα κομμάτια πλούσια σε λιπώδη ιστό πρέπει να διατηρούνται σε ψύξη έως τον τεμαχισμό, για τη διασφάλιση της καθαρότητας της τομής και την αποφυγή υποβάθμισης της ποιότητας λόγω ρευστοποίησης. Έτσι, μειώνεται η κακή εμφάνιση της τομής, βελτιώνεται η συνοχή του προϊόντος και περιορίζεται η απώλεια λίπους στο ψήσιμο. Το λίπος πρέπει να απομακρύνεται γρήγορα από το σφάγιο και να ψύχεται αμέσως. Μπορεί να διατηρηθεί έως 3 ημέρες υπό ύψη ή να αποθηκευτεί έως 90 ημέρες υπό κατάψυξη (προτιμητέα υπό κενό) (62).

Η μικροβιακή εξυγίανση των προϊόντων αυτών βασίζεται σε συνδυασμένη δράση τριών κύριων παραγόντων: της θερμικής επεξεργασίας, της πτώσης του pH λόγω της ζύμωσης, και της μείωσης της ενεργότητας του νερού (aw) κατά την αφυδάτωση. Χάρη σε αυτές τις μεταβολές, τα προϊόντα μπορούν υπό προϋποθέσεις να διατηρηθούν ακόμη και εκτός ψυγείου, σε κατάλληλες συνθήκες περιβάλλοντος.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της κατηγορίας αποτελούν προϊόντα όπως το σαλάμι μπύρας, καθώς και διάφοροι τύποι λουκάνικων, τα οποία διακρίνονται κυρίως από την απουσία λεπτοτεμαχισμένης κρεατόπαστας και τη χρήση αδρά τεμαχισμένου κρέατος.

Η χρήση αμύλου απαγορεύεται ρητά, ενώ επιτρέπεται η ονομασία «χωριάτικα» μόνον όταν πρόκειται για λουκάνικα που έχουν παραχθεί με χονδροτεμαχισμένο κρέας και έχουν ενθηκευτεί σε βρώσιμα φυσικά έντερα, όπως εκείνα προβάτου ή χοίρου. Τα εν λόγω προϊόντα δύνανται επίσης να υποβληθούν σε ελαφρά κάπνιση ή μερική αφυδάτωση, ανάλογα με την τεχνολογική πρακτική και τη γευστική τους τυπολογία.

Ως προς τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, όλα τα προϊόντα της κατηγορίας αυτής πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον 12 % μυϊκές πρωτεΐνες επί του προϊόντος ως έχει, ενώ η περιεκτικότητα σε λίπος δεν επιτρέπεται να υπερβαίνει το 30 % κατά βάρος.

Για την παρασκευή του χωριάτικου λουκάνικου ακολουθούνται συνοπτικά οι εξής διαδικασίες:

- τεμαχισμός και μάλαξη της κρεατόπαστας
- ενθήκευση της κρεατόπαστας
- αφυδάτωση και η διακίνηση των έτοιμων προϊόντων.

Ακολούθως, περιγράφονται αναλυτικά οι διαδικασίες κάθε σταδίου.

Στο πρώτο στάδιο πραγματοποιείται η διαδικασία παραγωγής της κρεατόπαστας με ειδικό εξοπλισμό μάλαξης, γνωστό και ως ζυμωτήριο. Το άπαχο κρέας τεμαχίζεται σε μηχανή κιμά με πλάκα που διαθέτει οπές διαμέτρου 4-8 mm και στη συνέχεια αποθηκεύεται σε συνθήκες ψύξης. Οι πρώτες ύλες με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος καταψύχονται σε θερμοκρασίες -10 έως -12°C, προτού υποστούν τεμαχισμό. Το λίπος χρησιμοποιείται πάντοτε σε κατεψυγμένη μορφή και την ημέρα της παραγωγής τεμαχίζεται πριν προστεθεί στην κρεατόμαζα στο απαιτούμενο μέγεθος. Ενώ, προστίθενται το αλάτι, τα καρυκεύματα και τα διάφορα άλλα πρόσθετα. Η μάζα αυτή ζυμώνεται μέχρι τα κομμάτια του κρέατος και του λίπους να αρχίσουν να συνδέονται μεταξύ τους. Ο σκοπός της μάλαξης είναι η δημιουργία μιας συμπαγούς και συνεκτικής μάζας, ενώ η θερμοκρασία του προϊόντος δεν πρέπει να ξεπερνά τους 4-6°C. Αν η θερμοκρασία είναι χαμηλότερη, ενδέχεται να παρουσιαστούν δυσκολίες κατά την ενθήκευση και η συνοχή των κομματιών να μην είναι ικανοποιητική. Αντιθέτως, υψηλότερες θερμοκρασίες μπορεί να προκαλέσουν ρευστοποίηση του λίπους, οδηγώντας σε ασαφή εικόνα τομής, κακή σύνδεση των κομματιών και αυξημένη απώλεια λίπους κατά τη θερμική επεξεργασία. Μετά την παρασκευή της, η κρεατόπαστα αποθηκεύεται συνήθως στο ψυγείο για 24 ώρες και ενθηκεύεται άμεσα (62).

Το επόμενο σκέλος περιλαμβάνει τη διαδικασία ενθήκευσης της κρεατόπαστας, η οποία πραγματοποιείται κυρίως σε φυσικές θήκες, όπως λεπτά έντερα χοίρων ή προβάτων, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν και τεχνητές διαπερατές βρώσιμες θήκες από κολλαγόνο. Η πίεση που εφαρμόζεται για την πλήρωση πρέπει να είναι αρκετά υψηλή ώστε να εξασφαλίζεται η σωστή πληρότητα της θήκης, χωρίς όμως να προκαλείται θραύση. Η διάμετρος

του σωλήνα της μηχανής γεμίσματος πρέπει να ταιριάζει απόλυτα με αυτή της θήκης, διότι με αυτό τον τρόπο αποφεύγεται αύξηση θερμοκρασίας μέσω τριβής και επακόλουθα ο κίνδυνος ρευστοποίησης του λίπους. Τα έντερα πρέπει να καθαρίζονται σχολαστικά και να πλένονται με άφθονο νερό, ειδικά αν είναι αλατισμένα. Αν το αλάτι δεν απομακρυνθεί πλήρως, ενδέχεται να εμφανιστούν κρύσταλλοι χλωριούχου νατρίου στην εξωτερική επιφάνεια του προϊόντος, φαινόμενο που επιδεινώνεται αν χρησιμοποιηθούν φωσφορικά κατά την παραγωγή. Μετά την πλήρωση, αφαιρείται ο εγκλωβισμένος αέρας με μικρές διατρήσεις της θήκης στα σημεία παρουσίας αυτού. Στη συνέχεια, τα αλλαντικά αναρτώνται σε βαγονέτα και τοποθετούνται σε θαλάμους, όπου αφυδατώνονται με θερμό αέρα (62).

Τα τελικά προϊόντα διατίθενται είτε χύμα (τυλιγμένα σε χαρτί) είτε συσκευάζονται σε σκληρούς δίσκους από πολυεστέρα, καλυμμένους με διαπερατή, διατεινόμενη πλαστική μεμβράνη πολυαιθυλενίου. Τα προϊόντα συντηρούνται σε ψυκτικούς χώρους θερμοκρασίας 0-4°C(62).

ΜΕΡΟΣ Β.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

B.1 Σκοπός

Ο γενικός σκοπός της ερευνητικής διαδικασίας αφορούσε τις εξής συνθήκες :

- αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του λουκάνικου χοιρινού κρέατος κατά τη διάρκεια της συντήρησής του στην ψύξη, με την προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε δύο συγκεντρώσεις, 0.2% και 0.4%.
- διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης του αιθέριου ελαίου του χαμομηλιού (0.2% και 0.4%) κατά της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας και του παθογόνου *S. aureus*, σε παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο χοιρινού κρέατος, κατά τη συντήρησή του υπό ψύξη

Εν συνεχεία, η μελέτη επιμερίστηκε σε δύο διακριτά πειραματικά μέρη, κάθε ένα εκ των οποίων περιγράφεται στις υποενότητες που ακολουθούν.

B.2 Μέρος 1ο : Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λουκάνικου

B.2.1 Υλικά

Στο πρώτο πειραματικό μέρος, χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες αιθέριο έλαιο χαμομηλιού με απόσταξη με υδρατμούς (*Chamomilla recutita*) το οποίο χορηγήθηκε από τον παραγωγό κ. Ι. Μυλωνά και παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο (Πίνακας 1). Το παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο ήταν παρασκευασμένο στην πόλη της Καρδίτσας σύμφωνα με την εμπορική συνταγή του και η προμήθεια του πραγματοποιήθηκε από τοπικό κατάστημα λιανικής πώλησης την πρώτη ημέρα παρασκευής του και μεταφέρθηκε στο Εργαστήριο Υγιεινής Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό συνθήκες ψύξης.

Πίνακας 01. Υλικά πρώτου πειραματικού μέρους

Υλικά	Προέλευση
• Αιθέριο έλαιο χαμομηλιού (<i>Chamomilla recutita</i>)	Προμήθεια ΑΕ από παραγωγό
• Παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο	Τοπικό κατάστημα λιανικής πώλησης

B.2.2. Μέθοδοι

Σύμφωνα με το διεθνές πρότυπο ISO-8586:2012, ως οργανοληπτικός έλεγχος ορίζεται η συστηματική αξιολόγηση, μέτρηση και ερμηνεία των ιδιοτήτων ενός προϊόντος (γεύση, άρωμα, όψη, υφή, ήχος κλπ), με βάση τις αντιδράσεις των ανθρώπινων αισθήσεων (64). Η εφαρμογή του οργανοληπτικού ελέγχου άπτεται κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων, για την εκτίμηση της ποιότητας και της αποδοχής ενός προϊόντος από τους καταναλωτές. Η ενσωμάτωση αιθέριων ελαίων από βότανα σε τρόφιμα και προϊόντα κρέατος μπορεί να έχει είτε θετική είτε αρνητική επίδραση στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά, ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους στο τελικό

προϊόν. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, τα αιθέρια έλαια συχνά βελτιώνουν τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Ωστόσο, η χρήση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων, αν και δεν εγείρει ζητήματα ασφαλείας για τους καταναλωτές, ενδέχεται να προκαλέσει αρνητικές αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, οδηγώντας συχνά στην απόρριψή τους από τους καταναλωτές. Στο προκείμενο πείραμα, αξιολογήθηκαν τρία οργανοληπτικά χαρακτηριστικά χωριάτικου λουκάνικου (οσμή, γεύση, συνολική αποδοχή), κατά τη συντήρηση του υπό ψύξη για 9 ημέρες και ύστερα από προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2 και 0,4%.

Τα διαδοχικά στάδια που ακολουθήθηκαν βάσει της μεθοδολογίας συνοψίζονται στον Πίνακα 02.

Πίνακας 02. Διάρθρωση μεθοδολογίας πρώτου πειραματικού μέρους

α/α	Στάδιο
01	Χορήγηση αιθέριου ελαίου από αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (<i>Chamomilla recutita</i>)
02	Παρασκευή των δειγμάτων του λουκάνικου, με διαδοχικά στάδια
03	Ομαδοποίηση δειγμάτων του λουκάνικου χοιρινού κρέατος
04	Διενέργεια οργανοληπτικού ελέγχου

Ακολουθώς, αναλύονται οι διαδικασίες που διενεργήθηκαν ανά στάδιο.

Παρασκευή αιθέριου ελαίου από αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*)

Τα αιθέρια έλαια παρασκευάστηκαν με την τεχνική της απόσταξης μέσω υδρατμών (steam distillation) αποξηραμένων φυτών χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*). Το φυτό αποδίδει 0.24-1.9% πτητικού ελαίου, το οποίο αποτελείται με τη σειρά του από ένα μείγμα αρκετών ελαίων. Το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού παρουσιάζει μια πληθώρα βιοενεργών συστατικών. Κατά τη διαδικασία της απόσταξης με ατμό (ευρεία τεχνική για την παραγωγή αιθέριων ελαίων) το έλαιο αποκτά χρώμα που ποικίλει από έντονο μπλε σε βαθύ πράσινο τις πρώτες ημέρες παραγωγής του το οποίο σταδιακά με την αποθήκευση του μετατρέπεται σε σκούρο κίτρινο (7). Για τη διαδικασία απόσταξης, ποσότητα 500 γραμμαρίων από κάθε φυτό τεμαχίζονται, τοποθετούνται σε δύλιτρη, σφαιρική φιάλη στην οποία και προστίθεται 1 λίτρου απιονισμένου ύδατος. Εν συνεχεία, ακολουθεί απόσταξη με υδρατμούς σε συσκευή τύπου Clevenger για 3 ώρες. Το αιθέριο έλαιο από κάθε φυτό που παράγεται με την παραπάνω διαδικασία, συλλέγεται, αποξηραίνεται με προσθήκη άνυδρου θειικού νατρίου, τοποθετείται σε φιαλίδια σκούρου χρωματισμού και διατηρείται σε θερμοκρασία 4°C μέχρι τη χρήση του.

Ομαδοποίηση των δειγμάτων του λουκάνικου

Για τη διενέργεια του οργανοληπτικού ελέγχου τα δείγματα χωρίστηκαν σε δύο ομάδες CM2 και CM4. Ανά ομάδα, προστέθηκαν αντίστοιχα οι συγκεντρώσεις 0,2% και 0,4% στα εκάστοτε δείγματα. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν δείγματα στα οποία δεν προστέθηκαν αιθέρια έλαια. Προκειμένου τα δείγματα να διατηρηθούν σε συνθήκες που προσομοιάζουν όσο το δυνατόν περισσότερο τις οικιακές συνθήκες συντήρησης, τοποθετήθηκαν σε σακούλες stomacher που το άνοιγμα τους σφραγίστηκε με αναδίπλωση και συντηρήθηκαν υπό ψύξη στους 4 °C για 15 ημέρες.

Διενέργεια οργανοληπτικού ελέγχου

Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε κατά τις ημέρες 0, 3, 6, 9, 12 και 15 της συντήρησης των δειγμάτων. Μια ομάδα πέντε απόμων, αποτελούμενη από μέλη του Εργαστηρίου

και του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, επιλέχθηκε για να αξιολογήσει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου. Το πάνελ των δοκιμαστών εκπαιδεύτηκε σύμφωνα με τις οδηγίες της American Meat Science Association (AMSA). Κατά τη διάρκεια κάθε δοκιμής, κάθε δείγμα χωριάτικου λουκάνικου τοποθετούνταν σε αλουμινόχαρτο και θερμαινόταν με τη χρήση ατμού (ατμομάγειρας Braun MultiGourmet FS20) για τριάντα λεπτά. Σε κάθε δοκιμαστή που επρόκειτο να αξιολογήσει, τα δείγματα σερβίρονταν ξεχωριστά από τους υπολοίπους, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε λευκά πιάτα με ένα τριπήφιο τυχαίο αριθμό. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν ήταν η οσμή, η γεύση και η γενική αποδοχή. Το κάθε ένα από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αξιολογήθηκε με τη χρήση κλίμακας από 1 έως 9 (Πίνακας 3). Ως όριο αποδοχής του δείγματος τέθηκε ο βαθμός 5 (οριακά αποδεκτό). Όταν ο μέσος όρος της βαθμολογίας κάποιου δείγματος ήταν χαμηλότερος από το 5 το δείγμα θεωρούνταν ως απορριπτέο. Κάθε πείραμα που αφορούσε τον οργανοληπτικό έλεγχο πραγματοποιήθηκε σε τρία διαφορετικά δείγματα (επαναλήψεις).

Πίνακας 03. Αντιστοιχία βαθμολογίας ορίου αποδοχής και χαρακτηρισμού για τη διενέργεια του οργανοληπτικού ελέγχου.

Βαθμολογία	Όριο αποδοχής	Περιγραφή
9	Αποδεκτό	Εξαιρετικά ευχάριστο
8	Αποδεκτό	Πολύ ευχάριστο
7	Αποδεκτό	Αρκετά ευχάριστο
6	Αποδεκτό	Ευχάριστο
5	Οριακά αποδεκτό	Αποδεκτό
4	Απορριπτέο	Δυσάρεστο
3	Απορριπτέο	Αρκετά δυσάρεστο
2	Απορριπτέο	Πολύ δυσάρεστο
1	Απορριπτέο	Εξαιρετικά δυσάρεστο

B.2.3 Ανάλυση Δεδομένων

Από τα δεδομένα που προέκυψαν από το σύνολο των μετρήσεων, εκτιμήθηκε η μέση τιμή του βαθμού αποδοχής για κάθε ένα από τα εξεταστέα χαρακτηριστικά, ανά ημέρα και ανά εξεταστέο υποσύνολο. Τα αποτελέσματα παρατέθηκαν σε ραβδογράμματα και προσδιορίστηκαν οι τάσεις διαφοροποίησης ανάμεσα στα τρία υποσύνολα (CONT, CM2, CM4).

B.3 Μέρος 2^ο : Διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε λουκάνικο χοιρινού κρέατος

B.3.1. Υλικά

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν στο δεύτερο πειραματικό μέρος φαίνονται στον Πίνακα 4. Και σ' αυτή την περίπτωση, επίσης χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) και παραδοσιακό λουκάνικο χοιρινού κρέατος. Όπως προαναφέρθηκε, η προμήθεια των φυτών έγινε από εξειδικευμένο τοπικό κατάστημα, ενώ, το χωριάτικο λουκάνικο παρασκευάστηκε στην πόλη της Καρδίτσας και αγοράστηκε από τοπικό κατάστημα λιανικής πώλησης. Πέραν αυτών, χρησιμοποιήθηκαν βακτηριακά στελέχη του μικροοργανισμού *S. aureus* οι: *S. aureus* (Sap) και *S. aureus* (Sak). Αμφότερα τα στελέχη προήλθαν από τη συλλογή πρότυπων στελεχών που διαθέτει το Εργαστήριο Υγιεινής των Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Πίνακας 04. Υλικά δεύτερου πειραματικού μέρους

Υλικά	Προέλευση
▪ Στελέχη παθογόνων μικροοργανισμών <i>S. aureus</i> (Sap) <i>S. aureus</i> (Sak)	Εργαστήριο Υγιεινής των Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
▪ Αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (<i>Chamomilla recutita</i>)	Εξειδικευμένο τοπικό κατάστημα
▪ Παραδοσιακό λουκάνικο χοιρινού κρέατος (παρασκευασμένο στην πόλη της Καρδίτσας)	Τοπικό κατάστημα λιανικής πώλησης

B.3.2 Μέθοδοι

Τα διαδοχικά στάδια που ακολουθήθηκαν βάσει της μεθοδολογίας συνοψίζονται στον Πίνακα 05.

Πίνακας 05. Διάρθρωση μεθοδολογίας δεύτερου πειραματικού μέρους

α/α	Στάδιο
01	Προμήθεια αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (<i>Chamomilla recutita</i>) με απόσταξη με υδρατμούς
02	Επιλογή συγκεντρώσεων αιθέριου ελαίου χαμομηλιού
03	Παρασκευή των δειγμάτων του λουκάνικου
04	Παρασκευή του ενοφθαλμίσματος (καλλιέργεια χρήσεως) ▪ Παρασκευή μικροβιακού εναιωρήματος ▪ Ενοφθαλμισμός στο θρεπτικό υλικό (χωριάτικο λουκάνικο)
05	Ομαδοποίηση των δειγμάτων σύμφωνα με τον ενοφθαλμισμό και την συγκέντρωση προστιθέμενου αιθέριου ελαίου.
06	Μικροβιολογική Ανάλυση των δειγμάτων
07	Φυσικοχημική Ανάλυση των δειγμάτων

Ακολούθως, αναλύονται οι διαδικασίες που διενεργήθηκαν ανά στάδιο.

Παρασκευή αιθέριου ελαίου από αποξηραμένο φυτό χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*)

Το αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού, που χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράση του έναντι του παθογόνου *S. aureus* και της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, παρασκευάστηκε με τον τρόπο που περιγράφεται στην παράγραφο 2.2.2.

Επιλογή συγκεντρώσεων αιθέριου ελαίου χαμομηλιού

Οι απαιτούμενες συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων για την αναστολή διαφόρων παθογόνων βακτηρίων στα τρόφιμα τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* εμφανίζουν μεγάλο εύρος διακύμανσης. Η συνθήκη συσχετίζεται κυρίως με το είδος του αιθέριου ελαίου που χρησιμοποιείται, τη σύνθεσή του, το στέλεχος του μικροοργανισμού που μελετάται, καθώς και τη μέθοδο που εφαρμόζεται για την αξιολόγηση της αντιμικροβιακής δράσης. Εν προκειμένω, δύο συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (0.2% και 0.4%) επιλέχθηκαν να μελετηθούν για την αντιμικροβιακή τους δράση κατά του παθογόνου *S. aureus*, σε *in vivo* συνθήκες. Οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις επιλέχθηκαν, έπειτα από διενέργεια προκαταρκτικού οργανοληπτικού ελέγχου, κατά τον οποίο διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις αυτές ήταν αποδεκτές, ενώ η συγκέντρωση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού που υπερβαίνει το 0,5% προκάλεσε οργανοληπτική απόρριψη του παραδοσιακού χοριάτικου λουκάνικου.

Παρασκευή των δειγμάτων του λουκάνικου χοιρινού κρέατος

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των δειγμάτων του παραδοσιακού λουκάνικου περιγράφεται αναλυτικά στην παράγραφο 2.2.2

Παραγωγή καλλιέργειας χρήσεως & ενοφθαλμισμός του χοριάτικου λουκάνικου

Κάθε στέλεχος από τα χρησιμοποιημένα παθογόνα [*S. aureus* (Sap) και *S. aureus* (Sak)] υποβλήθηκε σε αναζωογόνηση με επώαση σε 50 mL ζωμού Brain Heart Infusion (BHI) (Oxoid, Basingstoke, UK) στους 37°C για 24 ώρες με δύο διαδοχικές καλλιέργειες αναζωογόνησης. Ακολούθως, για τη δημιουργία ιζήματος, πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές / λεπτό για 10 λεπτά στους 4°C. Το ίζημα που προέκυψε από τη φυγοκέντρηση, πλύθηκε δύο φορές με 10 mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος (PBS) (Oxoid), pH 7 και αραιώθηκε με PBS σε 1.0×10^8 cfu/mL. Το κυτταρικό αυτό εναιώρημα χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του ενοφθαλμίσματος (καλλιέργεια χρήσεως). Για το μίγμα των παθογόνων στελεχών, τα δύο διαλύματα ενώθηκαν σε περίπου ίσες συγκεντρώσεις. Ο προσδιορισμός του πληθυσμού των παθογόνων του ενοφθαλμίσματος έγινε με διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε πεπτονόχο ύδωρ (0.1%) 1:10 και καταμέτρηση σε διπλά τριβλία με Tryptone Soy Agar (TSA) (Oxoid). Η καλλιέργεια χρήσεως από το μίγμα των στελεχών περιείχε τελικό βακτηριακό πληθυσμό περίπου 10^4 log cfu/mL.

Ομαδοποίηση των δειγμάτων

Πριν τον ενοφθαλμισμό του λουκάνικου με τα στελέχη του *S. aureus* και την προσθήκη των αιθέριων ελαίων, το λουκάνικο που παρασκευάστηκε εξετάστηκε για τους πληθυσμούς της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (O.M.X.) όπως και για την παρουσία του εξεταζόμενου παθογόνου (*S. aureus*). Τα δείγματα χοριάτικου λουκάνικου (25g) τοποθετήθηκαν σε σακούλες stomacher και ενοφθαλμίστηκαν με τα 2 στελέχη του *S. aureus* σε πληθυσμούς 4 log cfu/g. Στα ενοφθαλμισμένα με τα παθογόνα δείγματα έγινε προσθήκη του αιθέριου ελαίου. Τα δείγματα χοιρινού λουκάνικου στα οποία δεν προστέθηκε αιθέριο έλαιο, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Για τη μελέτη της αντιμικροβιακής δράσης χρησιμοποιήθηκαν δείγματα χοιρινού λουκάνικου με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0.2% και 0.4%. Οι σακούλες stomacher κλείστηκαν με αναδίπλωση και συντηρήθηκαν σε αερόβιες συνθήκες στους 4 °C για 15 ημέρες, προσομοιάζοντας κατάλληλη θερμοκρασία ψύξης.

Στον Πίνακα 06 αναγράφονται οι ομάδες όπως διαμοιράστηκαν για τη διεξαγωγή του πειράματος.

Πίνακας 06. Ομαδοποίηση των δειγμάτων σύμφωνα με τον ενοφθαλμισμό και την συγκέντρωση προστιθέμενου αιθέριου ελαίου.

Ομάδα	Ενοφθαλμισμός με <i>S. aureus</i>	Παρουσία αιθέριου ελαίου	Περιγραφή
Ομάδα Α	-	-	Ομάδα μαρτύρων χωρίς <i>S. aureus</i> και αιθέριο έλαιο
Ομάδα Β	-	+	Ομάδα χωρίς <i>S. aureus</i> , με αιθέριο έλαιο 0,2%
Ομάδα Γ	-	+	Ομάδα χωρίς <i>S. aureus</i> , με αιθέριο έλαιο 0,4%
Ομάδα Δ	+	-	Ομάδα μαρτύρων με <i>S. aureus</i> , χωρίς αιθέριο έλαιο
Ομάδα Ε	+	+	Ομάδα με <i>S. aureus</i> , με αιθέριο έλαιο 0,2%
Ομάδα Ζ	+	+	Ομάδα με <i>S. aureus</i> , με αιθέριο έλαιο 0,4%

Μικροβιολογική Ανάλυση

Η μικροβιολογική ανάλυση για τους πληθυσμούς των παθογόνων πραγματοποιήθηκε σε διαστήματα 2 ημερών για τα δείγματα που είχαν ενοφθαλμιστεί με *S. aureus* και σε διάστημα 3 ημερών για τα δείγματα που περιείχαν αιθέριο έλαιο χαμομηλιού και υπόκειντο σε αναζήτηση για OMX, μέχρι το τέλος της συντήρησής τους στους 4°C για 12 και 21 ημέρες αντίστοιχα. Μετά από κάθε δειγματοληψία, σε κάθε δείγμα κρέατος (25 g), προθέτονταν 225 ml πεπτονούχου ύδατος 0.1%, ώστε να επιτευχθεί η αρχική δεκαδική αραιώση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιούνταν στη συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθούσαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε στείρο πεπτονούχο ύδωρ (0.1%) και στη συνέχεια γινόταν ενοφθαλμισμός 0.1 ml στην επιφάνεια διπλών τριβλίων του αντίστοιχου εκλεκτικού υποστρώματος για το κάθε παθογόνο. Ο εμπλουτισμός των δειγμάτων που περιείχαν *S. aureus* έγινε με προσθήκη 225 ml BAIRD broth (Merck). Στη συνέχεια τα δείγματα επώζονταν στους 37°C για 24 ώρες. Με το πέρας της επώασης, όγκος 0.1 mL επιστρωνόταν σε διπλά τριβλία με εκλεκτικό υπόστρωμα Baird-Parker (Merck) και ακολουθούσε εκ νέου επώαση στους 37°C για 24 ώρες. Τέλος, διενεργούνταν βιοχημική (Bactident® Catalase, Merck) και ορολογική επιβεβαίωση των αποικιών (Bactident® Staph, Merck). Αντίστοιχα η OMX προσδιοριζόταν σε Plate Count Agar (PCA) μετά από επώαση στους 25°C για 72 ώρες.

Χημική Ανάλυση

Η ανάλυση του χοιρινού λουκάνικου για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνες, λίπος και υγρασία έγινε κατά AOAC. Το pH των δειγμάτων προσδιορίστηκε με πεχάμετρο σε διαστήματα 3 ημερών, στις Ομάδες Α, Β και Γ μέχρι το τέλος της συντήρησής τους στους 4°C.

B.3.3 Ανάλυση δεδομένων

Με βάση τα δεδομένα που προέκυψαν από το σύνολο των μετρήσεων, προσδιορίστηκε η μέση τιμή ανά εξεταστέο χαρακτηριστικό (OMX, μικροβιακός πληθυσμός του *S. aureus*, pH, A_w) στα επιμέρους υποσύνολα. Συμπληρωματικά, τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν σε ιστόγραμμα και προσδιορίστηκαν οι τάσεις διαφοροποίησης μεταξύ των υποσυνόλων.

ΜΕΡΟΣ Γ.

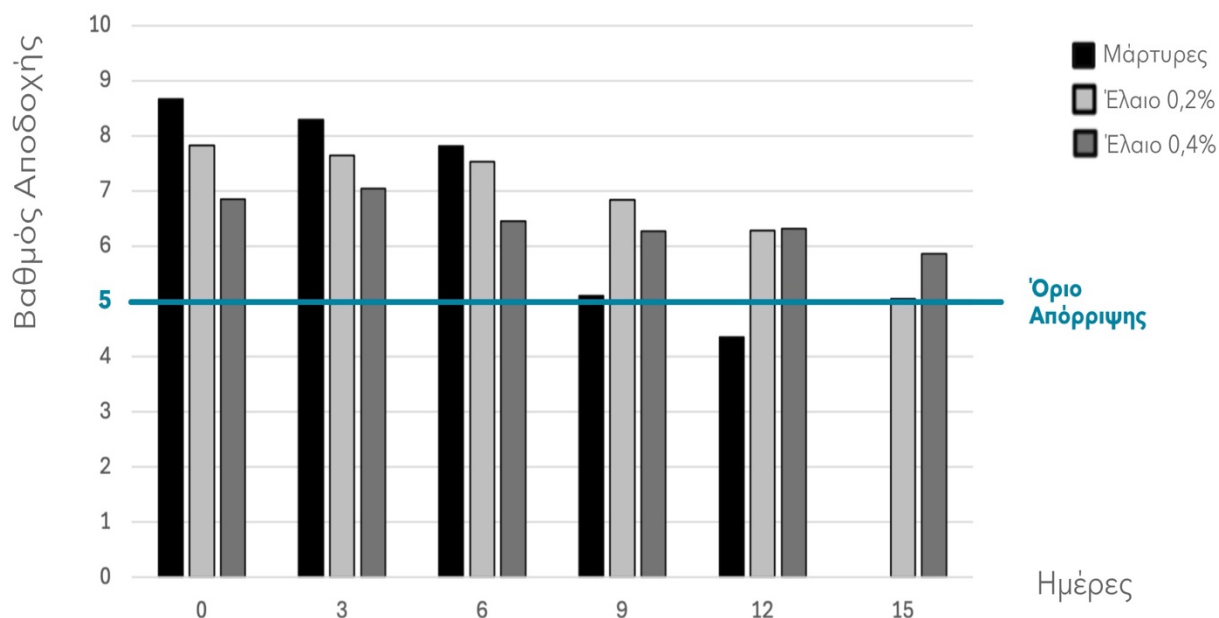
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γ.1 Μέρος 1ο : Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του λουκάνικου

Στο πλαίσιο της μελέτης, διενεργήθηκε οργανοληπτική εξέταση δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου στα οποία προστέθηκε αιθέριο έλαιο χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2% (CM2) και 0,4% (CM4) και των δειγμάτων μάρτυρα (CONT), ως συγκριτική ανάλυση για τρία διακριτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά: i) την οσμή, ii) τη γεύση και iii) τη συνολική αποδοχή. Το κάθε πείραμα του οργανοληπτικού ελέγχου διενεργήθηκε σε 3 χωριστά δείγματα (επαναλήψεις). Ακολούθως, παρατίθενται τα αποτελέσματα ανά εξεταστέο χαρακτηριστικό.

Γ.1.1 Οσμή

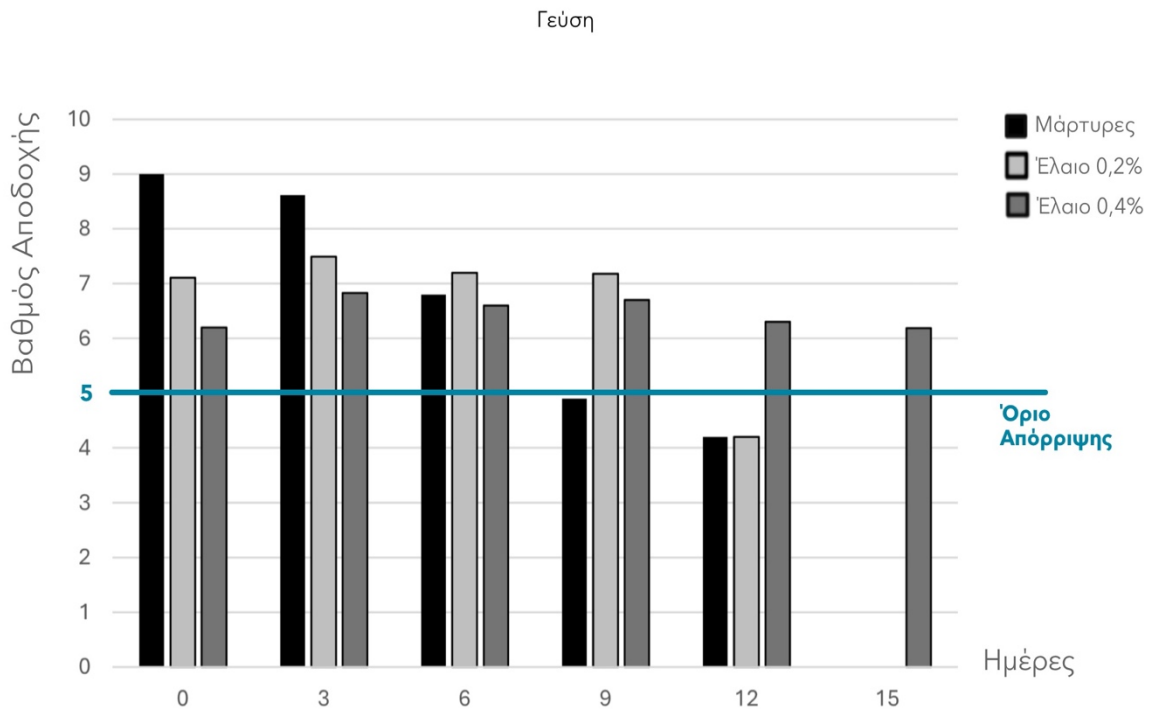
Αναφορικά με τη βαθμολογία της οσμής των δειγμάτων της ομάδας των μαρτύρων (CONT) του χωριάτικου λουκάνικου την ημέρα 0 κυμάνθηκε στο 8,8 παρουσιάζοντας υψηλή τιμή αποδοχής, η οποία διατηρήθηκε σε υψηλό επίπεδο (8,2-7,8) έως και την ημέρα 6 των δοκιμών. Εν συνεχεία, η βαθμολογούμενη τιμή παρουσιάζει μια αισθητή πτώση προσεγγίζοντας την ημέρα 9 το όριο αποδοχής (5) και την ημέρα 12 μη αποδεκτή τιμή (4,2) (Διάγραμμα 01). Σχετικά με τις τιμές των δειγμάτων όπου τοποθετήθηκε αιθέριο έλαιο χαμομηλιού συγκέντρωσης 0,2% (CM2) και 0,4% (CM4), την ημέρα 0 οι τιμές αποδοχής είναι 7,8 και 6,8 τιμές που διατηρούνται σε καλά επίπεδα έως και την ημέρα 6: 7,6 και 6,4 αντίστοιχα. Από την ημέρα 9 έως και την ημέρα 15 τα δείγματα με αιθέριο έλαιο, σε αντίθεση με το μάρτυρα, διατηρούν αποδεκτά επίπεδα οσμής με τιμές 6,8-6,2 (ημ.9), 6,1 - 6,2 (ημ.12) και 5 - 5,8 (ημ.15), αντίστοιχα. Αναφορικά με την οσμή αξίζει να σημειωθεί πως φαίνεται η προσθήκη αιθέριου ελαίου να επιμηκύνει την αποδοχή του προϊόντος και μετά την 9 ημέρα συντήρησης του σε θερμοκρασία ψύξης.



Διάγραμμα 01. Οργανοληπτικός έλεγχος σύγκρισης της οσμής δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου με την προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2% (CM2), 0,4% (CM4), καθώς και μαρτύρων (CONT). Η μπλε γραμμή αντιστοιχεί στο όριο απόρριψης (5).

Γ.1.2 Γεύση

Στο Διάγραμμα 02, παρατίθενται τα αποτελέσματα αναφορικά με τη γεύση.

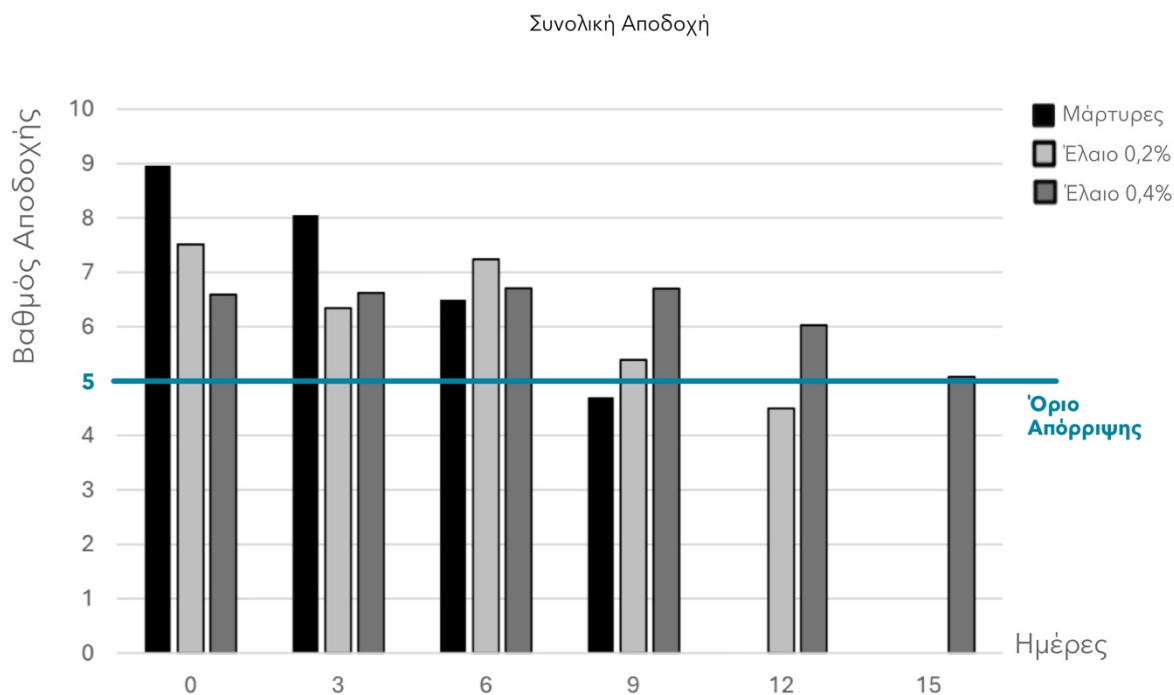


Διάγραμμα 02. Οργανοληπτικός έλεγχος σύγκρισης της γεύσης δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου με την προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2% (CM2), 0,4% (CM4), καθώς και μαρτύρων (CONT). Η διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο όριο απόρριψης (5).

Αναλύοντας τη βαθμολογία της γεύσης των δειγμάτων της ομάδας των μαρτύρων (CONT) του χωριάτικου λουκάνικου την ημέρα 0 κυμάνθηκε στο 9 παρουσιάζοντας υψηλή τιμή αποδοχής, η οποία διατηρήθηκε σε υψηλό επίπεδο 8,6 και την ημέρα 3 των δοκιμών. Εν συνεχεία, η βαθμολογούμενη τιμή παρουσιάζει πτωτική τάση προσεγγίζοντας την ημέρα 6 την τιμή 6,8 και την ημέρα 9 και 12 τις μη αποδεκτές τιμές 4,9 και 4,4 αντίστοιχα (Διάγραμμα 02). Σχετικά με τις τιμές των δειγμάτων όπου τοποθετήθηκε αιθέριο έλαιο χαμομηλιού συγκέντρωσης 0,2% (CM2) και 0,4% (CM4), την ημέρα 0 οι τιμές αποδοχής είναι 7,1 και 6,2 τιμές που διατηρούνται σε καλά επίπεδα έως και την ημέρα 9: 7,4 - 6,8 (ημ.3), 7,2 - 6,6 (ημ.6) και 7,1 - 6,8 (ημ.9) αντίστοιχα. Την ημέρα 12 τα δυο δείγματα με αιθέριο έλαιο έλαβαν τις τιμές 4,2 και 6,3 και τέλος την ημέρα 15 6,2 (CM4). Τέλος, ως προς τη μεταβολή της βαθμολογίας της γεύσης στο διάστημα των εξεταστέων 15 ημερών, σημειώνεται ότι τα δείγματα με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού συγκέντρωσης 0,4% (CM4) παρουσίασαν την μικρότερη μείωση του βαθμού αποδοχής (μείωση της τάξεως του -0.1). Αναφορικά με τη γεύση αξίζει να σημειωθεί πως η προσθήκη αιθέριου ελαίου φαίνεται να επιβράδυνε την πτώση αποδοχής του προϊόντος.

Γ.1.3 Συνολική Αποδοχή

Στο Διάγραμμα 03, παρατίθενται τα αποτελέσματα αναφορικά με τη συνολική αποδοχή.



Διάγραμμα 03. Οργανοληπτικός έλεγχος σύγκρισης της συνολικής αποδοχής δειγμάτων χωριάτικου λουκάνικου με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0,2%(CM2), 0,4%(CM4), καθώς και μαρτύρων (CONT). Η διακεκομμένη γραμμή αντιστοιχεί στο όριο απόρριψης (5).

Αναλύοντας τη βαθμολογία της συνολικής αποδοχής των δειγμάτων της ομάδας των μαρτύρων (CONT) του χωριάτικου λουκάνικου την ημέρα 0 κυμάνθηκε στο 9 παρουσιάζοντας τη μέγιστη τιμή αποδοχής, η οποία διατηρήθηκε σε υψηλό επίπεδο 8 και την ημέρα 3 των δοκιμών. Εν συνεχεία, η βαθμολογούμενη τιμή παρουσιάζει πτωτική τάση προσεγγίζοντας την ημέρα 6 την τιμή 7,1 και την ημέρα 9 τη μη αποδεκτή τιμή 4,7. Σχετικά με τις τιμές των δειγμάτων οπού τοποθετήθηκε αιθέριο έλαιο χαμομηλιού συγκέντρωσης 0,2% (CM2) και 0,4% (CM4), την ημέρα 0 οι τιμές αποδοχής είναι 7,5 και 6,6 τιμές που διατηρούνται σε καλά επίπεδα έως και την ημέρα 9: 6,3 - 6,6 (ημ.3), 7,2 - 6,7 (ημ.6) και 7 - 6,8 (ημ.9) αντίστοιχα. Την ημέρα 12 τα δείγματα με αιθέριο έλαιο κατέγραψαν τιμές 4,5 (CM2), 6,0 (CM4) και τέλος την ημέρα 15, 5 (CM4). Ακολούθως, εξετάζοντας τη μεταβολή της βαθμολογίας συνολικής αποδοχής ανά υποομάδα στο διάστημα των εξεταστέων 9 ημερών, παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού συγκέντρωσης 0,4% (CM4) παρουσίασαν την μικρότερη μείωση. Συμπερασματικά, αναφορικά με τη συνολική αποδοχή, όπως και με τους άλλους δυο παράγοντες υπό εξέταση, φαίνεται πως η προσθήκη αιθέριου ελαίου λειτουργεί βελτιωτικά ως προς την αποδοχή του προϊόντος στην πάροδο του χρόνου.

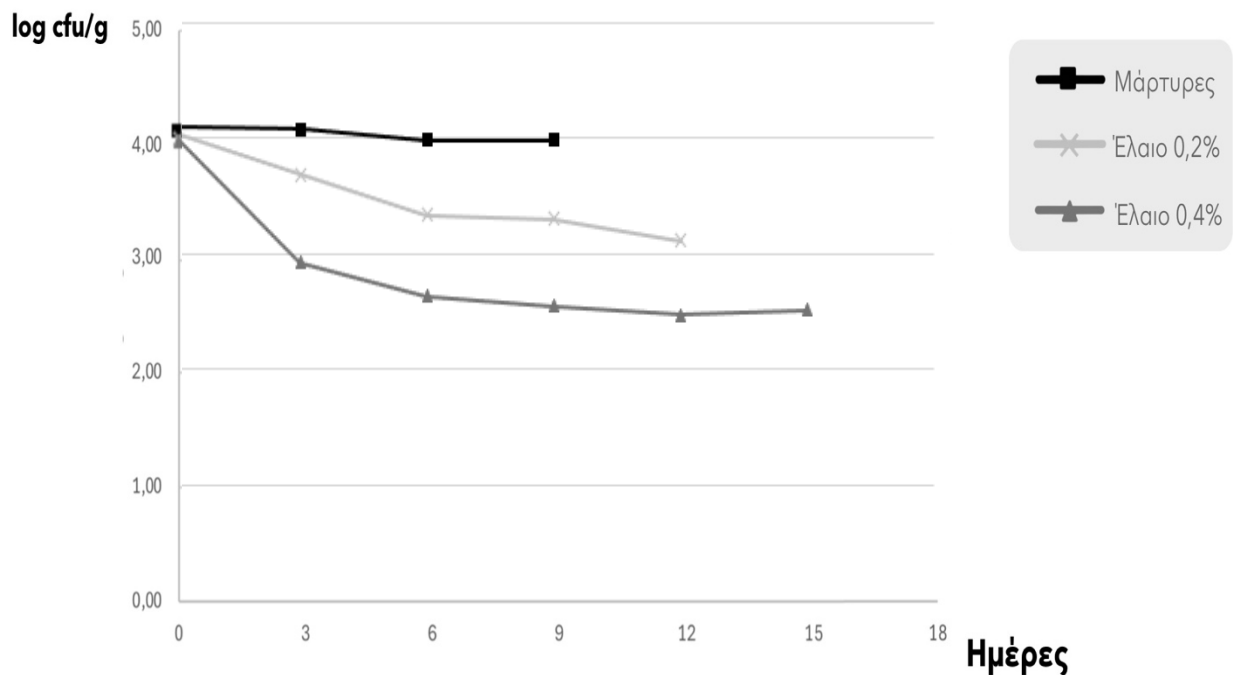
Γ.2 Μέρος 2^ο : Διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε λουκάνικο χοιρινού κρέατος

Γ.2.1 Μικροβιολογική Ανάλυση

Οι μικροβιολογικές αναλύσεις διενεργηθήκαν για τις έξι ορισθείσες ομάδες (Πίνακας 06). Ειδικότερα, προσμετρήθηκε ο αριθμός των αποικιών για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα και τον *S. aureus*, ενώ, επιλέχθηκαν τα τριβλία που περιείχαν από 20 έως 200 αποικίες βάσει της αρίθμησης τους. Ακολούθως, παρατίθενται τα αποτελέσματα κάθε κατηγορίας.

Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (OMX)

Για τις μετρήσεις της OMX, χρησιμοποιήθηκαν οι ομάδες Α, Β και C (χωρίς την παρουσία του παθογόνου, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 04). Τα αρχικά αποτελέσματα (Ημέρα 0) υπέδειξαν παρόμοιες τιμές OMX και για τις τρεις ομάδες (~4 log CFU/g). Ωστόσο, ήδη από την 3η ημέρα παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις. Ειδικότερα, στην ομάδα Α η OMX αυξήθηκε ελαφρά, ενώ στις πειραματικές ομάδες με αιθέριο έλαιο σημειώθηκε μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης. Η ομάδα C παρουσίασε τη μεγαλύτερη μείωση, αποκαλύπτοντας την έντονη αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου. Στη συνέχεια έως την 12η ημέρα, παρατηρήθηκε σταθερότητα και στις δυο ομάδες χαρακτηρισμένη από σταδιακή αύξηση της OMX, με την ομάδα C να διατηρεί σημαντικά χαμηλότερες τιμές τόσο από την ομάδα Α όσο και από την Β μέχρι και τη 15 ημέρα. Τα δεδομένα αυτά φανέρωσαν ότι η αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου εξαρτάται από τη συγκέντρωσή του και ότι η υψηλότερη συγκέντρωση επιδεικνύει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στη συγκράτηση της μικροβιακής ανάπτυξης.

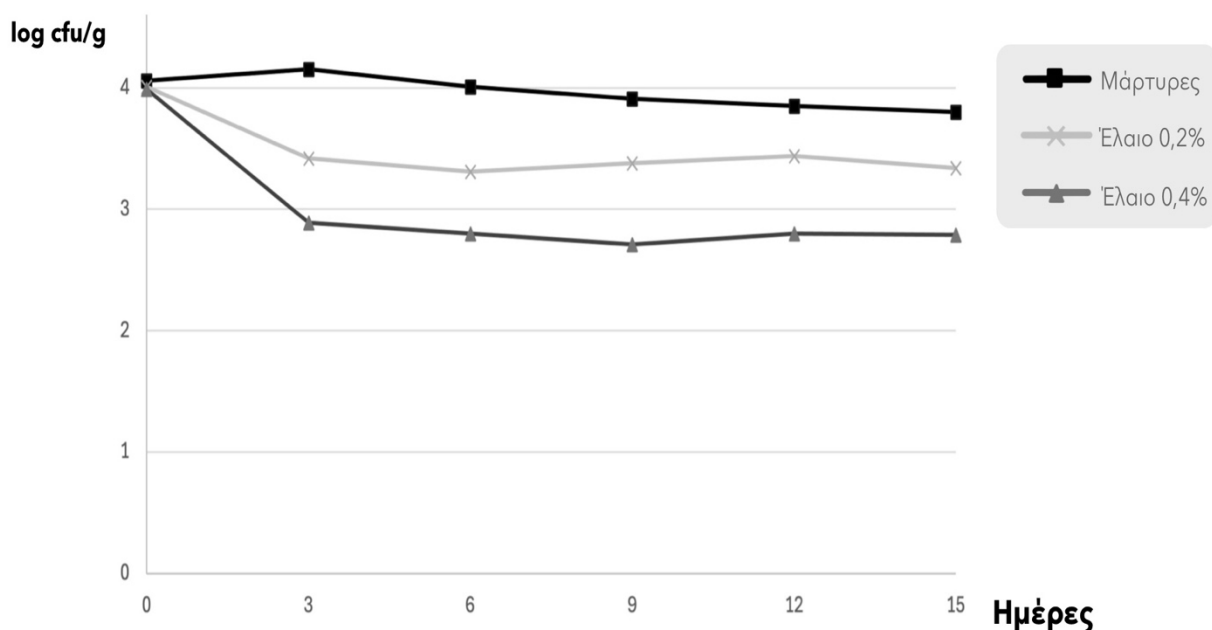


Διάγραμμα 04. Αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά της OMX σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης (4°C) για διάστημα 15 ημερών.

Συμπερασματικά, η χρήση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0.2% και 0.4% φαίνεται να αναστέλλει την ανάπτυξη της OMX σε υπόστρωμα χωριάτικου λουκάνικου, με την επίδραση του ελαίου να λειτουργεί συγκεντρωσιο-εξαρτώμενα.

S. aureus

Για τη διενέργεια της ανάλυσης του μικροβιακού πληθυσμού του *S. aureus* χρησιμοποιήθηκαν οι ομάδες D, E και F (Διάγραμμα 05). Τα αρχικά αποτελέσματα (Ημέρα 0) δείχνουν ότι όλες οι ομάδες είχαν τα ενοφθλμισμένα επίπεδα σταφυλόκοκκου ($\sim 4.0 \log \text{ CFU/g}$), γεγονός που επιβεβαιώνει την ομοιογένεια των δειγμάτων. Κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων ημερών (Ημέρες 0-2), παρατηρήθηκε έντονη μείωση της μικροβιακής χλωρίδας στις ομάδες E και F. Στο ενδιάμεσο στάδιο του πειράματος (Ημέρες 3-6), η μείωση συνεχίστηκε, αν και με πιο αργό ρυθμό, εξαιρέση η ομάδα μαρτύρων που παρουσίασε την ημέρα 3 μια μικρή πληθυσμιακή άνοδο. Η ομάδα D διατήρησε τιμές τις πτωτικές έπειτα από την ημέρα 3, ενώ οι πειραματικές ομάδες με αιθέριο έλαιο E και F παρουσίασαν φανερά χαμηλότερες τιμές. Η ομάδα F συγκεκριμένα έφτασε στα $\sim 1.2 \log \text{ CFU/g}$, αποδεικνύοντας τη συγκριτικά μεγαλύτερη αποτελεσματικότητά της στη μείωση του σταφυλόκοκκου. Κατά την τελική φάση του πειράματος (Ημέρες 6-18), όλες οι ομάδες εμφάνισαν περαιτέρω μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης, εξαιρέση η ομάδα με αιθέριο έλαιο συγκέντρωσης 0,2% (E) που παρουσίασε κάποιες μικρές διακυμάνσεις. Η ομάδα D έφτασε σε τιμές $\sim 0.2 \log \text{ CFU/g}$, ενώ οι ομάδες με αιθέριο έλαιο E και F κατέγραψαν ακόμα χαμηλότερες τιμές. Στην ομάδα F η τελική τιμή συγκέντρωσης του *S. aureus* ήταν περίπου $\sim 1,2 \log \text{ CFU/g}$, συνθήκη που υποδεικνύει τη σταθερή και ισχυρή αντιμικροβιακή δράση του ελαίου χαμομηλιού.



Διάγραμμα 05. Αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά του *S. aureus* σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης (4°C) για διάστημα 18 ημερών

Συνοψίζοντας, η μελέτη έδειξε ότι η προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού μπορεί να περιορίσει σημαντικά την ανάπτυξη του *S. aureus* σε υπόστρωμα χωριάτικου λουκάνικου. Η αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης που προστίθεται, με τη συγκέντρωση 0.4% να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση. Τα αποτελέσματα αυτά αναδεικνύουν την προοπτική χρήσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού ως

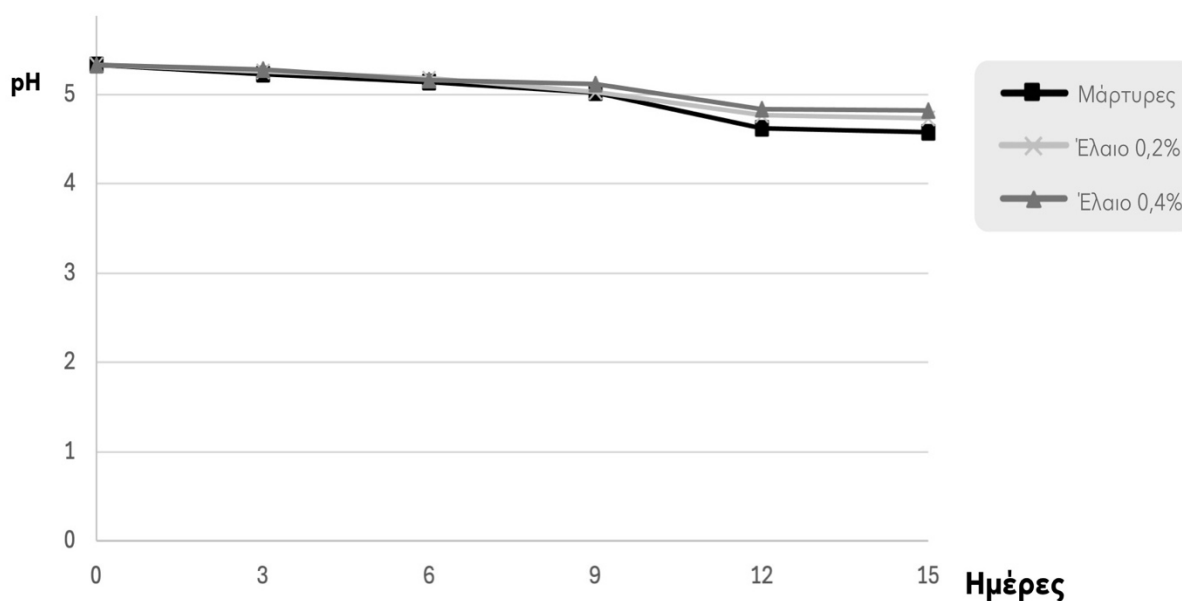
φυσικό αντιμικροβιακό μέσο για τη βελτίωση της μικροβιακής ασφάλειας και ποιότητας του τροφίμου.

Γ.2.2 Χημική Ανάλυση

Στο δεύτερο πειραματικό μέρος, πέραν της μικροβιολογικής ανάλυσης που προαναφέρθηκε, διενεργήθηκε και χημική ανάλυση. Στα εξεταστέα δείγματα του χοιρινού λουκάνικου των ομάδων Α-Β-С, προσδιορίστηκε η περιεκτικότητάς σε υγρασία κατά ΑΟΑC και το pH με πεχάμετρο σε διαστήματα 3 ημερών, μέχρι το τέλος της συντήρησής τους στους 4°C. Ακολούθως, παρατίθενται τα σχετικά αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης.

Μεταβολή του pH

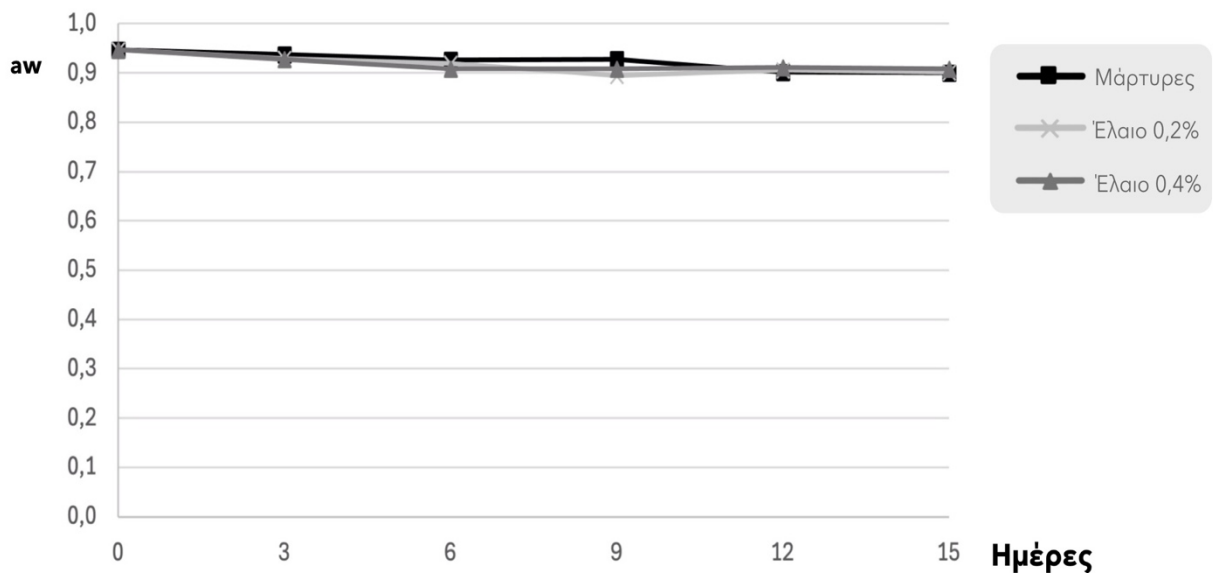
Στο διάγραμμα 06 παρουσιάζεται η μεταβολή του pH του χωριάτικου λουκάνικου σε διάστημα 15 ημερών, υπό τρεις διαφορετικές συνθήκες: i) χωρίς προσθήκη αιθέριου ελαίου (μάρτυρας), ii) με προσθήκη αιθέριου ελαίου 0,2% (CM2), και iii) με προσθήκη αιθέριου ελαίου 0,4% (CM4). Σε όλες τις περιπτώσεις, παρατηρείται πτώση του pH, που υποδηλώνει αύξηση της οξύτητας κατά τη συντήρηση σε συνθήκες ψύξης. Το δείγμα του μάρτυρα (CONT) παρουσιάζει τη μεγαλύτερη πτώση pH, γεγονός που υποδεικνύει εντονότερη μικροβιακή ή ενζυμική δραστηριότητα. Αντίθετα, η προσθήκη αιθέριου ελαίου, ιδιαίτερα στη συγκέντρωση 0,4%, φαίνεται να περιορίζει αυτή τη δραστηριότητα, διατηρώντας τις υψηλότερες τιμές pH καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου. Αυτό φαίνεται να συμβάλλει στην αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου, η οποία καθυστερεί την όξυνση και συμβάλλει έτσι στη συντήρηση του προϊόντος.



Διάγραμμα 06. Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού επί της μεταβολής του pH σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης (4°C) για διάστημα 15 ημερών.

Μεταβολή της ενεργότητας νερού

Το διάγραμμα 07 απεικονίζει τη μεταβολή της ενεργότητας νερού (A_w) του χωριάτικου λουκάνικου σε συνθήκες ψύξης, για διάστημα 15 ημερών, στις τρεις ακόλουθες ομάδες: i) ομάδα μαρτύρων - χωρίς προσθήκη αιθέριου ελαίου (CONT), ii) ομάδα με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκέντρωση 0,2% (CM2), και με προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκέντρωση 0,4% (CM4). Αρχικά, παρατηρείται γενική μείωση της A_w σε όλα τα δείγματα, η οποία σταθεροποιείται προς το τέλος της περιόδου. Στο δείγμα του μάρτυρα, η ενεργότητα νερού μειώνεται αλλά παραμένει υψηλότερη σε σύγκριση με τα δείγματα που περιέχουν αιθέριο έλαιο. Συγκριτικά, η προσθήκη αιθέριου ελαίου 0,2% μειώνει περισσότερο την ενεργότητα νερού, έναντι των μαρτύρων. Βέβαια, από τα τρία εξεταστέα υποσύνολα, η προσθήκη του ελαίου σε συγκέντρωση 0,4% οδηγεί στη μέγιστη μείωση της ενεργότητας νερού, σημειώνοντας στις χαμηλότερες τελικές τιμές. Η εν λόγω συνθήκη πιθανώς οφείλεται στη δέσμευση του νερού ή στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου, που περιορίζουν τη διαθεσιμότητα νερού για την ανάπτυξη μικροοργανισμών.



Διάγραμμα 07. Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού επί της ενεργότητας νερού σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου, διατηρημένου σε συνθήκες ψύξης (4°C) για διάστημα 15 ημερών.

ΜΕΡΟΣ Δ.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Δ.1 Κύρια συμπεράσματα της μελέτης

Στην παρούσα εργασία, διενεργήθηκε οργανοληπτικός, μικροβιολογικός και φυσικοχημικός έλεγχος σε δείγματα χωριάτικου λουκάνικου χοιρινού κρέατος, στα οποία προστέθηκε αιθέριο έλαιο χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) σε συγκεντρώσεις 0,2% και 0,4%, συγκριτικά με δείγματα μαρτύρων. Κατά τον οργανοληπτικό έλεγχο, προσδιορίστηκε ο βαθμός αποδοχής για τρία διακριτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά: την οσμή, τη γεύση και τη συνολική αποδοχή. Ακολούθως, κατά τη μικροβιολογική ανάλυση των δειγμάτων, προσδιορίστηκαν οι πληθυσμοί της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) και του *S. aureus*, ενώ, κατά το φυσικοχημικό έλεγχο, προσδιορίστηκαν η τιμή του pH και ο συντελεστής ενεργού ύδατος (A_w) στα δείγματα. Η συγκεκριμένη αξιολόγηση υλοποιήθηκε ως γενικό εγχείρημα διερεύνησης της δυνητικής χρήσης του προαναφερθέντος αιθέριου ελαίου ως αντιμικροβιακός παράγοντας κατά τροφιμογενών παθογόνων σε υπόστρωμα παραδοσιακών προϊόντων με βάση το κρέας.

Συνοπτικά, τα κύρια συμπεράσματα της μελέτης καταγράφονται ως εξής :

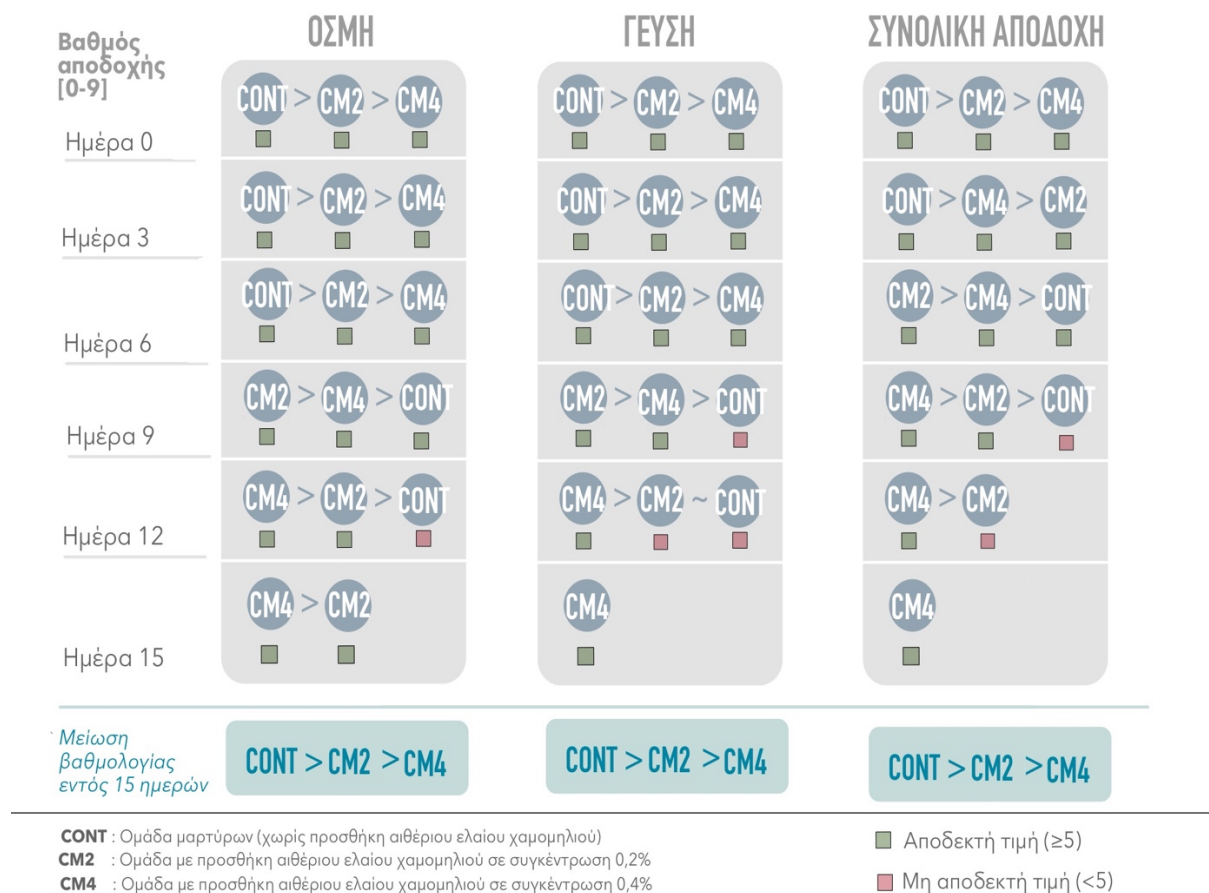
- *Ως προς τον οργανοληπτικό έλεγχο :*
Η προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο i) αποδίδει αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε συγκεντρώσεις μέχρι 0,4% ii) βελτιώνει την οσμή, τη γεύση και τη συνολική αποδοχή του προϊόντος, σε σχέση με τους μάρτυρες κατά τη διάρκεια συντήρησης για 15 ημέρες σε αερόβιες συνθήκες υπό ψύξη (4°C).
- *Ως προς τη μικροβιολογική ανάλυση :*
Το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού παρουσίασε σημαντική αντιμικροβιακή δράση κατά των πληθυσμών της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) και του *S. aureus* σε παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο. Και στις δύο περιπτώσεις, η χρήση του αιθέριου ελαίου, σε συγκεντρώσεις 0.2% και 0.4%, επιφέρει σημαντικά χαμηλότερους πληθυσμούς ($p < 0.05$) , σε σχέση με τους αντίστοιχους πληθυσμούς των μαρτύρων. Βέβαια, υψηλότερη συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου (0.4% έναντι 0.2%) αντιστοιχίζεται σε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση.
- *Ως προς τον φυσικοχημικό έλεγχο :*
Η προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στο χωριάτικο λουκάνικο αποδεικνύεται αποτελεσματική στη βελτίωση της συντήρησης του υπό συνθήκες ψύξης. Η προσθήκη αιθέριου ελαίου, ιδιαίτερα στη συγκέντρωση 0,4%, επιβραδύνει την πτώση του pH και μειώνει την ενεργότητα του νερού (A_w), περιορίζοντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Αυτό οδηγεί σε καλύτερη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας του προϊόντος για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Συνοψίζοντας τους παράγοντες που εξετάστηκαν, φαίνεται ότι, η χρήση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού, ως φυσικός αντιμικροβιακός παράγοντας, δύναται να αποτελέσει μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο για τη βελτίωση της μικροβιακής ασφάλειας και της ποιότητας τροφίμων όπως το παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο, καθώς και μια εναλλακτική λύση έναντι των συνθετικών συντηρητικών.

Ακολούθως, επεξηγούνται κατά σειρά τα επί μέρους συμπεράσματα που προέκυψαν.

Δ.1.1 Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά λουκάνικου χοιρινού κρέατος

Τα ευρήματα της μελέτης ως προς την επίδραση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων λουκάνικου χοιρινού κρέατος, κατά τη διάρκεια της συντήρησής του στην ψύξη για 12 ημέρες, συνοψίζονται στην εικόνα 06.



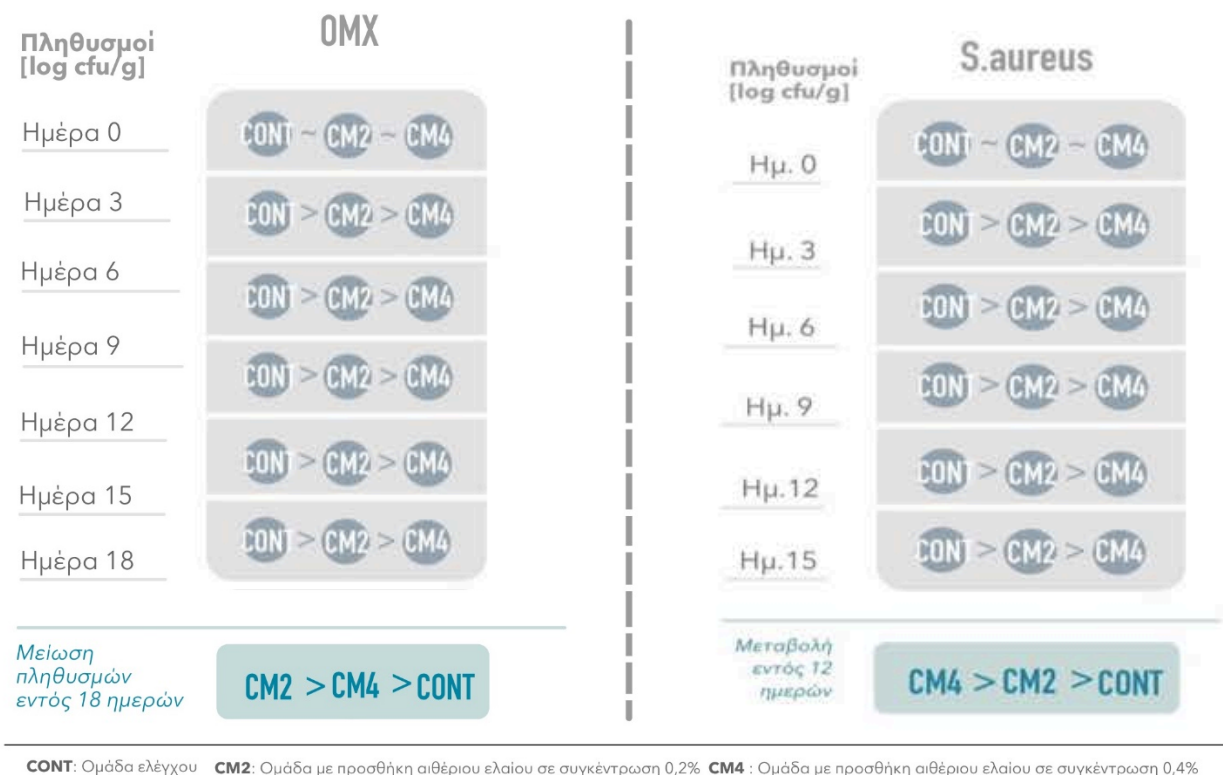
Εικόνα 06. Απεικονιστική σύνοψη ευρημάτων για την επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά λουκάνικου χοιρινού κρέατος

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η προσθήκη του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0.2% και 0.4% σε παραδοσιακό λουκάνικο χοιρινού κρέατος προσδίδει αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση και συνολική αποδοχή) για διάστημα 6 ημερών κατά τη συντήρησης υπό ψύξη. Στο διάστημα αυτό (ημέρα 6), το χοιρινό λουκάνικο με προσθήκη του αιθέριου ελαίου, σε συγκέντρωση τόσο 0.2% όσο και 0.4%, παρουσίασε βελτιωμένη οσμή, γεύση και συνολική αποδοχή, σε σχέση με τους μάρτυρες. Η προσθήκη του αιθέριου ελαίου στη χαμηλότερη συγκέντρωση (0,2%) παρουσίασε τον μέγιστο βαθμό αποδοχής ως προς την οσμή και τη γεύση από την 6^η ημέρα μέχρι και το τέλος της συντήρησης (ημέρα 9). Βέβαια, η προσθήκη στην υψηλότερη συγκέντρωση (0,4%) αντιστοιχίστηκε στη χαμηλότερη σχετική μείωση του βαθμού αποδοχής για όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο διάστημα των 9 ημερών, ακολουθούμενη από τη συγκέντρωση 0.2% κι έπειτα τους μάρτυρες. Συναρτήσει όλων, συμπεραίνεται ότι προσθήκη αιθέριου ελαίου (σε συγκέντρωση 0.2% και 0.4%) σε χοιρινό

λουκάνικο αποδίδει αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, ενώ, ταυτόχρονα βελτιώνει την οσμή, τη γεύση και τη συνολική αποδοχή του προϊόντος και επιφέρει μικρότερη σχετική μείωση του βαθμού αποδοχής με το πέρας των ημερών, έναντι των μαρτύρων, κατά τη συντήρηση υπό ψύξη (4°C) και εντός συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος (6 ημέρες).

Δ.1.2 Αντιμικροβιακή δράση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά τροφιμογενών παθογόνων

Τα ευρήματα της μελέτης ως προς την αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*), έναντι των πληθυσμών της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (O.M.X.) και του παθογόνου μικροοργανισμού *S. aureus*, σε υπόστρωμα λουκάνικου χοιρινού κρέατος, συνοψίζονται στην εικόνα 07.

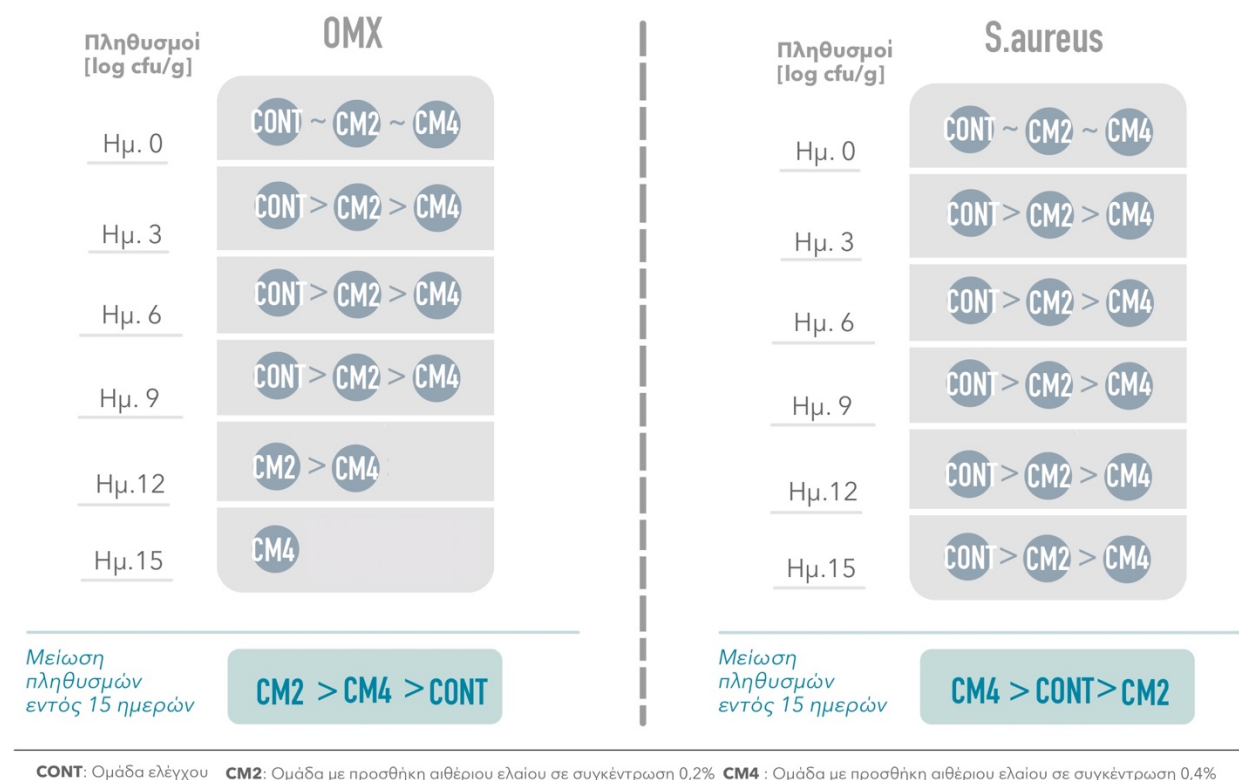


Εικόνα 07. Απεικονιστική σύνοψη ευρημάτων για την επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) έναντι των πληθυσμών της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας (O.M.X.) και του παθογόνου μικροοργανισμού *S. aureus*, σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης τονίζουν την αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού ως προς τη μείωση των πληθυσμών τόσο της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) όσο του *S. aureus* σε υπόστρωμα χοιρινού λουκάνικου. Αναφορικά με την OMX, διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη αιθέριου ελαίου σε συγκεντρώσεις 0.2% και 0.4% περιορίζει την ανάπτυξη της μικροβιακής χλωρίδας, με την υψηλότερη συγκέντρωση να παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Παρά την αναμενόμενη αύξηση της OMX με την πάροδο του χρόνου, οι ομάδες με αιθέριο έλαιο διατήρησαν χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, γεγονός που υποδεικνύει την ικανότητά του να παρατείνει τη μικροβιακή σταθερότητα του προϊόντος. Όσον αφορά τον *S. aureus*, το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματικό, με τη συγκέντρωση 0.4% να επιτυγχάνει τη μεγαλύτερη μείωση. Οι ομάδες με αιθέριο έλαιο παρουσίασαν σταθερά χαμηλότερα επίπεδα μικροβιακής ανάπτυξης συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, τόσο στις αρχικές όσο και στις τελικές φάσεις του πειράματος.

Δ.1.3 Επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά λουκάνικου χοιρινού κρέατος

Τα ευρήματα της μελέτης ως προς την επίδραση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων λουκάνικου χοιρινού κρέατος συνοψίζονται στην εικόνα 08, η οποία παρατίθενται ακολούθως.



Εικόνα 08. Απεικονιστική σύνοψη ευρημάτων για την επίδραση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού (*Chamomilla recutita*) στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά λουκάνικου χοιρινού κρέατος

Καθ' αντιστοιχία των παραπάνω ευρημάτων, η προσθήκη του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε συγκεντρώσεις 0.2% και 0.4% σε παραδοσιακό λουκάνικο χοιρινού κρέατος, συμβάλλει στη διατήρηση σταθερότερων τιμών στα δύο εξεταστέα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του προϊόντος (pH, ενεργότητα ύδατος), σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, κατά το χρονικό διάστημα 15 ημερών. Αναφορικά, εκ των τριών εξεταστέων υποσυνόλων, οι μάρτυρες παρουσίασαν τη μέγιστη μεταβολή τιμών και για τα δύο χαρακτηριστικά. Στην προέκταση αυτού, διαφαίνεται ότι η προσθήκη αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στο χωριάτικο λουκάνικο αποδεικνύεται αποτελεσματική στη βελτίωση της συντήρησης του υπό συνθήκες ψύξης. Περαιτέρω, εξετάζοντας συγκριτικά τις επιμέρους προστιθέμενες συγκεντρώσεις του αιθέριου ελαίου (0.2% έναντι 0.4%), διαπιστώθηκε ότι η υψηλότερη συγκέντρωση (0,4%) είναι αυτή που επιβραδύνει περισσότερο την πτώση του pH και μειώνει την ενεργότητα του νερού (A_w). Τα εν λόγω χαρακτηριστικά πιθανώς συνδέονται με την ενδεχόμενη ιδιότητα των υψηλών συγκεντρώσεων του αιθέριου ελαίου να περιορίζουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Καθώς, και να διατηρούν κατά το βέλτιστο την ποιότητας και την ασφάλεια του προϊόντος για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Α.2 Συζήτηση

Α.2.1 Σύγκριση με άλλες μελέτες

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε την αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού ως φυσικού αντιμικροβιακού παράγοντα κατά την προσθήκη του σε παραδοσιακό χωριάτικο λουκάνικο. Τα ευρήματα είναι σύμφωνα με προηγούμενες βιβλιογραφικές αναφορές, οι οποίες τονίζουν την αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων, καθώς και την προοπτική τους ως φυσικών αντιμικροβιακών μέσων. Αναφορικά, η χρήση αιθέριων ελαίων για την αναστολή μικροβιακής ανάπτυξης έχει τεκμηριωθεί από πολλές μελέτες. Ο Burt αναφέρει ότι τα αιθέρια έλαια διαθέτουν ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης, στοχεύοντας τόσο Gram-θετικά όσο και Gram-αρνητικά βακτήρια (65). Στην παρούσα μελέτη, η αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού κατά της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) και του *S. aureus* επιβεβαιώνει αυτή την παρατήρηση. Η μείωση της OMX στην ομάδα με αιθέριο έλαιο χαμομηλιού συγκέντρωσης 0,4% είναι συγκρίσιμη με τα ευρήματα των Gultierrez et al. (66), οι οποίοι διαπίστωσαν παρόμοια δράση με αιθέρια έλαια ρίγανης και θυμαριού σε προϊόντα κρέατος. Επίσης, οι Tajkarimi et al. (67) επισημαίνουν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης αιθέριου ελαίου ενισχύει την αντιμικροβιακή δράση, όπως ακριβώς παρατηρήθηκε και στην παρούσα έρευνα. Οι Kalembe και Kunicka (68) υποστηρίζουν ότι τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν ισχυρή δράση κατά Gram θετικών βακτηρίων, όπως ο *S. aureus*, λόγω της δομής της κυτταρικής τους μεμβράνης. Αντίστοιχα, οι Sienkiewicz et al. (69) απέδωσαν την αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού στα βασικά συστατικά του, όπως το α-βισαβολόλη και το χαμαζουλένιο, τα οποία παρεμποδίζουν τη μικροβιακή ανάπτυξη.

Η χημική ανάλυση έδειξε ότι η πτώση του pH στα δείγματα με αιθέριο έλαιο ήταν πιο ήπια σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Αυτή η παρατήρηση ευθυγραμμίζεται με τα ευρήματα των Pandley et al. (70), οι οποίοι κατέδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια μπορούν να περιορίσουν τις ζυμώσεις που οδηγούν στην παραγωγή οξέων, συμβάλλοντας έτσι στη σταθερότητα του pH. Επιπλέον, η μείωση της ενεργότητας νερού (A_w) που καταγράφηκε στις πειραματικές ομάδες είναι σύμφωνη με τις αναφορές των de Oliveira et al., (71) οι οποίοι επισημαίνουν ότι τα αιθέρια έλαια μπορούν να μειώσουν τη διαθεσιμότητα του νερού για μικροοργανισμούς. Η μεγαλύτερη μείωση της A_w στην ομάδα με 0,4% αιθέριο έλαιο πιθανόν οφείλεται στη δέσμευση του ελεύθερου νερού ή στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του ελαίου.

Παρά τη θετική συμβολή των αιθέριων ελαίων, ορισμένοι περιορισμοί αξίζουν προσοχής. Η δράση των αιθέριων ελαίων μπορεί να επηρεαστεί από τη σύσταση του τροφίμου και τις συνθήκες αποθήκευσης, όπως επισημαίνουν οι Hyldegaard et al. (72). Επιπλέον, η πιθανή επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση, όπως αναφέρει ο Burt (65). Συνολικά, η χρήση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού μπορεί να περιορίσει την ανάπτυξη μικροοργανισμών, διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα του προϊόντος. Αναγκαιεί η περαιτέρω διερεύνηση της επίδρασης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε άλλα τρόφιμα και σε μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, καθώς και η περαιτέρω αξιολόγηση της επίδρασής του στη γεύση και το άρωμα του προϊόντος. Η μελέτη αυτή συμβάλλει στην ενίσχυση της δυναμικής των φυσικών συντηρητικών ως βιώσιμη λύση για τη βιομηχανία τροφίμων, ανταποκρινόμενη στη ζήτηση για ασφαλή και ποιοτικά προϊόντα.

Δ.2.2 Αποτίμηση συμπερασμάτων & μελέτης

Χρησιμότητα συμπερασμάτων

Η παρούσα μελέτη δύναται να συμβάλει ενεργά στον τομέα της συντήρησης και βελτίωσης τροφίμων, με έμφαση στη χρήση φυσικών συντηρητικών. Συγκεκριμένα, η εφαρμογή αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε παραδοσιακά προϊόντα όπως το χωριάτικο λουκάνικο, προσφέρει μια νέα προοπτική για τη μείωση της μικροβιακής ανάπτυξης, τη διατήρηση της οργανοληπτικής ποιότητας συμβάλλοντας ταυτόχρονα στην παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο, στις συγκεντρώσεις 0,2% και 0,4%, έχει ισχυρή αντιμικροβιακή δράση, συμβάλλοντας στη μείωση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX) και του *S. aureus*, δύο εκ των κυριότερων μικροβιολογικών κριτηρίων που επηρεάζουν την ασφάλεια και τη διάρκεια ζωής του τροφίμου. Επιπλέον, η μελέτη ανέδειξε τη δυνατότητα χρήσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού για τη σταθεροποίηση σημαντικών παραμέτρων, όπως το pH και η ενεργότητα νερού (A_w), που είναι κρίσιμες για την ποιότητα και τη συντήρηση του προϊόντος. Τα ευρήματα αυτά είναι εξαιρετικά χρήσιμα για τη βιομηχανία τροφίμων, καθώς επιτρέπουν την παραγωγή προϊόντων που ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των καταναλωτών για πιο φυσικά και υγιεινά τρόφιμα, χωρίς τη χρήση συνθετικών συντηρητικών. Εξίσου σημαντική είναι η διατήρηση της οργανοληπτικής αποδοχής του λουκάνικου, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται αιθέριο έλαιο στη μεγαλύτερη συγκέντρωση 0,4%. Η χρήση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε παραδοσιακά προϊόντα όπως το χωριάτικο λουκάνικο ενσωματώνεται πλήρως στις σύγχρονες απαιτήσεις για βιώσιμη και υγιεινή παραγωγή τροφίμων. Η συμβολή της παρούσας μελέτης έγκειται στη δημιουργία μιας γέφυρας μεταξύ της παραδοσιακής παραγωγής και της εφαρμογής καινοτόμων, φυσικών λύσεων για τη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας τροφίμων.

Πλεονεκτήματα της μελέτης

Η επισκόπηση της παρούσας μελέτης υπό το πρίσμα ανάλογων μελετών της συναφούς βιβλιογραφίας, εμφανίζει ορισμένα θετικά στοιχεία. Πρώτον, το πρωτοποριακό της στοιχείο είναι η χρήση αιθέριου ελαίου χαμομηλιού, το οποίο έχει ήδη γνωστές φαρμακευτικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, σε έναν διαφορετικό τομέα εφαρμογής: τη συντήρηση τροφίμων. Αυτό ανοίγει νέους δρόμους για την αξιοποίηση φυσικών προϊόντων στη βιομηχανία τροφίμων. Η πολυδιάστατη προσέγγιση της μελέτης αποτελεί επίσης σημαντικό πλεονέκτημα. Περιλαμβάνει ανάλυση μικροβιολογικών, χημικών και οργανοληπτικών παραμέτρων, παρέχοντας μια ολοκληρωμένη εικόνα της αποτελεσματικότητας του αιθέριου ελαίου καθιστώντας τα ευρήματα ταυτοχρόνως αξιόπιστα και πρακτικά εφαρμόσιμα. Η μελέτη καλύπτει τόσο την ασφάλεια όσο και την ποιότητα του προϊόντος, κάτι που είναι κρίσιμο για τη βιομηχανία τροφίμων. Ένα άλλο σημαντικό πλεονέκτημα είναι η επιλογή του χωριάτικου λουκάνικου ως μοντέλου μελέτης. Πρόκειται για ένα παραδοσιακό προϊόν υψηλής προστιθέμενης αξίας, τόσο στην εγχώρια όσο και στη διεθνή αγορά. Η δυνατότητα βελτίωσης της ποιότητας και της διάρκειας ζωής του προϊόντος μέσω φυσικών συντηρητικών προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα στους παραγωγούς, οι οποίοι μπορούν να ενσωματωθούν και να ανταγωνιστούν καλύτερα σε αγορές που απαιτούν πιο υγιεινά και ασφαλή τρόφιμα. Παράλληλα, η χρήση συγκεντρώσεων αιθέριου ελαίου 0,2% και 0,4% διασφαλίζει τη βέλτιστη ισορροπία μεταξύ αποτελεσματικότητας και οικονομικής βιωσιμότητας. Αυτές οι συγκεντρώσεις είναι αρκετά χαμηλές ώστε να μην επηρεάζουν δυσμενώς το κόστος παραγωγής, ενώ ταυτόχρονα παρέχουν σημαντικά οφέλη στη διατήρηση της ποιότητας και της ασφάλειας του προϊόντος. Τέλος, η μελέτη ευθυγραμμίζεται με τις αυξανόμενες απαιτήσεις των καταναλωτών για βιώσιμα και υγιεινά τρόφιμα, συμβάλλοντας στη δημιουργία προϊόντων που είναι φιλικά προς το περιβάλλον και τον άνθρωπο. Αυτό ενισχύει τη θέση της βιομηχανίας τροφίμων σε μια αγορά που εξελίσσεται προς τη βιωσιμότητα και την καινοτομία.

Δ.2.3 Επίλογος & προτάσεις περαιτέρω έρευνας

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε τη δυνατότητα του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό συντηρητικό σε τρόφιμα, συμβάλλοντας στη βελτίωση της μικροβιακής ασφάλειας, της ποιότητας και της διάρκειας ζωής του χωριάτικου λουκάνικου. Τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, καθώς επιβεβαιώνουν ότι το αιθέριο έλαιο μπορεί να προσφέρει σημαντικά οφέλη χωρίς να επηρεάζει αρνητικά την οργανοληπτική αποδοχή του προϊόντος. Ωστόσο, για την περαιτέρω αξιοποίηση των ευρημάτων αυτών, απαιτείται εκτενέστερη έρευνα. Είναι απαραίτητο να μελετηθεί η μακροχρόνια επίδραση του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού σε διαφορετικά περιβάλλοντα αποθήκευσης, όπως συνθήκες ψύξης ή θερμοκρασίας δωματίου. Παράλληλα, θα ήταν χρήσιμη η εξέταση της δράσης του αιθέριου ελαίου σε άλλα είδη τροφίμων, όπως αλλαντικά ή γαλακτοκομικά προϊόντα, για να αξιολογηθεί η ευελιξία της εφαρμογής του. Επιπλέον, η μελέτη της συνδυαστικής χρήσης του αιθέριου ελαίου χαμομηλιού με άλλα φυσικά συντηρητικά ή αντιοξειδωτικά θα μπορούσε να οδηγήσει στη δημιουργία ολοκληρωμένων στρατηγικών συντήρησης τροφίμων. Για παράδειγμα, ο συνδυασμός του αιθέριου ελαίου με φυσικά εκχυλίσματα φυτών ή βιταμίνες θα μπορούσε να βελτιώσει περαιτέρω την αποτελεσματικότητα και τη σταθερότητα των προϊόντων. Τέλος, η εμπορική εφαρμογή του αιθέριου ελαίου απαιτεί τη διερεύνηση του κόστους παραγωγής και της βιωσιμότητάς του. Η ανάλυση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος και η αξιολόγηση της αποδοχής των καταναλωτών για προϊόντα που περιέχουν φυσικά συντηρητικά θα ενίσχυαν τη στρατηγική ανάπτυξης αυτών των προϊόντων. Με τη συνεχιζόμενη έρευνα και καινοτομία, το αιθέριο έλαιο χαμομηλιού μπορεί να αποτελέσει μία από τις πιο υποσχόμενες λύσεις για τη βελτίωση της ποιότητας και ασφάλειας των τροφίμων, ενώ ταυτόχρονα υποστηρίζει τις αρχές της βιωσιμότητας και της υγείας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Caroch M, Barreiro MF, Morales P, Ferreira ICFR. Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives: Adding molecules to food, pros and cons.... Compr Rev Food Sci Food Saf. 2014;13(4):377–99.
2. Sarig Y, De Baerdemaker J, Marchal P, Auernhammer H, Bodria L, De Alencar Nääs I, et al. Traceability of food products. International Commission of Agricultural Engineering. 2003;5:1–17.
3. Rasooli I. Food preservation—A biopreservative approach. Food. 2007 Jan 1;1.
4. Fairbairn JW. A textbook of pharmacognosy, by N. m. ferguson. J Pharm Pharmacol. 2011;9(1):143–4.
5. Rauschert S. Nomenklatorische Probleme in der Gattung *Matricaria* L. Folia geobotanica phytotaxonomica. 1990;9:249–60.
6. Zadeh JB, Kor NM, Kor ZM. Chamomile (*Matricaria recutita*) as a valuable medicinal plant. International journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2014;2(3):823–9.
7. Pirzad A, Alyari MR, Shaliba S, Moammadi A. Essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) at different irrigation regimes.
8. Tyihak E, Sarkany-Kiss J, Verzar-Petri G. Phytochemical investigation of apigenin glycosides of *Matricaria chamomilla*. Pharmazie. 1962;17:301–4.
9. Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava M. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. Pharmacogn Rev. 2011;5(9):82.
10. Schilcher H, Imming P, Goeters S. Active chemical constituents of *Matricaria chamomilla* L. syn. *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert. In: Franke R, Schilcher H, editors. Chamomile-industrial profiles. Boca Raton: CRC Press; 2005. p. 55–76.
11. Baser KH, Iscan B. The essential oil constituents and antimicrobial activity of *Anthemis aciphylla* BoiSS. var. *discoidea* BOISS. Chem Pharm Bull. 2006;54:222–5.
12. Singh O, Khanam Z, Misra N, Srivastava M. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. Pharmacogn Rev. 2011;5(9):82.
13. Stanojevic LP, Marjanovic-Balaban ZR, Kalaba VD, Stanojevic JS, Cvetkovic DJ. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L). J Essent Oil Bear Plants. 2016;19:2017–28.
14. Owlia P, Rosooli I, Saderi H, Aliahmadi M. Retardation of biofilm formation with reduced productivity of alginate as a result of *Pseudomonas aeruginosa* exposure to *Matricaria chamomilla* essential oil. J Pharmacogn Mag. 2007;10.
15. Kazemi M. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Matricaria recutita*. Int J Food Prop. 2015;18(8):1784–92.
16. Silva NCC, Barbosa L, Seito LN, Fernandes Junior A. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. Nat Prod Res. 2012;26(16):1510–4.

17. Sakkas H, Economou V, Gousia P, Bozidis P, Sakkas VA, Petsios S, et al. Antibacterial efficacy of commercially available essential oils tested against drug-resistant Gram-positive pathogens. *Appl Sci (Basel)*. 2018;8(11):2201.
18. Satyal P, Shrestha S, Setzer WN. Composition and bioactivities of an (E)- β -farnesene chemotype of chamomile (*Matricaria chamomilla*) essential oil from Nepal. *Nat Prod Commun*. 2015;10(8):1934578X1501000.
19. Shakya VK, Luqman S, Tikku AP, Chandra A, Singh DK. A relative assessment of essential oil of *Chrysopogon zizanioides* and *Matricaria chamomilla* along with calcium hydroxide and chlorhexidine gel against *Enterococcus faecalis* in ex vivo root canal models. *J Conserv Dent*. 2019;22.
20. Höferl M, Wanner J, Tabanca N, Ali A, Gochev V, Schmidt E, et al. Biological activity of *Matricaria chamomilla* essential oils of various chemotypes. *Planta Medica Int Open*. 2020;07(03):e114–21.
21. Roby MHH, Sarhan MA, Selim KAH, Khalel KI. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Ind Crops Prod*. 2013;44:437–45.
22. Ismail MCH, Tropical Biological Research Unit Baghdad University. C of S, Waleed S, Ibrahim K, Fakhri NU, Tropical Biological Research Unit Baghdad University. C of S, et al. Synergistic interaction between chamomile flower (*Matricaria chamomilla* L.) extracts and tetracycline against wound infection bacteria. *J Al-Nahrain Univ-Sci*. 2013;16(3):191–5.
23. Mariod AA, Kakil ES, Elneel YF. Antibacterial activity of *Zingiber officinale*, *Matricaria chamomilla* and *Nigella sativa* extractions on the growth of pathogenic bacteria isolated from different clinical specimens. *Acta Sci Nutr Health*. 2019;3:26–32.
24. Boudieb K, Faculty of Sciences 35000 Algeria UMBOB, Ait Slimane - Ait Kaki S, Oulebsir-Mohandkaci H, Bennacer A, University of Boumerdes A, et al. Phytochemical Characterization and Antimicrobial Potentialities of Two Medicinal plants, *Chamaemelum nobile* (L.) All and *Matricaria chamomilla* (L.). *Int J Innov Approaches Sci Res*. 2018;2(4):126–39.
25. Sadat SS, Department of Microbiology Islamic Azad University Gorgan Iran. GB, Ahani Azari A, Mazandarani M, Department of Microbiology Islamic Azad University Gorgan Iran. GB, Department of Biology Islamic Azad University Gorgan Iran GB. Evaluation of Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of *Matricaria chamomilla*, *Malva sylvestris* and *Capsella bursa-pastoris* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol Infect Dis*. 2020;8(4):127–31.
26. Ahani Azari A, Danesh A, Department of Microbiology Islamic Azad University Gorgan Iran GB, Infectious Diseases Research Center Gorgan Iran GU of MS. Antibacterial Effect of *Matricaria chamomilla* Alcoholic Extract against Drug-Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Epidemiol Microbiol*. 2021;7(1):29–35.
27. Stanojevic LP, Marjanovic-Balaban ZR, Kalaba VD, Stanojevic JS, Cvetkovic DJ. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.). *J Essent Oil-Bear Plants*. 2016;19(8):2017–28.
28. Mahdavi B, Ghorat F, Nasrollahzadeh MS, Hosseini-Tabar M, Rezaei-Seresht H. Chemical composition, antioxidant, antibacterial, cytotoxicity, and hemolyses activity of essential

- oils from flower of *Matricaria chamomilla* var. *Chamomilla*. *Antiinfect Agents*. 2020;18(3):224–32.
29. Melo-Guerrero MM, Ortiz-Jurado DE, Hurtado-Benavides AM. Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. *Rev Acad Colomb Cienc Exactas Fis Nat*. 2020;44(172):845–56.
 30. Formisano C, Delfino S, Oliviero F, Tenore GC, Rigano D, Senatore F. Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). *Ind Crops Prod*. 2015;63:256–63.
 31. El Mihaoui A, Candela ME, Cano A, Hernández-Ruiz J, Lamarti A, Arnao M. Comparative study of wild chamomile plants from the north-west of Morocco: Bioactive components and total antioxidant activity. *J Med Plants Res*. 2021;5:431–41.
 32. Munir N, Iqbal AS, Altaf I, Bashir R, Sharif N, Saleem F, et al. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Potential of Two Endangered Plant Species *Atropa belladonna* and *Matricaria chamomilla*. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2014;11(5):111.
 33. Roby MHH, Sarhan MA, Selim KAH, Khalel KI. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Ind Crops Prod*. 2013;44:437–45.
 34. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Mašković P, Savić S, Nikolić L. Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: perspective of using superheated water for isolation of biologically active compounds. *Ind Crops Prod*. 2015;65:582–91.
 35. Sotiropoulou NS, Megremi SF, Tarantilis P. Evaluation of antioxidant activity, toxicity, and phenolic profile of aqueous extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) prepared at different temperatures. *Appl Sci (Basel)*. 2020;10(7):2270.
 36. Pereira SV, Reis RASP, Garbuio DC, Freitas LAP de. Dynamic maceration of *Matricaria chamomilla* inflorescences: optimal conditions for flavonoids and antioxidant activity. *Rev Bras Farmacogn*. 2018;28(1):111–7.
 37. Ali EM. Phytochemical composition, antifungal, antiaflatoxicogenic, antioxidant, and anticancer activities of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Matricaria chamomilla* L. essential oils. *J Med Plants Res*. 2013;7:2197–207.
 38. Romeilah RM. Anticancer and antioxidant activities of *Matricaria chamomilla* L. and *Marjorana hortensis* essential oils. *Res J Med Med Sci*. 2009;4:332–9.
 39. Fraihat A, Alatrash L, Abbasi R, Abu-Irmaileh B, Hamed S, Mohammad M, et al. Inhibitory effects of methanol extracts of selected plants on the proliferation of two human melanoma cell lines. *Trop J Pharm Res*. 2018;17(6):1081.
 40. Cvetanović A, Švarc-Gajić J, Mašković P, Savić S, Nikolić L. Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: perspective of using superheated water for isolation of biologically active compounds. *Ind Crops Prod*. 2015;65:582–91.

41. Wu Y, Xu Y, Yao L. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *J Essent Oil Bear Plants*. 2012;15:37–41.
42. Nikseresht M, Kamali AM, Rahimi HR, Delaviz H, Toori MA, Kashani IR, et al. The hydroalcoholic extract of *Matricaria chamomilla* suppresses migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-468 and MCF-7 cell lines. *Pharmacognosy Res*. 2017;9(1):87–95.
43. Lowy FD. Medical progress: *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*. 1998;339(8):520–32.
44. Hinds DH, McCree WH. University of Texas medical branch at Galveston, et al., petitioners, V. United States. U.S. supreme court transcript of record with supporting pleadings. Gale Ecco, U.S. Supreme Court Records; 2011.
45. Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2003;2(1):63–76.
46. Tille P, Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology - elsevier on vital source*. 12th ed. London, England: Mosby; 2007.
47. Brown DFJ, Edwards DI. Antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2005;56(5):859–61.
48. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol*. 2000;61(1):1–10.
49. Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(4):815–36.
50. Murray RJ. Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Intern Med J*. 2005;35 Suppl 2(s2):S106–19.
51. Holmberg SD, Blake PA. Staphylococcal food poisoning in the United States. New facts and old misconceptions. *JAMA*. 1984;251(4):487–9.
52. Scallan E, Jones TF, Cronquist A, Thomas S, Frenzen P, Hoefler D, et al. Factors associated with seeking medical care and submitting a stool sample in estimating the burden of foodborne illness. *Foodborne Pathog Dis*. 2006;3(4):432–8.
53. Eisenberg M, Gaarslev K, Brown W, Horwitz M, Hill D. Staphylococcal food poisoning aboard a commercial aircraft. *Lancet*. 1975;306(7935):595–9.
54. Ostyn A, De Buyser ML, Guillier F, Groult J, Felix B, Salah S, et al. First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. *Euro Surveill*. 2010;15(13).
55. Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(4):815–36.
56. McLauchlin J, Narayanan GL, Mithani V, O'Neill G. The detection of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction. *J Food Prot*. 2000;63(4):479–88.

57. Wendlandt S, Schwarz S, Silley P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a food-borne pathogen? *Annu Rev Food Sci Technol*. 2013;4(1):117–39.
58. Tamarapu S, McKillip JL, Drake M. Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *J Food Prot*. 2001;64(5):664–8.
59. EFSA. Foodborne outbreaks report [Internet]. European Food Safety Authority. 2021 [cited 2024 Aug 12]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>
60. EODY. 2024. [cited 2024 Aug 21]. EODY. Available from: https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2023/06/epidimiologika-dedomena_salmonellosi-ellada-2004-2022.pdf
61. EUR-Lex. Κανονισμός - 853/2004 - EN - EUR-Lex. Europa.eu.
62. Γεωργάκη Σ.Α. Βαρελτζή Κ.Π. Αμβροσιάδη Ι.Α. «Τεχνολογία τριών ζωική προέλευση». 2002.
63. Αμβροσιάδη Ι. «Επίσημο Έλεγχος Αλλαντικών». Θεσσαλονίκη: Σεμινάριο ΕΦΕΤ; 2011.
64. ISO 8586:2023. ISO. 2023.
65. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol*. 2004;94(3):223–53.
66. Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int J Food Microbiol*. 2008;124(1):91–7.
67. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 2010;21(9):1199–218.
68. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*. 2003;10(10):813–29.
69. Sienkiewicz M, Młodzińska P, Kilanowicz A, Dudzińska E, Kwiatkowski P. Interaction of selected commercial antiseptics with natural products against methicillin-resistant *staphylococcus aureus* strain. *Appl Sci (Basel)*. 2024;14(5):2060.
70. Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Front Microbiol*. 2016;7:2161.
71. de Oliveira MMM, Brugnera DF, Piccoli RH. Essential oils of thyme and Rosemary in the control of *Listeria monocytogenes* in raw beef. *Braz J Microbiol*. 2013;44(4):1181–8.
72. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol*. 2012;3:12.