



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ & ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**«ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΖΩΙΚΗΣ
ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ»**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίδραση των μεταβολικών προϊόντων οξυγαλακτικών βακτηρίων
(postbiotics) στην αύξηση αλλοιωγόνων και παθογόνων
μικροοργανισμών των τροφίμων σε μοντέλα υποστρώματα»**

ΤΣΑΒΔΑΡΙΔΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΒΟΛΟΣ, 2025



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES
DEPARTMENT OF ICHTHYOLOGY AND AQUATIC
ENVIRONMENT
DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION

INTERDEPARTMENTAL POSTGRADUATE PROGRAMME
“TECHNOLOGY, QUALITY AND SAFETY OF ANIMAL ORIGIN
FOODS”

POSTGRADUATE MASTER’S THESIS

**«Effect of metabolic products of lactic acid bacteria (postbiotics) on
the growth of food spoilage and pathogenic microorganisms in model
substrates»**

TSAVDARIDOU MARIA

VOLOS, 2025

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μοριακή Μικροβιολογία και Ποιότητα Αλιευτικών Προϊόντων – Τροφίμων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπουσα***.
- 2) Ιωάννης Σ. Μποζιάρης**, Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.
- 3) Μυρσίνη Κακαγιάννη**, Επίκουρος Καθηγήτρια, Τεχνολογίας, Ποιότητας και Ασφάλειας. Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

ΑΦΙΕΡΩΣΗ

«Στους ανθρώπους που στάθηκαν δίπλα μου με πίστη, δύναμη και αγάπη».

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου όλους όσους με στήριξαν καθόλη τη διάρκεια αυτού του μεταπτυχιακού προγράμματος. Ιδιαίτερα ευγνωμονώ την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια της. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής, κ. Μποζιάρη και κα Κακαγιάννη.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους Υποψήφιους Διδάκτορες Εβελίνα Καραμάνη, Σταυρούλα Λέτσιου και Θάνο Τσιαρτσάφη καθώς και τον μεταδιδακτορικό ερευνητή του οικείου τμήματος Δρ. Δημήτρη Αναγνωστόπουλο, για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά τους στο εργαστήριο.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια και τους φίλους μου για την υπομονή και την αμέριστη υποστήριξη τους καθ' όλο το χρονικό διάστημα των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μικροβιακή αλλοίωση και η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών αποτελούν κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν την ασφάλεια, την ποιότητα και τη διάρκεια ζωής των τροφίμων. Στο πλαίσιο της αναζήτησης φυσικών τεχνολογιών συντήρησης, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) και οι μεταβολίτες τους (postbiotics) έχουν αναδειχθεί ως σημαντικά εργαλεία βιοσυντήρησης. Σκοπός της παρούσας Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας ήταν η διερεύνηση της αντιμικροβιακής δράσης των μεταβολικών προϊόντων του *Ligilactobacillus murinus*, έναντι του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* και του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού *Pseudomonas* spp. σε μοντέλα υποστρώματα τροφίμων, υπό τέσσερις διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης, 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C. Η πειραματική διαδικασία περιλάμβανε μονοκαλλιέργειες και συγκαλλιέργειες των μικροοργανισμών με ή χωρίς τη παρουσία του postbiotic. Οι μικροβιακές μεταβολές παρακολουθήθηκαν μέσω μικροβιολογικών αναλύσεων και τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το πρωτογενές μοντέλο Baranyi για τον υπολογισμό των κινητικών παραμέτρων (lag time, μ_{max} , N_{max}).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στους 4°C, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών ήταν περιορισμένη, με το postbiotic να μειώνει περαιτέρω τον πληθυσμό του *L. monocytogenes* και να καθυστερεί την αύξηση του *Pseudomonas* spp. Στους 8°C, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των μικροοργανισμών αλλά η ενσωμάτωση του postbiotic μείωσε τον πληθυσμό κατά περίπου 3 log. Στους 12 °C, το *L. monocytogenes* έφτασε σε επίπεδα >8 log cfu/g, ενώ με τη παρουσία του postbiotic, η τελική συγκέντρωση παρέμεινε κάτω από 6 log cfu/g. Για το *Pseudomonas* spp., η αύξηση ήταν έντονη, αλλά το postbiotic επιβράδυνε τον ρυθμό ανάπτυξης. Τέλος στους 20 °C, και οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύχθηκαν ραγδαία, ωστόσο το postbiotic ανέστειλε

την αύξηση τους μειώνοντας τόσο τον τελικό πληθυσμό όσο και το μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης.

Λέξεις-κλειδιά: *Οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), Μεταβολίτες, Βιοσυντήρηση, Ασφάλεια τροφίμων, Lactobacillus murinus, Listeria monocytogenes, Pseudomonas spp.*

Abstract

Microbial spoilage and the presence of pathogenic microorganisms are key factors affecting food safety, quality and shelf life. In the search for natural preservation technologies, lactic acid bacteria (LAB) and their metabolites (postbiotics) have emerged as promising biopreservation tools. This Master's Thesis was to investigate the antimicrobial activity of metabolic products derived from *Ligilactobacillus murinus* against the pathogenic bacterium *Listeria monocytogenes* and the spoilage microorganism *Pseudomonas* spp. in model food substrates, under different storage temperatures 4°C, 8°C, 12°C and 20°C. The experimental design included mono-cultures and co-cultures of the target microorganisms with and without the addition of postbiotic. Microbial changes were monitored through microbiological analyses, and growth data were fitted to the Baranyi primary model to estimate kinetic parameters (lag time, $\mu_{\max}$, $N_{\max}$).

Results demonstrated that at 4°C, microbial growth was limited and the addition of postbiotics further reduced *L. monocytogenes* levels and delayed *Pseudomonas* growth. At 8°C, both of two microorganisms, increased markedly, but the inclusion of postbiotic reduced maximum population density, by approximately 3 log cfu/g. At 12°C, *L. monocytogenes* reached >8 log cfu/g, whereas with the postbiotic the final concentrations below 6 log cfu/g. *Pseudomonas* spp. Also grew significantly, but their growth rate was reduced in the presence of postbiotics. Finally, at 20 °C, both microorganisms proliferated rapidly, yet postbiotics suppressed their growth by lowering maximum population levels and reducing growth rates.

Keywords: Lactic Acid Bacteria (LAB), Metabolites (postbiotics), Microbial spoilage, Food safety, Biopreservation, *Ligilactobacillus murinus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas spp.*

Πίνακας περιεχομένων

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.1. Αλλοίωση και ασφάλεια τροφίμων.....	12
1.1.1. Μικροβιακή αλλοίωση	12
1.1.2. Ασφάλεια τροφίμων.....	14
1.1.3. Επιπτώσεις της μικροβιακής αλλοίωσης στην ποιότητα, διάρκεια ζωής και ασφάλεια των προϊόντων	15
1.2. Αλλοιωγόνους και Παθογόνους μικροοργανισμούς	16
1.2.1. Αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς: <i>Pseudomonas spp.</i>.....	17
1.2.2. Παθογόνους μικροοργανισμούς: <i>Listeria monocytogenes</i> Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
1.3. Οξυγαλακτικά βακτήρια	21
1.3.1. Ταξινόμηση οξυγαλακτικών βακτηρίων.....Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
1.3.2. Γένη οξυγαλακτικών βακτηρίων.....	26
1.3.3. Σημασία των οξυγαλακτικών βακτηρίων στη βιοσυντήρηση.....	27
1.4. Παραγωγή Μεταβολιτών - postbiotics	29
1.4.1. Ο ρόλος των μεταβολιτών - postbiotics	30
1.4.2. Postbiotics και αντιμικροβιακή δράση.....	31
1.4.3. <i>Ligilactobacillus murinus</i>.....	33
1.5. Σκοπός της μελέτης	33
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
2.1. Υλικά.....	35
2.2. Μέθοδοι.....	36
2.3. Σχεδιασμός πειράματος.....	37
2.4. Επώαση και Δειγματοληψία	38
2.5. Μικροβιολογικές αναλύσεις.....	39
.....Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.	
2.6. Προσδιορισμός κινητικών παραμέτρων	40
2.7. Στατιστική επεξεργασία.....	40
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	41
3.1. Κινητικές παράμετροι	41
3.2. Μικροβιακές Μεταβολές.....	46

3.2.1 Μικροβιακές Μεταβολές του <i>Listeria monocytogenes</i>	46
3.2.2. Μικροβιακές Μεταβολές του <i>Pseudomonas spp.</i>	49
3.2.3. Μικροβιακές Μεταβολές της συγκαλλιέργειας του <i>Listeria monocytogenes</i> και του <i>Pseudomonas spp.</i>	51
3.2.4. Μικροβιακές Μεταβολές της συγκαλλιέργειας του <i>Pseudomonas spp.</i> και του <i>Listeria monocytogenes</i>	53
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	56
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	56
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	62
Ξενόγλωσση βιβλιογραφία	62
Ελληνική βιβλιογραφία.....	67
Ηλεκτρονικές πηγές.....	67

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Αλλοίωση και ασφάλεια τροφίμων

Ως αλλοίωση των τροφίμων θεωρείται η υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών καθιστώντας το προϊόν μη ασφαλή καθώς και μη αποδεκτό για κατανάλωση. Η υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων μπορεί να προκληθεί κυρίως λόγω της δράσης των μικροοργανισμών (μικροβιακή αλλοίωση) ενδογενών ενζύμων (αυτόλυση) και χημικών αντιδράσεων οξείδωσης (τάγγιση) (Παρλαπάνη, 2013).

1.1.1. Μικροβιακή αλλοίωση

Ως μικροβιακή αλλοίωση ορίζεται η μεταβολική διαδικασία που καθιστά τα τρόφιμα ανεπιθύμητα ή ακατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση λόγω αλλαγών στα αισθητήρια χαρακτηριστικά τους (Sahu & Bala, 2017). Προκαλείται από ένα τμήμα της αρχικής μικροχλωρίδας που ονομάζεται «ειδικοί μικροοργανισμοί αλλοίωσης» (Parlapani et al., 2014), όπως για παράδειγμα μύκητες, ζυμομύκητες και βακτήρια, οι οποίοι μεταβολίζουν τα συστατικά του τροφίμου και οδηγούν σε αλλαγές στη γεύση, την υφή, την οσμή, την εμφάνιση ακόμα και στη θρεπτική αξία (Gram et al., 2002). Οι αλλοιώσεις αυτές δεν είναι μόνο αισθητικής φύσεως καθώς σε πολλές περιπτώσεις σχετίζονται με την παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών, θέτοντας σε κίνδυνο τη δημόσια υγεία (Bintsis, 2017). Τέτοιου είδους μικροοργανισμοί μπορεί να είναι (Sevindik & Uysal, 2021):

Βακτήρια: Οι Βακτηριακές ομάδες που αναπτύσσονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μπορούν να προκαλέσουν διάφορες αλλοιώσεις όπως σήψη

κονσερβοποιημένων προϊόντων. Βακτήρια που μπορούν να αναπτυχθούν σε χαμηλές θερμοκρασίες μπορούν να παράγουν αέρια και άσχημες οσμές στα τρόφιμα.

Μύκητες: Εξαπλώνονται σε κάθε στρώμα σε διαφορετική κλίμακα και οικοτόπους του κόσμου. Προκαλούν πολλές ζημιές κατά τα στάδια συγκομιδής, αποθήκευσης, συσκευασίας και επεξεργασίας των τροφίμων.

Πρωτόζωα: Αποτελούν ποικίλες ομάδες οργανισμών με διαφορετικές οικολογικές θέσεις. Τα περισσότερα από αυτά είναι παρασιτικά . Προκαλούν ασθένειες στους ανθρώπους μέσω της κατανάλωσης τροφίμων και ποτών, τη μόλυνση του περιβάλλοντος και τη κακή υγιεινή.

Ιοί: Είναι οργανισμοί με σύνθετες δομές και προκαλούν πολλές διαφορετικές ασθένειες που κυμαίνονται από μερική διάρροια έως και σοβαρή ηπατική νόσο.

Ως σημείο της αλλοίωσης ορίζεται το ανώτατο αποδεκτό επίπεδο μικροοργανισμών καθώς και το σημείο όπου εμφανίζονται τα μη αποδεκτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι περισσότερες έρευνες υποστηρίζουν πως η αλλοίωση ενός τροφίμου ξεκινάει όταν το ολικό μικροβιακό φορτίο αγγίζει την τιμή των $7 \log \text{ cfu/g}$. Ωστόσο η αλλοίωση των τροφίμων είναι εξαιρετικής σημασίας λόγω της σπατάλης των τροφίμων, των οικονομικών απωλειών και της έλλειψης εμπιστοσύνης που προκαλείται στους καταναλωτές. Έρευνες έχουν δείξει πως το $\frac{1}{4}$ της παγκόσμιας παραγωγής τροφίμων χάνεται εξαιτίας της μικροβιακής δραστηριότητας (Nychas et al., 2007, Papadopoulou et al., 2011). Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητο να προσδιορίζεται η διάρκεια ζωής του τροφίμου που ορίζεται ως ο χρόνος από την αποθήκευση του έως την αλλοίωση του (Nychas et al., 2008). Ο τύπος της αλλοίωσης ποικίλει ανάλογα με τον μικροοργανισμό που επικρατεί στο τρόφιμο, τη σύνθεση του προϊόντος και το περιβάλλον συντήρησης του (Papadopoulou et al., 2011).

1.1.2. Ασφάλεια τροφίμων

Όσον αφορά την ασφάλεια των τροφίμων, υπάρχουν ολοένα και περισσότερες ανησυχίες. Τα μη ασφαλή τρόφιμα αποτελούν απειλές για τη παγκόσμια υγεία. Τα παιδιά, οι ηλικιωμένοι και οι ασθενείς είναι ιδιαίτερα ευάλωτες ομάδες. Εάν τα αποθέματα τροφίμων δεν είναι ασφαλή, ο πληθυσμός μετατοπίζεται σε λιγότερες υγιεινές δίαιτες και καταναλώνει περισσότερα μη ασφαλή τρόφιμα τα οποία θέτουν σε κίνδυνο την υγεία τους. Η ασφαλής προμήθεια τροφίμων εξαρτάται τόσο από την ορθή επιστήμη όσο και από τη δίκαιη υποβολή του νόμου (χαρτί). Η διασφάλιση της ασφάλειας τροφίμων εφαρμόζεται σε όλα τα στάδια της τροφικής αλυσίδας, από τη πρωτογενή παραγωγή μέχρι την τελική κατανάλωση (Havelaar et al., 2015). Ένα αλλοιωμένο τρόφιμο δεν σημαίνει απαραίτητα ότι είναι μη ασφαλές το οποίο θα οδηγήσει σε κάποια τροφική δηλητηρίαση. Ενδέχεται ωστόσο να συνυπάρχει κίνδυνος. Σύμφωνα με το FAO, ένα ασφαλές τρόφιμο είναι εκείνο που δεν περιέχει βιολογικούς, χημικούς ή φυσικούς κινδύνους σε επίπεδα που μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στην υγεία του καταναλωτή (FAO, 2009). Η ασφάλεια των τροφίμων εξαρτάται από την απουσία παθογόνων μικροοργανισμών, τοξινών και φυσικών κινδύνων, τον έλεγχο χημικών υπολειμμάτων και τη κατάλληλη αποθήκευση και θερμική επεξεργασία (Codex Alimentarius Commission, 2009).

Τέλος για την ασφάλεια των προϊόντων, απαιτητέ συχνός ποιοτικός έλεγχος των τροφίμων, καθώς η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί να συνδέεται με την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιωγόνων μικροοργανισμών οι οποίοι δεν συνδέονται πάντα με την εμφάνιση αλλοίωσης στο τρόφιμο (New food magazine, 2013). Προϊόντα τα οποία μπορεί να φαίνονται «φυσιολογικά», μπορεί να είναι δυνητικά επικίνδυνα, έχοντας ως αποτέλεσμα τη πρόκληση σοβαρών τροφιογενών λοιμώξεων ιδιαίτερα στις ευάλωτες ομάδες.

1.1.3. Επιπτώσεις της μικροβιακής αλλοίωσης στην ποιότητα, διάρκεια ζωής και ασφάλεια των προϊόντων

Η μικροβιακή αλλοίωση αποτελεί έναν από τους πιο κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα, τη διάρκεια ζωής αλλά και την ασφάλεια των προϊόντων. Υπό ευνοϊκές συνθήκες, μικροοργανισμοί όπως τα βακτήρια, οι ζυμομύκητες και οι μύκητες προκαλούν αλλοιώσεις στο άρωμα, τη γεύση, την υφή και το χρώμα του προϊόντος, μειώνοντας σε μεγάλο βαθμό την προτίμηση και την αποδοχή του από τον καταναλωτή. Πιο συγκεκριμένα, οι βακτηριακές ενζυμικές δράσεις έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δυσάρεστων οσμών, αλλοιωμένης υφής και αποχρωματισμό, ενώ οι ζύμες και οι μύκητες μπορούν να προκαλέσουν ζύμωση, έκλυση αερίων ακόμη και ορατή μούχλα. Με αυτόν τον τρόπο, όταν η αλλοίωση του προϊόντος γίνεται αισθητή οργανοληπτικά, η «ωφέλιμη ζωή» του λήγει (Karanth, 2023).

Με μία πιο ειδική ματιά, τα μικροβιακά φορτία τα οποία μπορεί να ξεπεράσουν ορισμένα κρίσιμα σημεία, όπως 10^7 cfu/g για βακτήρια και 10^5 cfu/g για ζύμες και μούχλα, θεωρούνται ενδεικτικά το τέλος της μικροβιολογικής διάρκειας ζωής ενός τροφίμου. Το γεγονός αυτό έχει μεγάλο αντίκτυπο στην οικονομία αλλά και στη δημόσια υγεία, λόγω ότι το προϊόν αποσύρεται από την αγορά, εξαιτίας της αισθητικής αλλοίωσης του και την αλλαγή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του, αλλά και του κινδύνου που μπορεί να επιφέρει στην υγεία του ανθρώπου έπειτα από την κατανάλωση του (Food Quality & Safety, 2021).

1.2. Αλλοιωγόνοι και Παθογόνοι μικροοργανισμοί

Στο χώρο των τροφίμων δύο είναι οι βασικές κατηγορίες μικροοργανισμών που χρειάζονται ιδιαίτερη προσοχή. Η πρώτη αφορά τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς (spoilage microorganisms), οι οποίοι αν και δεν σχετίζονται άμεσα με την πρόκληση ασθενειών στον άνθρωπο, προκαλούν αλλοιώσεις στα τρόφιμα μέσω μεταβολών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους. Τυπικά παραδείγματα τέτοιων οργανισμών περιλαμβάνουν τα είδη *Pseudomonas* spp., *Penicillium* spp., και *Aspergillus* spp., που αναπτύσσονται σε τρόφιμα όπως κρέατα, γαλακτοκομικά, φρούτα και ψωμιά (Jay et al., 2005). Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει τους παθογόνους μικροοργανισμούς (pathogens microorganisms), οι οποίοι, σε αντίθεση με τους αλλοιωγόνους, σχετίζονται με τροφιμογενείς ασθένειες και τροφικές δηλητηριάσεις. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτών των οργανισμών αποτελούν τα είδη *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., και *Clostridium Botulinum*, κάθε ένα από τα οποία σχετίζεται με συγκεκριμένα είδη τροφίμων όπως τα ωμά ή ανεπαρκώς μαγειρεμένα κρέατα, τα λαχανικά και τις κονσέρβες (Doyle et al., 2012).

Η ανάπτυξή τους σε ένα τρόφιμο εξαρτάται από δύο κατηγορίες παραγόντων, τους ενδογενείς και εξωγενείς. Στη πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται οι συνθήκες που παρέχει το τρόφιμο, δηλαδή η ενεργότητα νερού (a_w), η οξύτητα, τα θρεπτικά στοιχεία, η συγκέντρωση οξυγόνου, η δομή και το σχήμα του τροφίμου κ.α. Όλα αυτά σε συνδυασμό, μπορεί να οδηγήσουν στη δημιουργία ενός ευνοϊκού περιβάλλοντος που επιτρέπει την αύξηση του μικροβιακού φορτίου σε ένα τρόφιμο. Ωστόσο σε αυτό το σημείο πρέπει να ληφθούν υπόψιν και οι συνθήκες κατά τις οποίες το τρόφιμο θα συντηρηθεί δηλαδή οι εξωγενείς παράγοντες. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει τη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία, τη σύνθεση των αερίων και τη προσθήκη

συντηρητικών. Η δράση των ενδογενών και εξωγενών παραγόντων είναι ταυτόχρονη καθώς και η συμπεριφορά που θα αναπτύξουν οι μικροοργανισμοί εξαρτάται από τον συνδυασμό τους (Κριτή 2023).

1.2.1. Αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί: *Pseudomonas* spp.

Το γένος *Pseudomonas* spp. ανήκει στην οικογένεια *Pseudomonadaceae* και αποτελεί τον κυρίαρχο αλλοιωγόνο μικροοργανισμό υπό αερόβιες συνθήκες (Gomila et al., 2015). Οι ψευδομονάδες είναι Gram-αρνητικά, μη σπορογόνα βακτήρια, αερόβια ή προαιρετικά αερόβια, τα οποία απαρτίζουν ένα μεγάλο και ετερογενές γένος που περιλαμβάνει πέντε φυλογενετικές ομάδες βάσει αναλύσεων rRNA: *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas chicorii*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* και *Pseudomonas aeruginosa* (Doulgeraki et al., 2012).

Τα συγκεκριμένα ψυχρόφιλα βακτήρια, λόγω της ικανότητάς τους να παράγουν εξωκυτταρικά ένζυμα, θεωρούνται οι κύριοι υπαίτιοι για τη μικροβιακή αλλοίωση τροφίμων, ιδιαίτερα ζωικής προέλευσης. Αν και η παρουσία τους δεν είναι απαραίτητα παθογόνος, η δραστηριότητά τους οδηγεί σε σημαντική υποβάθμιση της ποιότητας του τροφίμου. Επιπλέον, ορισμένα είδη, όπως η *Pseudomonas aeruginosa*, εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε αντιμικροβιακούς παράγοντες, όπως οι β-λακτάμες (Arslan et al., 2011).

Τα είδη του γένους *Pseudomonas* διαθέτουν εκτεταμένους μεταβολικούς μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να χρησιμοποιούν ποικίλα οργανικά υποστρώματα, όπως υδατάνθρακες, για την ανάπτυξή τους. Η αλλοίωση ζωικών ιστών από *Pseudomonas* spp. συνοδεύεται από χαρακτηριστικά φαινόμενα, όπως η εκδήλωση δυσάρεστης οσμής σήψης (putrid, sulphid), μεταβολή της γεύσης και ανάπτυξη γλοιώδους υφής στην επιφάνεια του ιστού, λόγω της παραγωγής πολυσακχαριτών

(Nychas et al., 2007). Τα φαινόμενα αυτά είναι ιδιαίτερα έντονα όταν ο πληθυσμός των ψευδομονάδων υπερβεί τα $7-8 \log \text{ CFU/g}$. Η έλλειψη υδατανθράκων χαμηλού μοριακού βάρους, όπως η γλυκόζη, σε συνδυασμό με την παρουσία *Pseudomonas*, έχει συσχετιστεί με την παραγωγή δυσάρεστων πτητικών ενώσεων, όπως αιθυλεστέρες, αμμωνία, θειούχες και δισουλφιδικές ενώσεις (Nychas et al., 2008).

Η απομόνωση και ταυτοποίησή τους με κλασικές μικροβιολογικές μεθόδους δείχνει ότι τα *Pseudomonas* spp. αναπτύσσονται αποτελεσματικότερα σε μη εκλεκτικά μέσα όπως το Plate Count Agar (PCA) και το Blood Agar. Εκλεκτικά μέσα όπως το MacConkey Agar και το Eosin Methylene Blue Agar (EMB) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναχαίτιση άλλων μικροοργανισμών και την ενίσχυση της απομόνωσης *Pseudomonas*, υπό κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας (Jeppesen, 1995).

Για πιο εξειδικευμένη απομόνωση, έχει αναπτυχθεί το εκλεκτικό θρεπτικό μέσο CFC Agar (*Pseudomonas* Agar Base), το οποίο αρχικά περιείχε cephaloridine, Fucidin και cetrimide. Η χρήση του περιγράφηκε πειραματικά από τους Mead & Adams (1977), κατά την ανάλυση ψευδομονάδων σε δείγματα κοτόπουλου. Το μέσο αυτό επιτρέπει την ανάπτυξη έγχρωμων και άχρωμων αποικιών *Pseudomonas* διαμέτρου 2–5 mm, χωρίς να αναπτύσσονται άλλα Gram-θετικά βακτήρια (Mead, 1985).

Ωστόσο, ορισμένα στελέχη των *Enterobacteriaceae* εξακολουθούσαν να αναπτύσσονται σε CFC Agar, προκαλώντας θολότητα ή διόγκωση στις αποικίες. Για την αύξηση της εκλεκτικότητας, οι Stanbridge & Board (1994) πρότειναν την τροποποίηση του μέσου με την προσθήκη 1% (w/v) L-αργινίνης και 0,002% (w/v) φαινόλης κόκκινου. Οι *Pseudomonas* παρήγαγαν αμμωνία μέσω του καταβολισμού της αργινίνης, μετατρέποντας το pH και αλλάζοντας το χρώμα του δείκτη, ενώ τα

εντεροβακτήρια, που δεν μεταβολίζουν την αργινίνη, σχημάτιζαν αποικίες κίτρινου χρώματος.



Εικόνα 1.1. Καλλιέργεια και απομόνωση του *Pseudomonas* spp. (SEM)

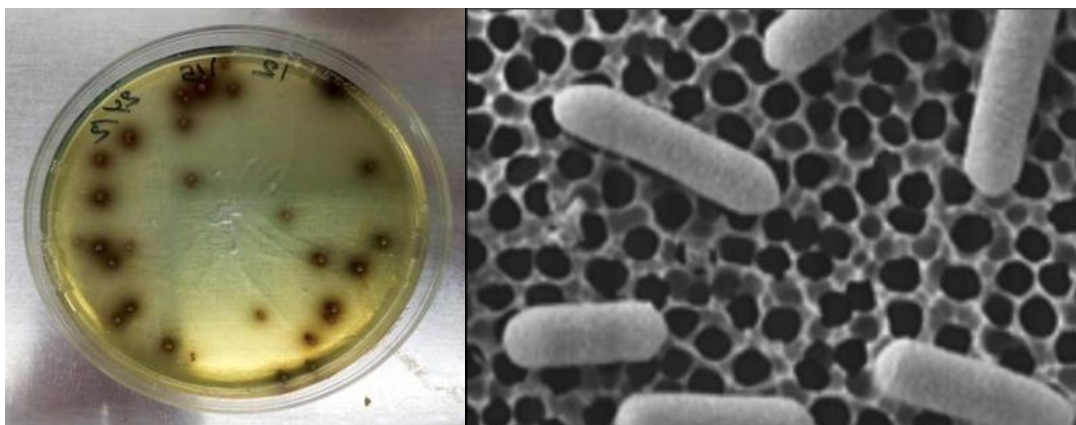
1.2.2. Παθογόνοι μικροοργανισμοί: *Listeria monocytogenes*

Το *Listeria monocytogenes* είναι ένα Gram-θετικό, μη σπορογόνο βακτήριο, το οποίο απαντάται ευρέως στο περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένων του εδάφους, της βλάστησης, του νερού και διαφόρων φυτικών και ζωικών προϊόντων. Έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε ευρύ φάσμα τιμών pH, ενεργότητας νερού (a_w) και θερμοκρασίας, συμπεριλαμβανομένων και των χαμηλών θερμοκρασιών (μέχρι 4°C), χαρακτηριστικό που το καθιστά ιδιαίτερα επικίνδυνο για την ασφάλεια των τροφίμων (Osek & Wieczorek, 2022). Επιπλέον, παρουσιάζει αξιοσημείωτη ανθεκτικότητα σε περιβαλλοντικά στρες, όπως υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ ή O₂ (Smith et al., 2004).

Η κύρια οδός μετάδοσης του παθογόνου στον άνθρωπο είναι η κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων, όπως μη παστεριωμένο γάλα, μαλακά τυριά, έτοιμα προς

κατανάλωση αλλαντικά και νωπά λαχανικά (Quereda et al., 2021). Στο ανθρώπινο σώμα, το *L. monocytogenes* έχει τη δυνατότητα να διαπερνά τον εντερικό, τον αιματοεγκεφαλικό και τον πλακουντιακό φραγμό, προκαλώντας λιστερίωση – μία σοβαρή λοίμωξη με πιθανές επιπλοκές σηψαιμίας, μηνιγγίτιδας, αποβολής εγκύου και, σε σοβαρές περιπτώσεις, θανάτου σε ηλικιωμένους και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (Charlier et al., 2020).

Η ταχεία και ακριβής ανίχνευση του *L. monocytogenes* σε τρόφιμα και κλινικά δείγματα είναι κρίσιμη για τη διασφάλιση της δημόσιας υγείας, δεδομένης της υψηλής θνησιμότητας της λοίμωξης και της ικανότητας του παθογόνου να επιβιώνει και να πολλαπλασιάζεται σε δυσμενείς συνθήκες. Η κλασική μέθοδος απομόνωσης βασίζεται στην καλλιέργεια σε εκλεκτικά θρεπτικά μέσα, όπως τα PALCAM agar και Oxford agar (Jamali et al., 2015). Παράλληλα, η χρήση μοριακών τεχνικών, όπως η PCR και η real-time PCR, έχει ενισχύσει σημαντικά την ταχύτητα και ειδικότητα της ανίχνευσης, επιτρέποντας τον άμεσο εντοπισμό γονιδίων παθογένειας (Jadhav et al., 2012).



Εικόνα 1.2. Καλλιέργεια και απομόνωση του *Listeria monocytogenes* (SEM)

1.3. Οξυγαλακτικά βακτήρια

Στο πλαίσιο της προσπάθειας για περιορισμό της μικροβιακής αλλοίωσης και διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η χρήση ωφέλιμων μικροοργανισμών με αντιμικροβιακή δράση. Μεταξύ αυτών, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) έχουν αναδειχθεί ως ένας από τους σημαντικότερους βιολογικούς παράγοντες για τη φυσική συντήρηση των τροφίμων, αντικαθιστώντας εν μέρει τα χημικά συντηρητικά.

Τα τελευταία χρόνια, η αυξανόμενη ανησυχία σχετικά με τις πιθανές επιπτώσεις των χημικών συντηρητικών στην ανθρώπινη υγεία έχει οδηγήσει στη στροφή προς φυσικές και ηπιότερες τεχνολογίες συντήρησης. Στο πλαίσιο αυτό, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria - LAB) αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική, καθώς πρόκειται για μια ετερογενή ομάδα μικροοργανισμών με σημαντικές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων.

Τα LAB είναι αυστηρά ζυμωτικοί, μη σπορογόνοι, προαιρετικά αναερόβιοι μικροοργανισμοί, θετικοί κατά Gram. Αν και ορίζονται μορφολογικά ως Gram-θετικά, παρουσιάζουν κατά λάση αρνητική, χαρακτηριστικό που τα διακρίνει από άλλα βακτήρια (Adams & Moss, 2008). Στον τομέα της τεχνολογίας τροφίμων έχουν ιδιαίτερη σημασία, καθώς κυριαρχούν στη φυσική μικροχλωρίδα πολλών ζυμωμένων προϊόντων και διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο τόσο στη συντήρηση όσο και στην αλλοίωσή τους. Επιπλέον, εντοπίζονται φυσιολογικά στην πεπτική οδό ανθρώπων και ζώων (Stiles & Holzapfel, 1997).

1.3.1. Ταξινόμηση Οξυγαλακτικών Βακτηρίων

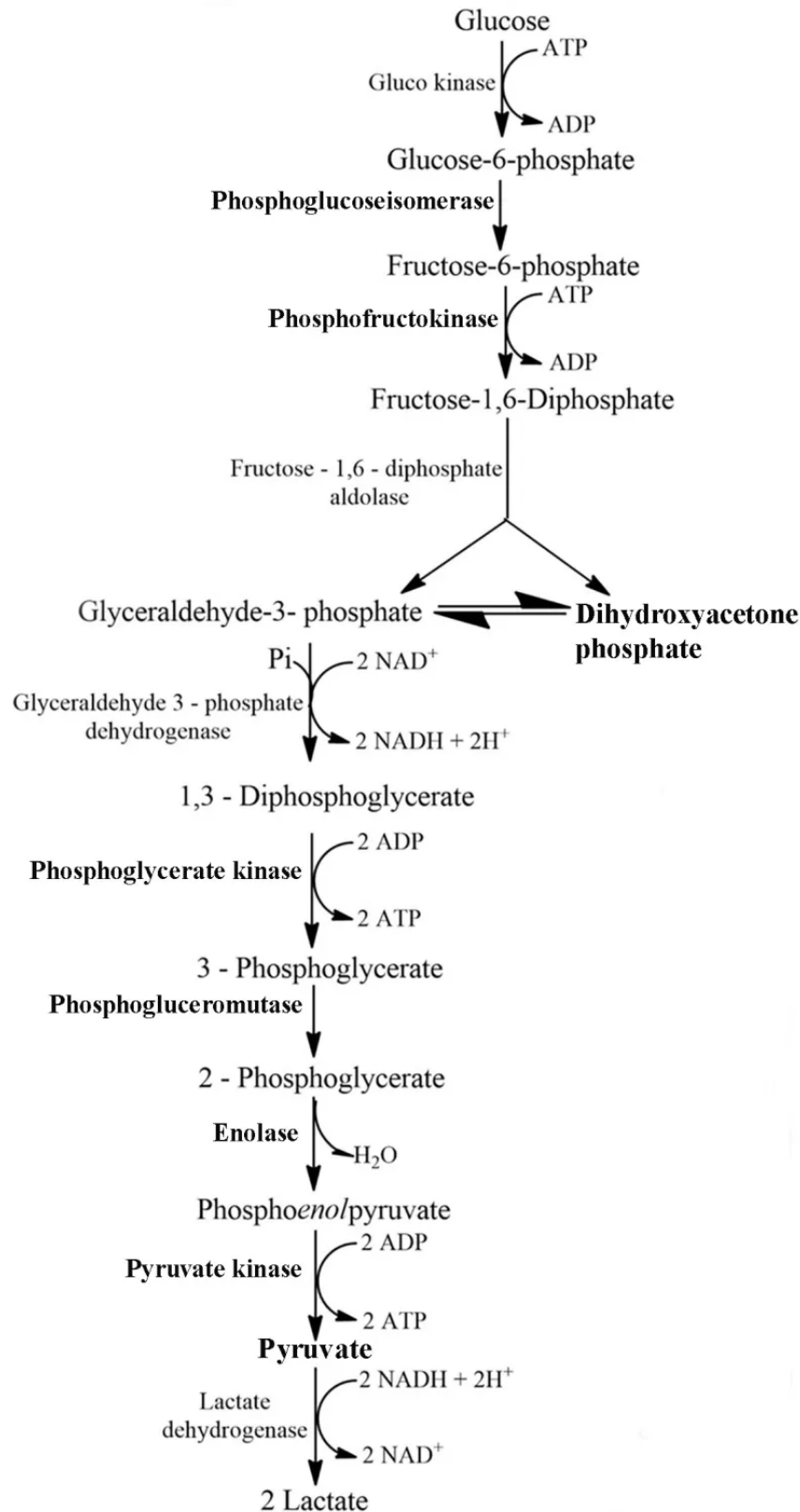
Η παραδοσιακή, φαινοτυπική ταξινόμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων βασίζεται σε μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά. Ανάλογα με τη μορφολογία των κυττάρων, διακρίνονται σε:

- **Βάκιλλους** (*Lactobacillus*, *Carnobacterium*)
- **Κόκκους** (π.χ. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* κ.ά.)

Με βάση τον μεταβολικό μηχανισμό ζύμωσης της γλυκόζης, τα LAB διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες (Παπαδοπούλου, 2013):

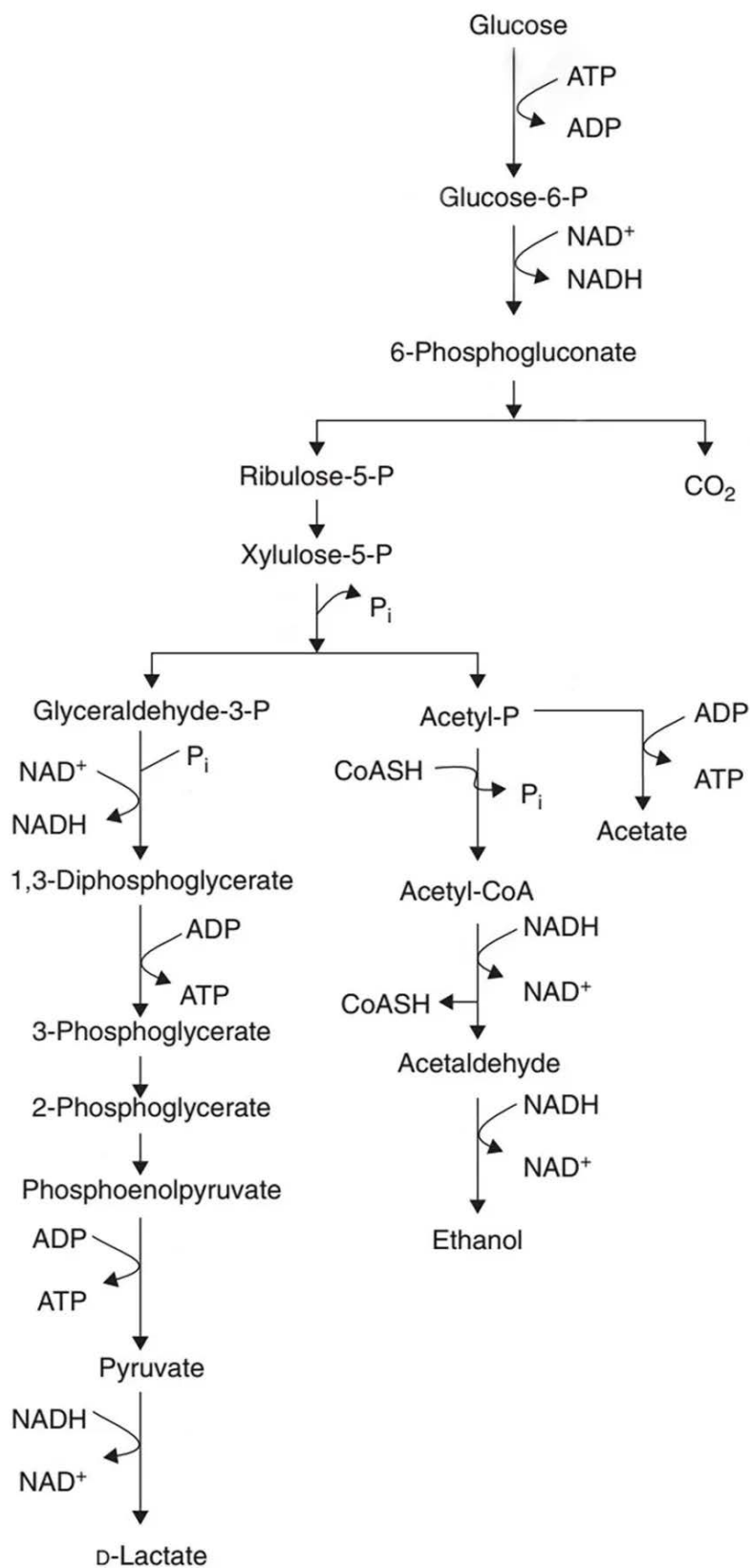
1. **Ομοζυμωτικά είδη (Homofermenters):** Μετατρέπουν τη γλυκόζη κυρίως (περίπου 90%) σε γαλακτικό οξύ μέσω της γλυκολυτικής οδού Embden-Meyerhof-Parnas (EMP).
2. **Ετεροζυμωτικά είδη (Heterofermenters):** Μετατρέπουν τις εξόζες σε ισομοριακές ποσότητες γαλακτικού οξέος, αιθανόλης (ή οξικού οξέος) και διοξειδίου του άνθρακα μέσω του φωσφοροπεντοζικού μονοπατιού (phosphoketolase pathway).

Αξιοσημείωτο είναι ότι περιβαλλοντικές παράμετροι, όπως το pH, η διαθέσιμη ενέργεια ή η παρουσία αναστολέων, μπορούν να επηρεάσουν τη μεταβολική πορεία των LAB, προκαλώντας μετατροπή της ομοζυμωτικής σε ετεροζυμωτική δραστηριότητα (Doulgeraki et al., 2010).



Σχήμα 1.1. Διαδικασία Ομοιοζυμωτικής οξυγαλακτικής ζύμωσης.

Στο παραπάνω σχήμα (Σχ. 1.1) περιγράφεται αναλυτικά η διαδικασία της Ομοιοζυμωτικής οξυγαλακτικής ζύμωσης. Η γλυκόζη μεταβολίζεται σε πυροσταφυλικό οξύ. Στη συνέχεια το πυροσταφυλικό οξύ μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ. Οι μικροοργανισμοί οι οποίοι εμπλέκονται σε αυτό το είδος της ζύμωσης μετατρέπουν τη γλυκόζη σε γαλακτικό οξύ σε ποσοστό άνω του 90%. Όταν αυτοί οι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε συνθήκες στρες τότε ο μεταβολισμός της γλυκόζης περιλαμβάνει σε μεγαλύτερο ποσοστό και άλλα μεταβολικά μονοπάτια. Όταν οι συγκεκριμένοι ομοιοζυμωτικοί μικροοργανισμοί βρίσκονται σε συνθήκες στρες, τότε το πυροσταφυλικό οξύ μπορεί να μεταβολίζεται σε ακεταλδεύδη και αργότερα σε αιθανόλη. Μία άλλη μεταβολική οδός περιλαμβάνει τη μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος σε φορμικό οξύ, ή σε οξικό οξύ, ή σε διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο (Athan Kouris, 2019).



Σχήμα 1.2. Διαδικασία Ετεροζυμωτικής οξυγαλακτικής ζύμωσης

Στο παραπάνω σχήμα (Σχ. 1.2) περιγράφεται αναλυτικά η διαδικασία της Ετεροζυμωτικής οξυγαλακτικής ζύμωσης. Τα ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια ζυμώνουν την γλυκόζη και παράγουν μία σειρά από προϊόντα. Με αυτόν τον τρόπο, τα συγκεκριμένα βακτήρια, εκτός από το γαλακτικό οξύ, μπορούν και παράγουν διοξείδιο του άνθρακα, οξικό οξύ και αιθανόλη (Athanas Kouris, 2019).

Άλλα κριτήρια ταξινόμησης είναι η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης, βάση της οποίας τα οξυγαλακτικά βακτήρια διακρίνονται σε μεσόφιλα (βέλτιστη θερμοκρασία 30°C) και σε θερμοφιλα (βέλτιστη θερμοκρασία 45°C), η ανάπτυξη σε υψηλές συγκεντρώσεις NaCl, η αντοχή τους σε όξινες ή σε αλκαλικές συνθήκες, η διαμόρφωση των διάφορων ισομερών μορφών (L- γαλακτικό οξύ, D - γαλακτικό οξύ) του γαλακτικού οξέος που παράγεται κατά τη γαλακτική ζύμωση και η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Με τη χρήση όμως μοριακών μεθόδων, τα οξυγαλακτικά βακτήρια μπόρεσαν να ταξινομηθούν με βάση το ποσοστό % γουανίνης και κυτοσίνης στο DNA (mol % G + C), των rRNA ακολουθιών και ιδίως αυτή του γονιδίου 16S rRNA (Cintas et al., 2001).

1.3.2. Γένη οξυγαλακτικών βακτηρίων

Τα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι τα *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* και *Weissella*. Για το γένος *Bifidobacterium*, έχει επικρατήσει η θεωρία ότι ανήκει στα LAB καθώς παρουσιάζει παρόμοια φυσιολογικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο φυλογενετικά αποτελεί διαφορετικό γένος διότι όλα τα Gram θετικά βακτήρια χαρακτηρίζονται από χαμηλό περιεχόμενο σε G+C (<50%), ενώ τα *Bifidobacterium* έχουν υψηλό περιεχόμενο σε G+C (>50%) (Νίπη 2014).

1.3.3. Σημασία των οξυγαλακτικών βακτηρίων στη βιοσυντήρηση

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) αποτελούν μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες μικροοργανισμών με εκτεταμένες εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων, κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να συμβάλλουν στη φυσική συντήρηση (βιοσυντήρηση) και στην ενίσχυση της ασφάλειας των τροφίμων. Η χρήση τους ανάγεται σε αρχαίους πολιτισμούς, πολύ πριν κατανοηθεί η μικροβιολογική τους δράση. Από τον 15ο αιώνα π.Χ., στην Κίνα και τη Βαβυλωνία, έχουν καταγραφεί μέθοδοι ζύμωσης κρέατος, ενώ ήδη από τον 3ο αιώνα π.Χ. υπήρχαν τεχνικές ζύμωσης λαχανικών στην Κίνα.

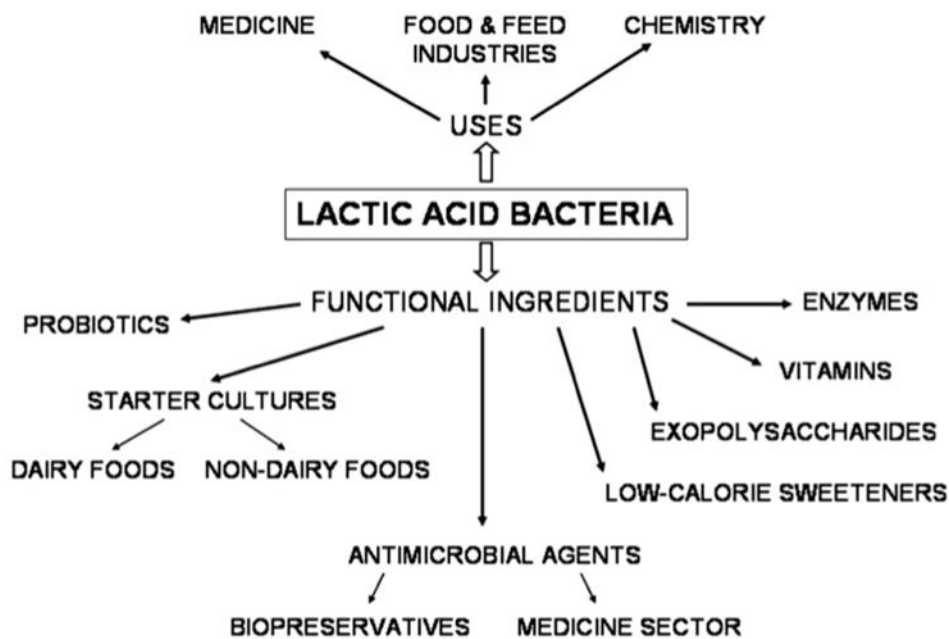
Στη σύγχρονη τεχνολογία τροφίμων, τα LAB χρησιμοποιούνται τόσο ως εναρκτήριες όσο και ως μη εναρκτήριες καλλιέργειες, επηρεάζοντας σημαντικά τα τεχνολογικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων (π.χ. γεύση, άρωμα, υφή). Πέρα όμως από τον ρόλο τους στη διαδικασία ζύμωσης, διαδραματίζουν και αντιμικροβιακή δράση, η οποία οφείλεται στην παραγωγή μεταβολικών ενώσεων με συντηρητικές ιδιότητες. Οι ενώσεις αυτές περιλαμβάνουν:

- Οργανικά οξέα (όπως το γαλακτικό και το οξικό οξύ), τα οποία μειώνουν το pH και εμποδίζουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών,
- Υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), με ισχυρή οξειδωτική δράση,
- Βακτηριοσίνες, δηλαδή πεπτιδικές ενώσεις με εκλεκτική δράση κατά παθογόνων ή αλλοιωγόνων βακτηρίων,
- και άλλα δευτερογενή μεταβολικά προϊόντα, γνωστά ως postbiotics (Νίπη, 2014).

Η σημασία των LAB δεν περιορίζεται μόνο στον τομέα των τροφίμων. Βρίσκουν εφαρμογή και σε άλλους κλάδους όπως:

- Φαρμακολογία: για την παραγωγή προβιοτικών σκευασμάτων ή άλλων βιοδραστικών ουσιών,
- Χημεία: ως βιοκαταλύτες σε ζυμωτικές διεργασίες,
- Περιβαλλοντική βιοτεχνολογία: με εφαρμογές σε συστήματα βιοκαθαρισμού και αντιμετώπισης ρύπανσης.

Τα τελευταία χρόνια, το ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχει ενταθεί, λόγω του διττού ρόλου τους τόσο στη βελτίωση της ποιότητας και διάρκειας ζωής των τροφίμων όσο και στην ενίσχυση της ασφάλειας των καταναλωτών, μέσω φυσικών μηχανισμών δράσης (Σχ. 1.3).



Σχήμα 1.3. Εφαρμογές οξυγαλακτικών βακτηρίων (Florou-Paner et al., 2013)

1.4. Παραγωγή Μεταβολιτών - postbiotics

Ο όρος postbiotics αναφέρεται σε μικροβιακά μεταβολικά προϊόντα ή κυτταρικά συστατικά, τα οποία παρουσιάζουν βιοδραστική δράση και έχουν τη δυνατότητα να συμβάλλουν στην ασφάλεια και ποιότητα των τροφίμων. Σύμφωνα με τον ορισμό των Moradi et al. (2020), τα postbiotics περιλαμβάνουν:

- a) Βιοδραστικούς διαλυτούς παράγοντες, δηλαδή προϊόντα ή μεταβολικά παραπροϊόντα που παράγονται από τροφικά ασφαλείς μικροοργανισμούς κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ή της ζύμωσης,
- b) Κυτταρικές ενώσεις, όπως τοιχωματικά συστατικά ή πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης,
- c) Ουσίες που παράγονται από τη δράση των μικροοργανισμών πάνω σε συστατικά του τροφίμου, όπως είναι τα βιοδραστικά πεπτίδια.

Η παραγωγή αυτών των μεταβολιτών ακολουθεί συγκεκριμένα στάδια: αρχικά καλλιεργούνται τα στελέχη LAB στο κατάλληλο θρεπτικό μέσο, όπου αναπτύσσονται και εκκρίνουν τους μεταβολίτες τους. Στη συνέχεια, το μέσο υπόκειται σε φυγοκέντριση για την απομάκρυνση των κυττάρων και τέλος σε φιλτράρισμα, ώστε να ληφθεί ένα καθαρό υπερκείμενο, ελεύθερο μικροοργανισμών, αλλά πλούσιο σε βιοδραστικές ενώσεις. Το τελικό υγρό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιμικροβιακός ή συντηρητικός παράγοντας σε τρόφιμα (Mani-Lopez et al., 2020).

Η αποτελεσματικότητα των postbiotics επηρεάζεται από:

- Το στέλεχος του LAB από το οποίο προέρχονται,
- Το είδος του μικροοργανισμού-στόχου ή του ρυπαντή που θέλουμε να καταστείλουμε,
- Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του τροφίμου στο οποίο εφαρμόζονται (π.χ. pH, υγρασία, σύνθεση).

Η αυξανόμενη χρήση των postbiotics στη βιοσυντήρηση των τροφίμων αντιστακτά την ανάγκη για εναλλακτικές, φυσικές λύσεις έναντι των χημικών συντηρητικών, ενώ ταυτόχρονα εξυπηρετεί τις απαιτήσεις των καταναλωτών για καθαρότερα, ασφαλέστερα και λειτουργικά τρόφιμα.

1.4.1. Ο ρόλος των μεταβολιτών - postbiotics

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) εκκρίνουν μεταβολίτες γνωστούς ως postbiotics, οι οποίοι παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση έναντι παθογόνων και αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, όπως βακτήρια και μύκητες. Η δράση αυτών των ενώσεων οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς:

- Μείωση του pH του τροφίμου, γεγονός που δημιουργεί ένα δυσμενές περιβάλλον για την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών.
- Οξίνιση του κυτταροπλάσματος μέσω της διάχυσης των οργανικών οξέων στο εσωτερικό των κυττάρων και της απελευθέρωσης ιόντων H^+ .
- Αδρανοποίηση του κυτταρικού μεταβολισμού, κυρίως μέσω μετουσίωσης πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης και διαταραχής της διαπερατότητάς της.

Οι μεταβολίτες αυτοί, όπως τα οργανικά οξέα, οι βακτηριοσίνες και το υπεροξείδιο του υδρογόνου, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη βιομηχανία τροφίμων καθώς:

- Συμβάλλουν στη μικροβιακή σταθερότητα και στην παράταση της διάρκειας ζωής των προϊόντων.
- Βελτιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, όπως τη γεύση, το άρωμα και την υφή (Ahansaz et al., 2023).

Πέρα από τις εφαρμογές στα τρόφιμα, τα postbiotics έχουν αναδειχθεί ως βιοδραστικές ενώσεις με πολλαπλές ευεργετικές δράσεις για την υγεία:

- Ανοσορρυθμιστική και αντιφλεγμονώδης δράση (Khalaf et al., 2022)

- Βελτίωση του μεταβολισμού του ξενιστή (Canfora et al., 2015)
- Ρύθμιση των λιπιδίων του αίματος και μείωση της αρτηριακής πίεσης (Nagpal et al., 2020)
- Αντικαρκινικές ιδιότητες (Zhang et al., 2024)
- Αντιπαρασιτικές επιδράσεις (Silva et al., 2023)

Ένα ιδιαίτερα σημαντικό πλεονέκτημα των postbiotics είναι η σταθερότητά τους σε υψηλές θερμοκρασίες και ακραίες τιμές pH, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα τόσο ως φυσικά συντηρητικά σε τρόφιμα όσο και ως λειτουργικά συστατικά σε σκευάσματα διατροφής και υγείας (Moradi et al., 2025).

1.4.2. Postbiotics και αντιμικροβιακή δράση

Η αντιμικροβιακή δράση των postbiotics βασίζεται σε έναν ευρύ φάσμα μηχανισμών, οι οποίοι περιλαμβάνουν την παραγωγή οργανικών οξέων, βακτηριοσινών, πεπτιδίων, υπεροξειδίου του υδρογόνου, λιπαρών οξέων και βιταμινών. Οι ενώσεις αυτές μπορούν είτε να αναστείλουν την ανάπτυξη παθογόνων και αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, είτε να διαταράξουν την ακεραιότητα των κυτταρικών τους τοιχωμάτων, οδηγώντας σε καταστροφή των κυττάρων (Wegh et al., 2019).

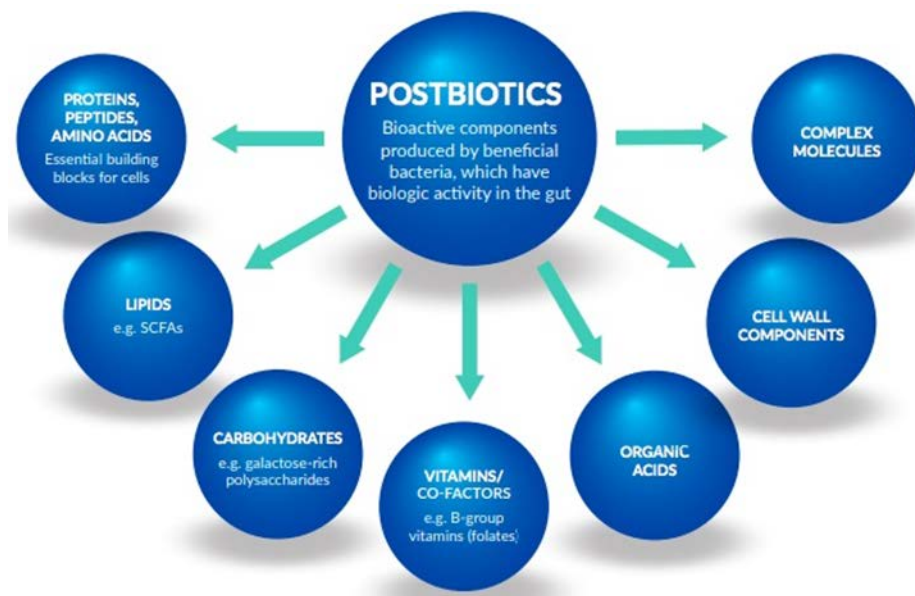
Επιπλέον, τα postbiotics έχουν τη δυνατότητα να παρεμποδίζουν τον σχηματισμό βιοφίλμ και να διασπούν ήδη υπάρχοντα, γεγονός που συμβάλλει στον περιορισμό της ανθεκτικότητας των μικροβίων στις συμβατικές θεραπείες (Silva et al., 2023).

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, postbiotics που παράγονται από στελέχη όπως το *Lactobacillus casei* και το *Lactobacillus rhamnosus*, παρουσιάζουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση έναντι σημαντικών παθογόνων, όπως τα *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus, *Listeria monocytogenes* και *Salmonella enterica* (Hosseini et al., 2024 & Zhang et al., 2025).

Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα των postbiotics είναι οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες, οι οποίες τα καθιστούν ιδανικά για εφαρμογές στη βιοσυντήρηση τροφίμων και τη φαρμακοβιομηχανία. Μεταξύ αυτών ξεχωρίζουν:

- Η θερμική σταθερότητα,
- Η ανθεκτικότητα σε ευρύ φάσμα pH,
- Η ανοχή σε υψηλή αλατότητα (Moradi et al., 2020).



Σχήμα 1.4. Παράγωγα των postbiotics (Nutricia.ie)

1.4.3. *Ligilactobacillus murinus*

Ο όρος postbiotic έχει αποκτήσει ιδιαίτερη σημασία στον τομέα της διατροφής και της τεχνολογίας τροφίμων. Στην περίπτωση του *Ligilactobacillus murinus*, η χρήση του ως πηγή postbiotics παρουσιάζει ξεχωριστό ενδιαφέρον, κυρίως λόγω της παραγωγής οργανικών οξέων, και πιο συγκεκριμένα του φαινυλακτικού οξέος (phenyllactic acid). Σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη των Mosqueda et al. (2023), το φαινυλακτικό οξύ αποτελεί έναν ισχυρό αντιμικροβιακό παράγοντα, ικανό να αναστείλει την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών όπως το *Listeria monocytogenes*. Η δυνατότητα παραγωγής του από τον *L. murinus* καθιστά το στέλεχος αυτό υποσχόμενο φυσικό συντηρητικό, ιδανικό για εφαρμογή σε τρόφιμα όπως γαλακτοκομικά προϊόντα, αλλαντικά κ.ά., αντικαθιστώντας τα χημικά συντηρητικά.

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι ο *L. murinus* διαθέτει και αντιφλεγμονώδη δράση στο έντερο, στοιχείο που ενισχύει τη χρησιμότητά του σε προϊόντα λειτουργικής διατροφής (functional foods).

Πέραν της αντιμικροβιακής του δράσης, ο *L. murinus* είναι επίσης ικανός να παράγει GABA-συνθετικά πεπτίδια, όπως το C14AsnGABA, τα οποία συμβάλλουν στη μείωση της νευροεντερικής υπερευαισθησίας και προσφέρουν ευεργετικά αποτελέσματα στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου (Petitfils et al., 2022).

Όσον αφορά την τεχνολογική του προσβασιμότητα, ο *L. murinus* μπορεί να αδρανοποιηθεί μέσω θερμικής επεξεργασίας, λυοφιλίωσης ή ψυχρής αποστείρωσης, διατηρώντας ωστόσο τα βιοδραστικά του μόρια. Το postbiotic εκχύλισμα ή η ξηρή του μορφή μπορεί να ενσωματωθεί σε:

- Γαλακτοκομικά προϊόντα
- Προϊόντα δημητριακών
- Λειτουργικά ροφήματα

- Συμπληρώματα διατροφής
- Ακόμη και παιδικές τροφές

Λόγω των αντιμικροβιακών και ανοσορρυθμιστικών του ιδιοτήτων, ο *L. murinus* μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό ενισχυτικό στα τρόφιμα (Vinderola et al., 2022).

1.5. Σκοπός της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας

Η παρούσα ΜΔΕ στοχεύει στη διερεύνηση της επίδρασης μεταβολικών προϊόντων LAB/*L. murinus* (postbiotics) στην ανάπτυξη επιλεγμένων παθογόνων (*Listeria monocytogenes*) και αλλοιωγόνων (*Pseudomonas* spp.) μικροοργανισμών σε μοντέλα υποστρώματα τροφίμων. Η πειραματική αυτή προσέγγιση, αποσκοπεί στην κατανόηση των μηχανισμών αναστολής και στην αξιολόγηση της εν δυνάμει εφαρμογής των postbiotics ως φυσικοί παράγοντες συντήρησης σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Υλικά

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκε το οξυγαλακτικό βακτήριο *Ligilactobacillus murinus*, το οποίο προήλθε από καθαρή καλλιέργεια εργαστηρίου και χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή postbiotic προϊόντων. Ως μικροοργανισμοί στόχοι επιλέχθηκαν το παθογόνο βακτήριο *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains) και το αλλοιωγόνο βακτήριο *Pseudomonas* spp.

Τα υποστρώματα καλλιέργειας που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- Tryptic Soy Broth (TSB) για την καλλιέργεια του παθογόνου και αλλοιωγόνου μικροοργανισμού,
- De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth για την καλλιέργεια του LAB.

Για την απαρίθμηση του Ολικού Μικροβιακού πληθυσμού χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία με:

- TSA agar
- Oxford agar (ειδικό για *Listeria monocytogenes*)
- CFC agar (ειδικό για *Pseudomonas* spp.)

Όλα τα μικροβιολογικά υλικά προέρχονταν από την LAB M (Lancashire, UK).



Εικόνα 2.1. Παρασκευή υλικών υποστρωμάτων για την καλλιέργεια των μικροοργανισμών

2.2 Μέθοδοι

Αναζωογόνηση Καλλιεργειών

Την πρώτη ημέρα, πραγματοποιήθηκε αναζωογόνηση των καλλιεργειών *Ligilactobacillus murinus* σε MRS broth και των μικροοργανισμών *Listeria monocytogenes* και *Pseudomonas spp.* σε TSB. Οι καλλιέργειες επωάστηκαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας (*Listeria monocytogenes* 37°C, *Pseudomonas spp.* 25°C, *Ligilactobacillus murinus* 25°C) για 24h, για την εξασφάλιση της βέλτιστης ανάπτυξης τους.

Παραγωγή Post-biotic και Αραίωση

Τη δεύτερη μέρα το postbiotic προϊόν προέκυψε έπειτα από φιλτράρισμα της καλλιέργειας του *L. murinus*. Η καλλιέργεια υποβλήθηκε αρχικά σε φυγοκέντριση για την απομάκρυνση των κυττάρων και στη συνέχεια το υπερκείμενο διηθήθηκε μέσω αποστειρωμένου μεμβρανικού φίλτρου υπο συνθήκες κενού, ώστε να ληφθεί ένα καθαρό υπερκείμενο, ελεύθερο από κύτταρα. Το προκύπτον postbiotic περιείχε μείγμα μεταβολιτών, όπως οργανικά οξέα, υπεροξείδιο του υδρογόνου και βακτηριοσίνες, η συνδυαστική δράση των οποίων θεωρείται υπεύθυνη για τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Παράλληλα πραγματοποιήθηκαν δεκαδικές αραιώσεις των καλλιεργειών *Listeria monocytogenes* και *Pseudomonas spp.* με μεταφορά 1 ml από κάθε αραιώση στον επόμενο δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε εννεαπλάσια ποσότητα αραιωτικού μέσου ώστε να επιτευχθεί η τελική συγκέντρωση 10^3 cfu/ml για κάθε βακτήριο που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα. Όλες οι πειραματικές διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν σε βιολογικές επαναλήψεις με διπλά τεχνικά δείγματα για κάθε συνθήκη.



Εικόνα 2.2. Φιλτράρισμα της καλλιέργειας του *Ligilactobacillus murinus*

2.3. Σχεδιασμός πειράματος

Για τη μελέτη της επίδρασης των μεταβολικών προϊόντων *L. murinus* στην ανάπτυξη των παθογόνων και αλλοιωγόνων βακτηρίων, δημιουργήθηκαν έξι διαφορετικά πειραματικά σχήματα σε μεγάλα Falcon tubes, τα οποία περιείχαν τα εξής υποστρώματα:

1. TSB + *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains)
2. TSB + *Pseudomonas* spp.
3. TSB + post-biotic + *Listeria monocytogenes*
4. TSB + post-biotic + *Pseudomonas* spp.
5. TSB + *Listeria monocytogenes* + *Pseudomonas* spp.
6. TSB + post-biotic + *Listeria monocytogenes* + *Pseudomonas* spp.



Εικόνα 2.3. Πειραματικά σχήματα σε μεγάλα Falcon tubes

2.4. Επώαση και Δειγματοληψία

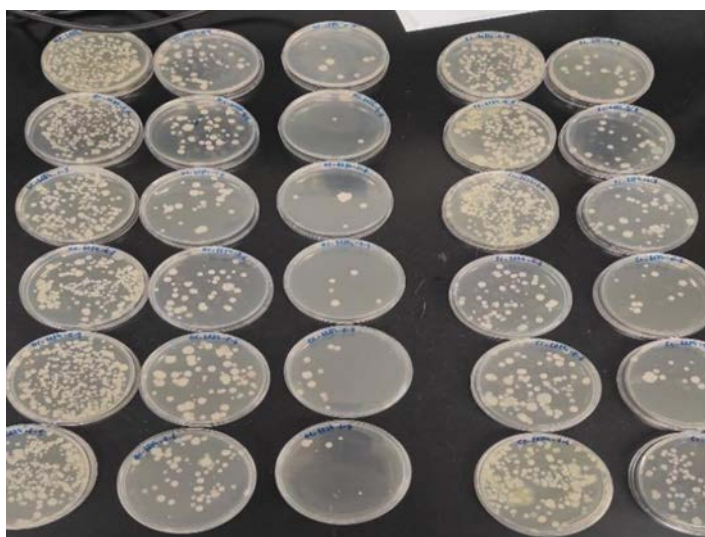
Οι καλλιέργειες επώαστηκαν υπό τις εξής θερμοκρασιακές συνθήκες για διαφορετικές χρονικές περιόδους:

- 20oC για 2 ημέρες, με δειγματοληψίες κάθε 4 ώρες
- 12oC για 5 ημέρες, με δειγματοληψίες κάθε 12 ώρες
- 8oC για 5 ημέρες, με δειγματοληψίες κάθε 12 ώρες
- 4oC για 5 ημέρες, με δειγματοληψίες κάθε 24 ώρες

2.5. Μικροβιολογικές αναλύσεις

Κατά τη διάρκεια της επώασης, τα δείγματα αναλύθηκαν για την εκτίμηση του μικροβιακού φορτίου. Η απαρίθμηση του Ολικού Μικροβιακού πληθυσμού πραγματοποιήθηκε με τη τεχνική της επίστρωσης σε τρυβλία (plate count) σε κατάλληλα εκλεκτικά θρεπτικά υλικά:

- Oxford agar για *Listeria monocytogenes* με καταμέτρηση των αποικιών με δακτύλιο, μετά από επώαση στους 37 °C για 48 ώρες
- CFC agar για *Pseudomonas* spp. με καταμέτρηση των αποικιών, μετά από επώαση στους 25°C για 48 ώρες
- TSA agar για Ολικό Μικροβιακό Πληθυσμό με καταμέτρηση των αποικιών, μετά από επώαση στους 25°C για 48 ώρες



Εικόνα 2.4. Απαρίθμηση Ολικού Μικροβιακού πληθυσμού σε τρυβλία (plate count)

2.6. Προσδιορισμός κινητικών παραμέτρων

Οι κινητικές παράμετροι των πληθυσμών υπολογίσθηκαν χρησιμοποιώντας το πρωτογενές μοντέλο του Baranyi (Baranyi & Roberts, 1994)

$$y(t) = y_{\max} - \ln[1 + (e^{-y_{\max} - y_0} - 1)e^{\mu_{\max} A_n(t)}].$$

Οι παράμετροι αυτοί ήταν: η φάση προσαρμογής (*lag time*), ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης ($\mu_{\max}$) και ο τελικός μικροβιακός πληθυσμός ($N_{\max}$). Η προσαρμογή των δεδομένων που απαριθμήθηκαν κατά τη πειραματική διαδικασία στο μοντέλο του Baranyi έγινε με τη χρήση του λογιστικού προγράμματος Dmfit (Institute of Food Research, Reading, Uk).

2.7. Στατιστική επεξεργασία

Τέλος, για τα αποτελέσματα όλων των σχημάτων, χρησιμοποιήθηκαν στατιστικές αναλύσεις οι οποίες πραγματοποιήθηκαν μέσω του προγράμματος Microsoft Excel. Μέσω αυτών υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι και τα τυπικά σφάλματα για κάθε σχήμα ξεχωριστά.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Κινητικές παράμετροι

Οι κινητικές παράμετροι των πληθυσμών υπολογίσθηκαν χρησιμοποιώντας το πρωτογενές μοντέλο του Baranyi. Υπολογίσθηκε η φάση προσαρμογής (lag time), ο μέγιστος ειδικός ρυθμός αύξησης (μ_{max}) και ο τελικός μικροβιακός πληθυσμός (N_{max}) (Baranyi & Roberts 1994). Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα δεδομένα που ελήφθησαν από την απαρίθμηση του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* (mix 5 strains), του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού *Pseudomonas* spp. καθώς και του οξυγαλακτικού βακτηρίου -postbiotic- *Ligilactobacillus murinus*, σε μοντέλα υποστρώματα, κατά τη συντήρησή τους σε τέσσερις διαφορετικές θερμοκρασίες, 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C, σε μονοκαλλιέργειες για τον κάθε παθογόνο και αλλοιωγόνο μικροοργανισμό ξεχωριστά, αλλά και σε συγκαλλιέργειες μεταξύ των δύο μικροοργανισμών και του postbiotic που χρησιμοποιήθηκε (L+P/ L + P + Post).

Πίνακας 3.1.1. Συνδυασμοί συγκαλλιιεργειών και κωδικοποίηση τους

<i>L. monocytogenes</i> + <i>Pseudomonas</i> spp.	L + P
<i>L. monocytogenes</i> + <i>Pseudomonas</i> spp. + <i>L. murinus</i> (postbiotic)	L + P + Post

Πίνακας 3.1.2. Κινητικές παράμετροι του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains), του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού *Pseudomonas* spp. και του οξυγαλακτικού βακτηρίου *Ligilactobacillus murinus* σε μοντέλα υποστρώματα, κατά τη συντήρησή τους στους 4 °C. Οι τιμές (μέσοι όροι $\pm$ τυπική απόκλιση, 2 επαναλήψεων) εκτός της παρένθεσης παρουσιάζονται τα δεδομένα που ελήφθησαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών, ενώ οι τιμές εντός παρένθεσης παρουσιάζουν την προσαρμογή των μετρήσεων με τη χρήση του πρωτογενούς μοντέλου Baranyi (Baranyi & Roberts 1994).

Περιπτώσεις	Αρχικός	Τελικός	Lag	μ_{max}
	πληθυσμός (log cfu/g)	πληθυσμός (log cfu/g)		
TSB+L	3,47 (3,5 $\pm$ 0,007)	3,88 (3,90 $\pm$ 0,055)	-	0,004
TSB+Ps	4,17 (4,21 $\pm$ 0,009)	7,55 (7,46 $\pm$ 0,001)	-	0,041
TSB+L+Post	2,82 (2,82 $\pm$ 0,149)	2,95 (2,95 $\pm$ 0,048)	-	0,002
TSB+ Ps+Post	3,22 (3,48 $\pm$ 0,018)	6,18 (6,63 $\pm$ 0,001)	-	0,031
TSB+L+Ps (cfc)	2,25 (2,28 $\pm$ 0,020)	4,22 (4,18 $\pm$ 0,129)	-	0,021
TSB+L+Ps (oxf)	0,99 (1,00 $\pm$ 0,000)	2,74 (2,70 $\pm$ 0,010)	22,22	0,027
TSB+L+PS+Post (cfc)	1,82 (1,80 $\pm$ 0,096)	3,01(2,94 $\pm$ 0,041)	29,62	0,018
TSB+L+PS+Post (oxf)	1,01 (1,00 $\pm$ 0,000)	1,59 (1,59 $\pm$ 0,020)	69,75	0,047

Πίνακας 3.1.3. Κινητικές παράμετροι του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains), του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού *Pseudomonas* spp. και του οξυγαλακτικού βακτηρίου -postbiotic- *Ligilactobacillus murinus* σε μοντέλα υποστρώματα, κατά τη συντήρησή τους στους 8 °C. Οι τιμές (μέσοι όροι $\pm$ τυπική απόκλιση, 2 επαναλήψεων) εκτός της παρένθεσης παρουσιάζονται τα δεδομένα που ελήφθησαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών, ενώ οι τιμές εντός παρένθεσης παρουσιάζουν την προσαρμογή των μετρήσεων με τη χρήση του πρωτογενούς μοντέλου Baranyi (Baranyi & Roberts 1994).

Περιπτώσεις	Αρχικός	Τελικός	Lag	μ_{max}
	πληθυσμός (log cfu/g)	πληθυσμός (log cfu/g)		
TSB+L	3,54 (3,49 $\pm$ 0,006)	7,10 (7,22 $\pm$ 0,012)	-	0,059
TSB+Ps	4,30 (4,21 $\pm$ 0,009)	8,24 (8,26 $\pm$ 0,005)	-	0,050
TSB+L+Post	2,82 (2,82 $\pm$ 0,149)	3,90 (4,08 $\pm$ 0,005)	-	0,064
TSB+ Ps+Post	3,63 (3,48 $\pm$ 0,018)	6,76 (7,07 $\pm$ 0,002)	-	0,059
TSB+L+Ps (cfc)	2,46 (2,28 $\pm$ 0,020)	4,73 (4,85 $\pm$ 0,026)	-	0,029
TSB+L+Ps (oxf)	0,91 (1,00 $\pm$ 0,000)	4,36 (4,59 $\pm$ 0,339)	-	0,032
TSB+L+PS+Post (cfc)	1,79 (1,80 $\pm$ 0,096)	4,01 (4,11 $\pm$ 0,016)	6,46	0,038
TSB+L+PS+Post (oxf)	1,02 (1,00 $\pm$ 0,000)	2,59 (2,65 $\pm$ 0,035)	40,58	0,023

Πίνακας 3.1.4. Κινητικές παράμετροι του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains), του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού *Pseudomonas* spp. και του οξυγαλακτικού βακτηρίου *Ligilactobacillus murinus* σε μοντέλα υποστρώματα, κατά τη συντήρησή τους στους 12 °C. Οι τιμές (μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση, 2 επαναλήψεων) εκτός της παρένθεσης παρουσιάζονται τα δεδομένα που ελήφθησαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών, ενώ οι τιμές εντός παρένθεσης παρουσιάζουν την προσαρμογή των μετρήσεων με τη χρήση του πρωτογενούς μοντέλου Baranyi (Baranyi & Roberts 1994).

Περιπτώσεις	Αρχικός πληθυσμός	Τελικός		
	(log cfu/g)	πληθυσμός (log cfu/g)	Lag (h)	μ_{max} (h ⁻¹)
TSB+L	3,33 (3,49±0,006)	8,50 (8,21±0,004)	-	0,048
TSB+Ps	4,28 (4,21±0,009)	8,57 (8,78±0,007)	-	0,067
TSB+L+Post	2,81 (2,82±0,149)	5,87 (5,95±0,010)	28,82	0,060
TSB+ Ps+Post	3,59 (3,48±0,018)	6,91 (7,44±0,009)	-	0,087
TSB+L+Ps (cfc)	2,63 (2,28±0,020)	7,03 (7,32±0,036)	-	0,061
TSB+L+Ps (oxf)	1,11 (1,00±0,000)	7,08 (7,23±0,030)	-	0,075
TSB+L+PS+Post (cfc)	1,90 (1,80±0,096)	4,47 (4,65±0,036)	-	0,037
TSB+L+PS+Post (oxf)	0,92 (1,00±0,000)	4,85 (5,05±0,123)	-	0,036

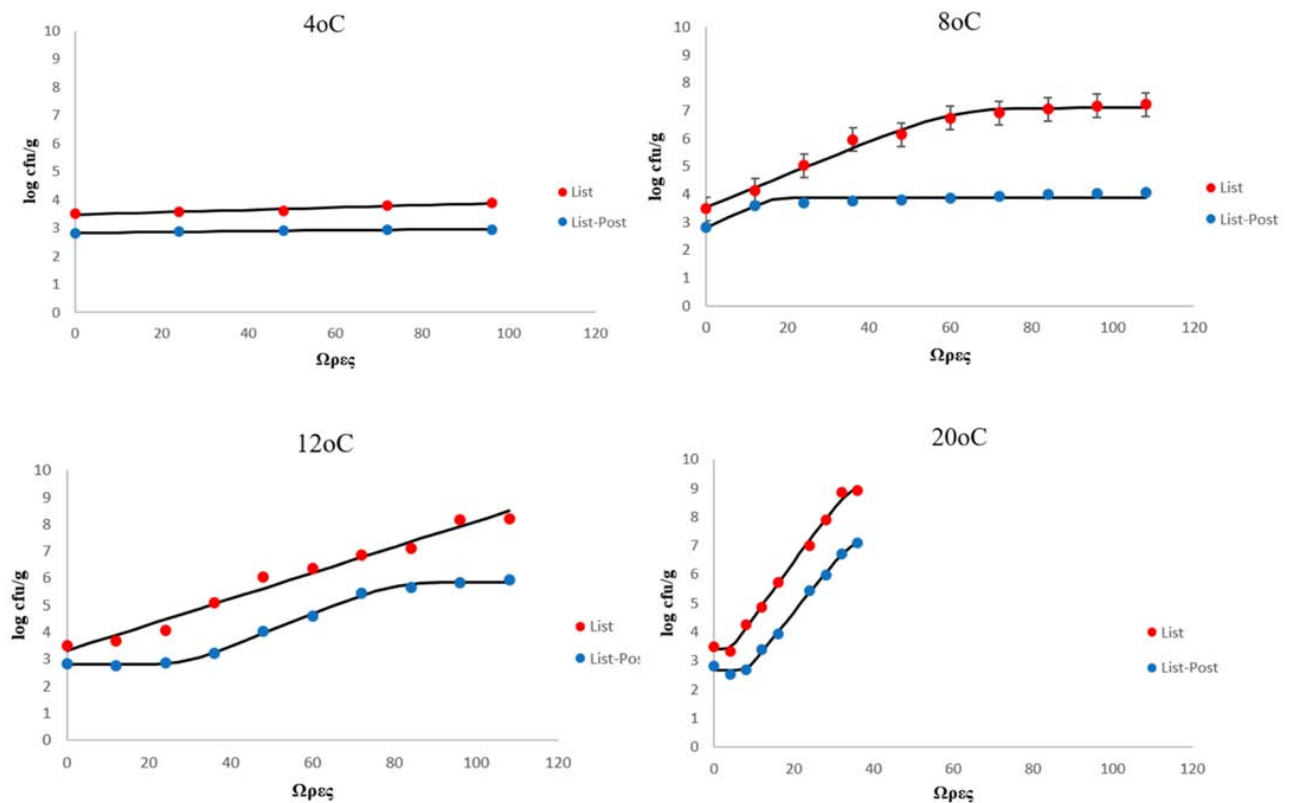
Πίνακας 3.1.5. Κινητικές παράμετροι του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains), του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού *Pseudomonas* spp. και του οξυγαλακτικού βακτηρίου *Ligilactobacillus murinus* σε μοντέλα υποστρώματα, κατά την αποθήκευση τους στους 20°C. Οι τιμές (μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση, 2 επαναλήψεων) εκτός της παρένθεσης παρουσιάζονται τα δεδομένα που ελήφθησαν από την απαρίθμηση των μικροοργανισμών, ενώ οι τιμές εντός παρένθεσης παρουσιάζουν την προσαρμογή των μετρήσεων με τη χρήση του πρωτογενούς μοντέλου Baranyi (Baranyi & Roberts 1994).

Περιπτώσεις	Αρχικός πληθυσμός	Τελικός		
	(log cfu/g)	πληθυσμός	Lag	μ_{max}
		(log cfu/g)	(h)	(h ⁻¹)
TSB+L	3,42 (3,49±0,006)	9,38 (8,93±0,013)	4,22	0,200
TSB+Ps	4,21 (4,21±0,009)	8,69 (8,79±0,011)	2,10	0,182
TSB+L+Post	2,67 (2,82±0,149)	7,42 (7,10±0,003)	8,29	0,173
TSB+ Ps+Post	3,58 (3,48±0,018)	7,08 (7,41±0,001)	-	0,172
TSB+L+Ps (cfc)	2,28 (2,28±0,020)	6,67 (6,56±0,021)	1,71	0,140
TSB+L+Ps (oxf)	1,21 (1,00±0,000)	6,31 (6,20±0,060)	-	0,141
TSB+L+PS+Post (cfc)	1,74 (1,80±0,096)	5,47 (5,65±0,025)	-	0,110
TSB+L+PS+Post (oxf)	0,71 (1,00±0,000)	5,39 (5,76±0,119)	-	0,138

3.2. Μικροβιακές Μεταβολές

Οι πληθυσμιακές μεταβολές της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας (OMX), του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains) και του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού, *Pseudomonas* spp., στα μοντέλα υποστρώματα της κάθε μεταχείρισης, αποθηκευμένων στους 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C παρουσιάζονται στις παρακάτω εικόνες.

3.2.1 Μικροβιακές Μεταβολές του *Listeria monocytogenes*



Εικόνα 3.2.1: Πληθυσμιακές μεταβολές του *Listeria monocytogenes* (List) και του postbiotic *L. murinus* (Post) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης τους στους 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων. Τα κόκκινα σημεία αντιστοιχούν στη καλλιέργεια του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* (mix 5 strains), ενώ με μπλε χρώμα συμβολίζεται η δράση του postbiotic *L. murinus*, έπειτα από την ενσωμάτωση του στη καλλιέργεια του *Listeria monocytogenes*, στα μοντέλα υποστρώματα (List-Post).

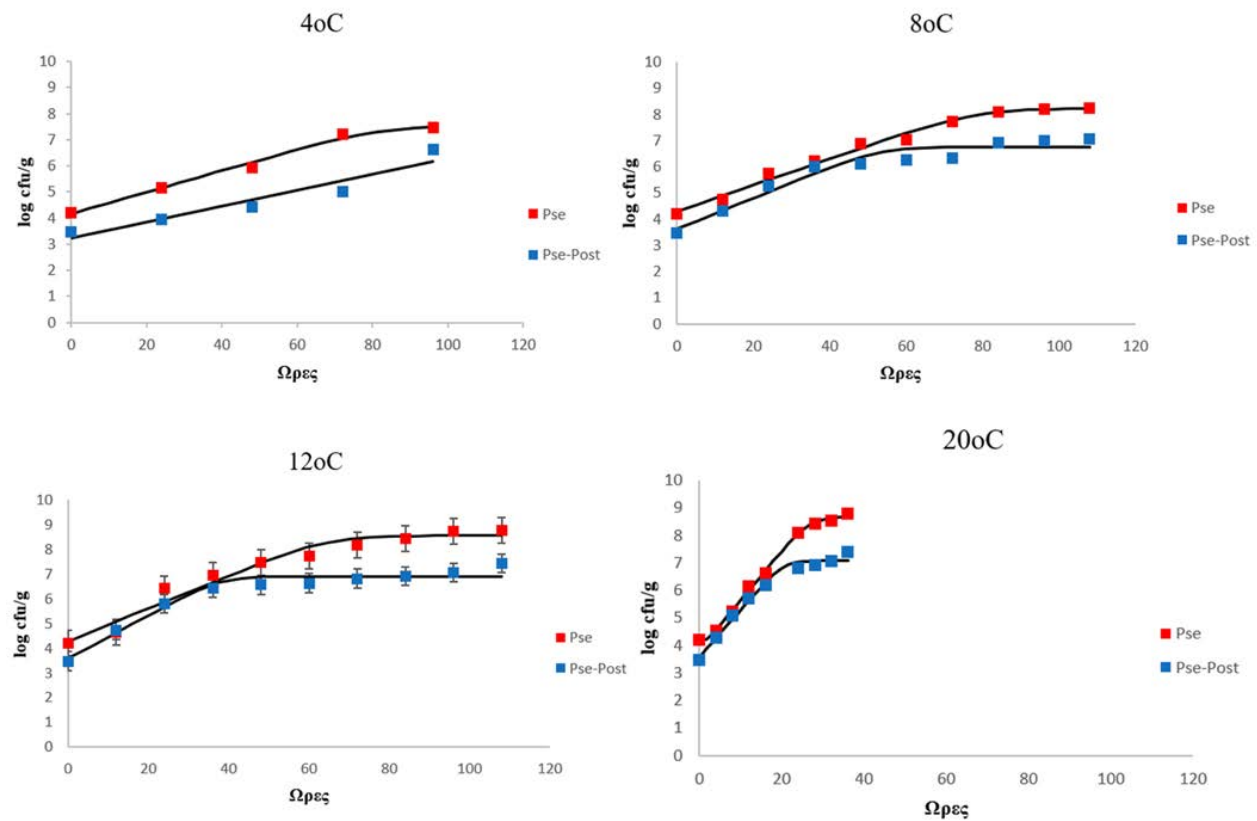
Για τους 4°C, παρατηρήθηκε αργή βακτηριακή αύξηση και για τις δύο μεταχειρίσεις. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.2. και της εικόνας 3.2.1., τα αρχικά επίπεδα του *Listeria monocytogenes* βρέθηκαν στα $3,5 \pm 0,007 \log \text{ cfu/g}$. Έπειτα ακολούθησε σταθερή, μικρή, σταδιακή αύξηση του βακτηρίου φθάνοντας το ανώτατο επίπεδο των $3,90 \pm 0,055 \log \text{ cfu/g}$ στις 96 ώρες. Η ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* είχε περιορισμένη επίδραση σε αυτή τη θερμοκρασία καθώς μείωσε τη δράση του παθογόνου βακτηρίου με τα αρχικά επίπεδα να πέφτουν στα $2,82 \pm 0,149 \log \text{ cfu/g}$. φθάνοντας τα $2,95 \pm 0,048 \log \text{ cfu/g}$ στις 96 ώρες.

Στους 8°C το *Listeria monocytogenes* παρουσιάζει απότομη αύξηση μέχρι και τις 60 ώρες και έπειτα σταθεροποιείται. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.3. και της εικόνας 3.2.1., τα αρχικά επίπεδα του *Listeria monocytogenes* βρέθηκαν στα επίπεδα των $3,49 \pm 0,006 \log \text{ cfu/g}$. Στη συνέχεια ακολούθησε μικρή σταδιακή αύξηση του βακτηρίου φθάνοντας τα επίπεδα των $7,22 \pm 0,012 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες. Η ενσωμάτωση του postbiotic μείωσε τη δράση του παθογόνου βακτηρίου με τα αρχικά επίπεδα να πέφτουν στα $2,82 \pm 0,149 \log \text{ cfu/g}$ ακολουθώντας σταθερή ανασταλτική δράση φθάνοντας τα $4,08 \pm 0,005 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες.

Όσον αναφορά τους 12°C και οι δύο μεταχειρίσεις παρουσιάζουν αύξηση. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.4. και της εικόνας 3.2.1., τα αρχικά επίπεδα του *Listeria monocytogenes* βρέθηκαν στα επίπεδα των $3,49 \pm 0,006 \log \text{ cfu/g}$ με συνεχή σταδιακή αύξηση φθάνοντας τα $8,21 \pm 0,004 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες. Η δράση του postbiotic *L. murinus* φαίνεται να καθυστερεί στην αρχή, με τα αρχικά επίπεδα να ξεκινούν από τα $2,82 \pm 0,149 \log \text{ cfu/g}$, και στη συνέχεια αυξάνεται με αργό ρυθμό φθάνοντας τα $5,95 \pm 0,010 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες.

Τέλος για τους 20°C παρατηρείται ταχύτερη ανάπτυξη και στις δύο μεταχειρίσεις με τη μεγαλύτερη αύξηση των βακτηρίων να γίνεται στις πρώτες 30 ώρες. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.5. και της εικόνας 3.2.1., τα αρχικά επίπεδα του *Listeria monocytogenes* βρέθηκαν στα επίπεδα των $3,49 \pm 0,006 \log \text{ cfu/g}$ φθάνοντας μέχρι τα $8,93 \pm 0,013 \log \text{ cfu/g}$. Η ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* φαίνεται να έχει ανασταλτική δράση έναντι του παθογόνου βακτηρίου μειώνοντας αρχικά των πληθυσμό στα $2,82 \pm 0,149 \log \text{ cfu/g}$ φθάνοντας σε τελικά επίπεδα τα $7,10 \pm 0,003 \log \text{ cfu/g}$.

3.2.2. Μικροβιακές Μεταβολές του *Pseudomonas* spp.



Εικόνα 3.2.2: Πληθυσμιακές μεταβολές του *Pseudomonas* spp. (Pse) και του postbiotic *L. murinus* (Post) κατά τη διάρκεια αποθήκευσης τους στους 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων. Τα κόκκινα σημεία αντιστοιχούν στη καλλιέργεια του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού, *Pseudomonas* spp., ενώ με μπλε χρώμα συμβολίζεται η δράση του postbiotic *L. murinus*, έπειτα από την ενσωμάτωση του στη καλλιέργεια του *Pseudomonas* spp. (Pse-Post), στα μοντέλα υποστρώματα.

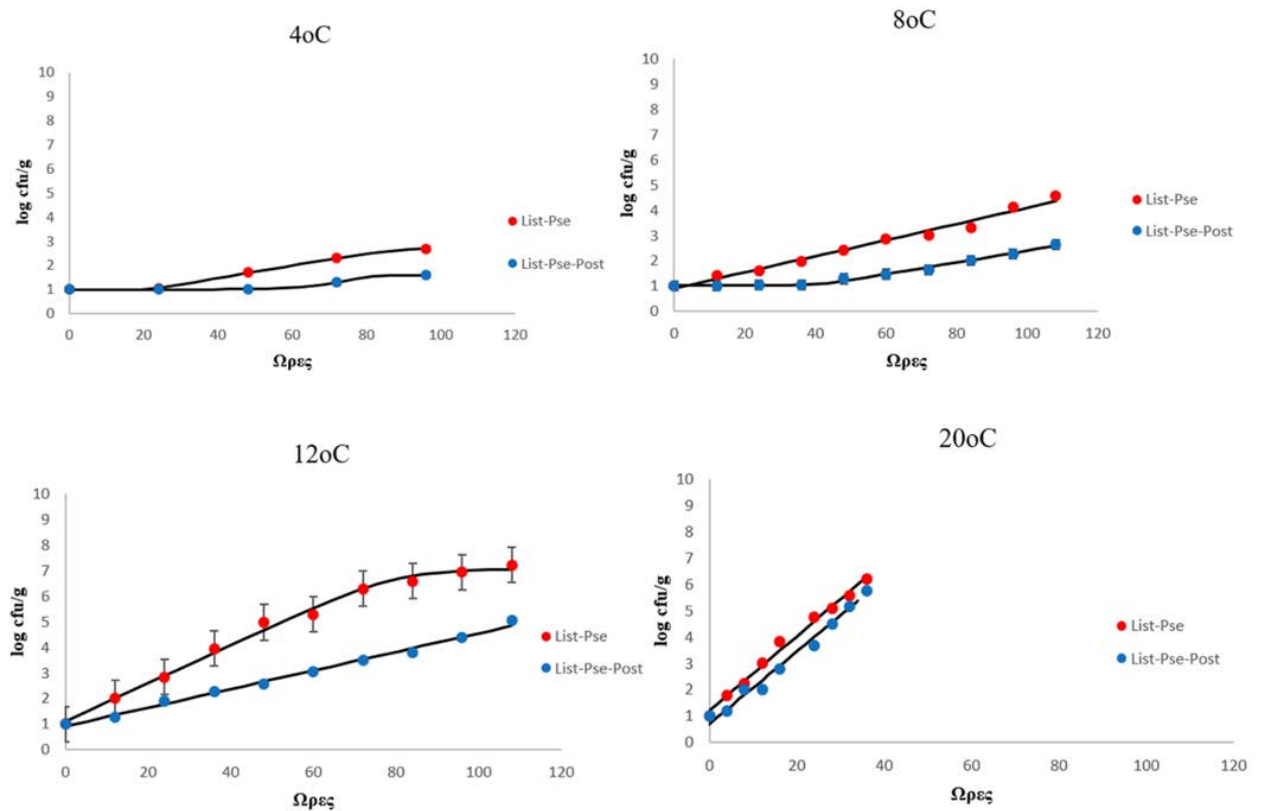
Για τους 4°C, παρατηρήθηκε σταθερή αύξηση και στις δύο μεταχειρίσεις. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.2. και της εικόνας 3.2.2., τα αρχικά επίπεδα του *Pseudomonas* spp. βρέθηκαν στα $4,21 \pm 0,009 \log \text{ cfu/g}$. Έπειτα ακολούθησε σταδιακή αύξηση του αλλοιωγόνου μικροοργανισμού, φθάνοντας το ανώτατο επίπεδο των $7,46 \pm 0,001 \log \text{ cfu/g}$ στις 96 ώρες. Η ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* είχε μέτρια ανασταλτική δράση σε αυτή τη θερμοκρασία, με τα αρχικά επίπεδα της μικροβιακής αύξησης να πέφτουν στα $3,48 \pm 0,018 \log \text{ cfu/g}$ φθάνοντας τα $6,63 \pm 0,001 \log \text{ cfu/g}$ στις 96 ώρες.

Στους 8°C το *Pseudomonas* spp. παρουσιάζει ταχύτερη ανάπτυξη. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.3. και της εικόνας 3.2.2., από τα αρχικά επίπεδα του *Pseudomonas* spp. στα $4,21 \pm 0,009 \log \text{ cfu/g}$, τα τελικά επίπεδα έφθασαν τα $8,26 \pm 0,005 \log \text{ cfu/g}$. Η ενσωμάτωση του postbiotic είχε σχετικά ισχυρή ανασταλτική δράση σε αυτή τη θερμοκρασία, με τα αρχικά επίπεδα της μικροβιακής αύξησης να πέφτουν στα $3,48 \pm 0,018 \log \text{ cfu/g}$ φθάνοντας τα $7,07 \pm 0,002 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες.

Στους 12°C παρατηρήθηκε ταχύτερη ανάπτυξη σε σχέση με τις προηγούμενες θερμοκρασίες. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.4. και της εικόνας 3.2.2., ενώ τα αρχικά επίπεδα του *Pseudomonas* spp. βρίσκονται στα $4,21 \pm 0,009 \log \text{ cfu/g}$, φθάνουν πολύ γρήγορα τα $8,78 \pm 0,007 \log \text{ cfu/g}$ και σταθεροποιούνται. Η ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* φαίνεται να καθυστερεί την αύξηση και να σταθεροποιείτε νωρίτερα. Τα αρχικά επίπεδα των $3,48 \pm 0,018 \log \text{ cfu/g}$ σε αυτή τη μεταχείριση, έφθασαν τα $7,44 \pm 0,009 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες. Τέλος, στους 20°C παρατηρήθηκε η γρηγορότερη ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

3.2.3. Μικροβιακές Μεταβολές της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* και του *Pseudomonas* spp.

Απαρίθμηση σε Oxford agar



Εικόνα 3.2.3: Πληθυσμιακές μεταβολές της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. και του postbiotic *L. murinus* κατά τη διάρκεια αποθήκευσης τους στους 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C σε Oxford agar. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων. Τα κόκκινα σημεία αντιστοιχούν στη συγκαλλιέργεια του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* με τον αλλοιωγόνο μικροοργανισμό, *Pseudomonas* spp. (List-Pse), ενώ με μπλε χρώμα συμβολίζεται η δράση του postbiotic *L. murinus*, έπειτα από την ενσωμάτωσή του στη συγκαλλιέργεια, στα μοντέλα υποστρώματα (List-Pse-Post).

Στους 4°C, παρατηρήθηκε περιορισμένη μικροβιακή ανάπτυξη και στις δύο μεταχειρίσεις. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.2. και της εικόνας 3.2.3., τα αρχικά επίπεδα της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. βρέθηκαν στα $1,00 \pm 0,000 \log \text{ cfu/g}$ μέχρι τις πρώτες 20 ώρες, ενώ στη συνέχεια υπήρξε μια σταδιακή αύξηση του μικροβιακού φορτίου φθάνοντας τα τελικά επίπεδα των $2,70 \pm 0,010 \log \text{ cfu/g}$ στις 96 ώρες. Η ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* είχε ανασταλτική δράση με τον πληθυσμό να παραμένει σταθερός τις πρώτες 60 ώρες, με τα αρχικά επίπεδα να είναι $1,00 \pm 0,000 \log \text{ cfu/g}$, με μία μικρή αύξηση στο τέλος της περιόδου φθάνοντας τα $1,59 \pm 0,020 \log \text{ cfu/g}$ στις 96 ώρες.

Η άνοδος της θερμοκρασίας στους 8°C οδήγησε σε ταχύτερη και πιο έντονη ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.3. και της εικόνας 3.2.3., υπήρξε σταθερή αύξηση του πληθυσμού, με τα επίπεδα της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. να φτάνουν μέχρι τα $4,59 \pm 0,339 \log \text{ cfu/g}$, ενώ η προσθήκη του postbiotic μείωσε την ανάπτυξη με τα τελικά επίπεδα να φθάνουν τα $2,65 \pm 0,035 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες.

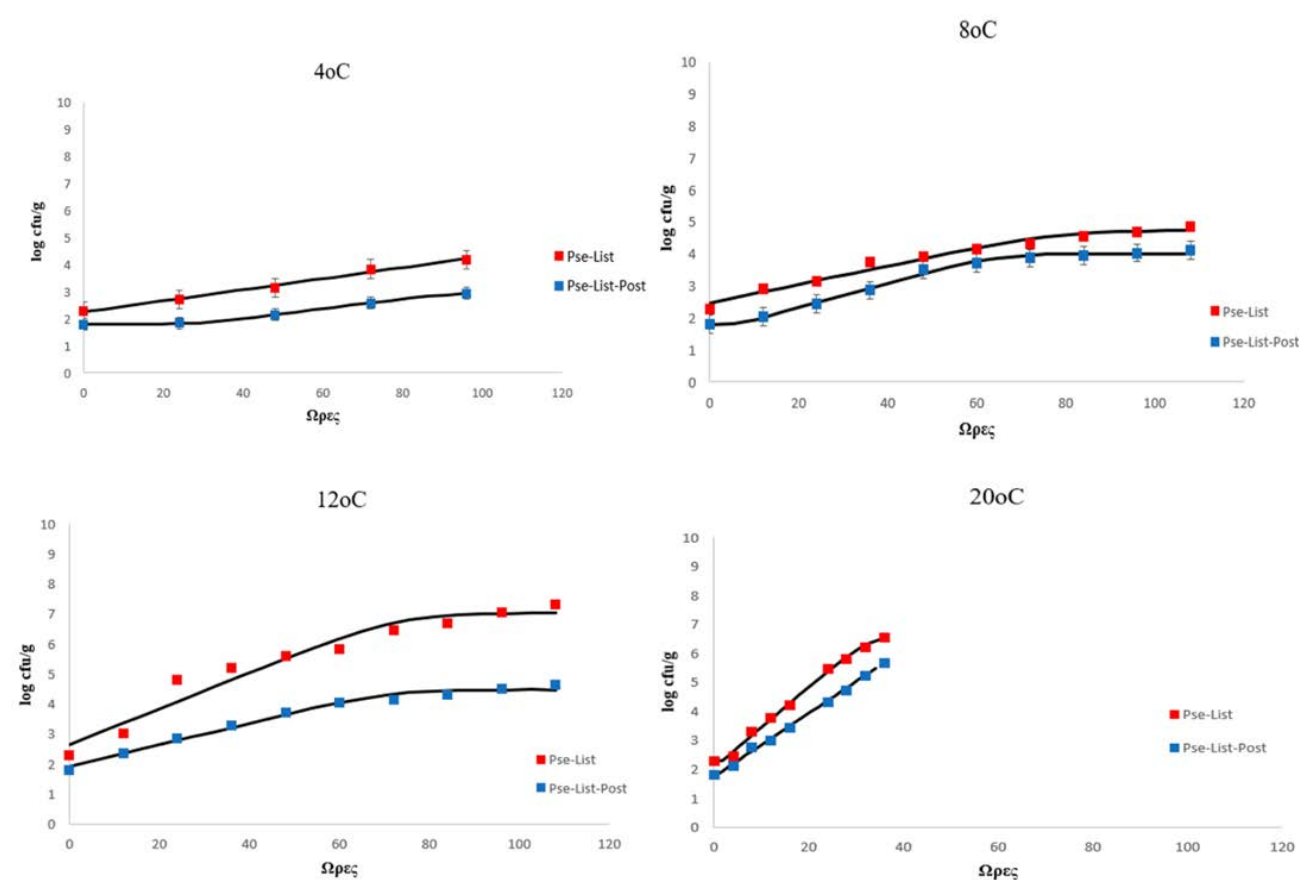
Στους 12°C οι μικροοργανισμοί εμφάνισαν έντονη ανάπτυξη. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.4. και της εικόνας 3.2.3., παρατηρείται ραγδαία ανάπτυξη της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. με τα τελικά επίπεδα να φθάνουν στα $7,23 \pm 0,030 \log \text{ cfu/g}$. Η εφαρμογή του postbiotic *L. murinus* είχε πιο αργή και χαμηλότερη ανάπτυξη φθάνοντας τα $5,05 \pm 0,123 \log \text{ cfu/g}$ στις 108 ώρες.

Τέλος η μικροβιακή αύξηση στους 20°C ήταν ταχεία και γραμμική. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.5. και της εικόνας 3.2.3., στη συγκαλλιέργεια του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. ο πληθυσμός αυξάνεται από τα αρχικά επίπεδα των $1,00 \pm 0,000 \log \text{ cfu/g}$ στα $6,20 \pm 0,060 \log \text{ cfu/g}$ στις 36 ώρες. Παρόμοια πορεία,

αλλά με σταθερά χαμηλότερες τιμές ακολουθεί και η μεταχείριση στην ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* με τις τελικές τιμές να φθάνουν τα $5,76 \pm 0,119 \log \text{ cfu/g}$.

3.2.4. Μικροβιακές Μεταβολές της συγκαλλιέργειας του *Pseudomonas* spp. και του *Listeria monocytogenes*

Απαρίθμηση σε CFC agar



Εικόνα 3.2.4: Πληθυσμιακές μεταβολές του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. και του postbiotic *L. murinus* σε CFC agar κατά τη διάρκεια αποθήκευσης τους στους 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C. Τα σημεία αντιστοιχούν στους μέσους όρους 2 επαναλήψεων. Τα κόκκινα σημεία αντιστοιχούν στη συγκαλλιέργεια του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* με τον αλλοιωγόνο μικροοργανισμό, *Pseudomonas* spp. (List-Pse), ενώ με μπλε χρώμα συμβολίζεται η

δράση του postbiotic *L. murinus*, έπειτα από την ενσωμάτωση του στη συγκαλλιέργεια, στα μοντέλα υποστρώματα (List-Pse-Post).

Στους 4°C παρατηρείται σχετικά αργή αύξηση του μικροβιακού φορτίου. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.2. και της εικόνας 3.2.4., τα αρχικά επίπεδα της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. από $2,28 \pm 0,020$ log cfu/g φθάνουν τα τελικά επίπεδα των $4,18 \pm 0,129$ log cfu/g στις 96 ώρες. Η ενσωμάτωση του postbiotic *L. murinus* είχε ανασταλτική δράση με τον πληθυσμό από $1,80 \pm 0,096$ log cfu/g, να φθάνει τα $2,94 \pm 0,041$ log cfu/g.

Στους 8°C, η ανάπτυξη είναι πιο έντονη. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.3. και της εικόνας 3.2.4., τα επίπεδα της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. φθάνουν τα $4,85 \pm 0,026$ log cfu/g. ενώ η δεύτερη μεταχείριση με τη προσθήκη του postbiotic φέρει ήπια ανασταλτική δράση με τα τελικά επίπεδα να φθάνουν τα $4,11 \pm 0,016$ log cfu/g.

Στους 12°C σημειώνεται έντονη μικροβιακή αύξηση καθώς και η μεγαλύτερη διαφοροποίηση μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.4. και της εικόνας 3.2.4., παρατηρείται απότομη ανάπτυξη της συγκαλλιέργειας του *Listeria monocytogenes* με το *Pseudomonas* spp. με τα τελικά επίπεδα να φθάνουν στα $7,32 \pm 0,036$ log cfu/g. Αντίθετα κατά τη διάρκεια της προσθήκης του postbiotic, παρατηρείτε μία σταθεροποίηση της ανάπτυξης από τις 60 ώρες και μετά με τα τελικά επίπεδα να φθάνουν τα $4,65 \pm 0,036$ log cfu/g στις 108 ώρες.

Τέλος στους 20°C οι καμπύλες εμφανίζουν την ταχύτερη ανάπτυξη σε σχέση με τις υπόλοιπες θερμοκρασίες. Από τα δεδομένα του πίνακα 3.1.5. και της εικόνας 3.2.4., και οι δύο μεταχειρίσεις φαίνεται να αυξάνονται απότομα με τις διαφορές τους να είναι μικρότερες συγκριτικά με τις υπόλοιπες θερμοκρασίες. Η συγκαλλιέργεια του *Listeria*

monocytogenes με το *Pseudomonas* spp. φθάνει τα τελικά επίπεδα των $6,56 \pm 0,021 \log$ cfu/g με την επίδραση του postbiotic στη δεύτερη μεταχείριση να εξασθενεί φθάνοντας τα $5,76 \pm 0,119 \log$ cfu/g.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μικροχλωρίδα αλλοίωσης αποτελεί έναν από τους βασικότερους παράγοντες υποβάθμισης της ποιότητας των τροφίμων. Η παρουσία και η ανάπτυξή της επηρεάζεται από παράγοντες όπως η φύση της επιμόλυνσης, οι ενδογενείς παράμετροι (pH, ενεργότητα νερού, δυναμικό οξειδοαναγωγής), οι εξωτερικές συνθήκες (θερμοκρασία, ατμόσφαιρα), οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις και οι τεχνολογικές επεξεργασίες (Parlapani et al., 2018).

Η ασφάλεια και η ποιότητα των τροφίμων παραμένουν βασική προτεραιότητα για τη βιομηχανία, καθώς η παρουσία παθογόνων ή αλλοιωγόνων μικροοργανισμών μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις στη δημόσια υγεία και στην εμπορική αξία των προϊόντων. Ενώ παραδοσιακά βασιζόμασταν σε θερμικές επεξεργασίες και χημικά συντηρητικά, οι σύγχρονες καταναλωτικές τάσεις ευνοούν φυσικά συστατικά και προϊόντα «καθαρής ετικέτας», ενισχύοντας την ανάγκη για φυσικά, ασφαλή και αποτελεσματικά μέσα βιοσυντήρησης. Σε αυτό το πλαίσιο, οι μεταβολίτες των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), γνωστοί ως postbiotics, έχουν προσελκύσει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον. Οι ενώσεις αυτές περιλαμβάνουν οργανικά οξέα, βακτηριοσίνες, πεπτίδια και άλλες βιοδραστικές ουσίες με αντιμικροβιακές ιδιότητες (Wegh et al., 2019).

Έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να αναστείλουν την ανάπτυξη τόσο παθογόνων όσο και αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, καθιστώντας τα πολλά υποσχόμενα φυσικά συντηρητικά. Ιδιαίτερη σημασία έχει η δράση τους έναντι βακτηρίων όπως το *Listeria monocytogenes*, η οποία μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί σε ψυχρές συνθήκες, και τα *Pseudomonas* spp., κύριοι αλλοιωγόνοι οργανισμοί σε νωπά τρόφιμα ζωικής προέλευσης (Osek & Wiczorek, 2022; Arslan et al., 2011).

Μελέτες έχουν δείξει ότι postbiotics από LAB, ιδίως ψυχρόφιλα στελέχη, προκαλούν βλάβες στις κυτταρικές μεμβράνες των *Pseudomonas*, αναστέλλοντας τη δράση τους και την έκφραση πρωτεολυτικών ενζύμων (Sun et al., 2024). Αντίστοιχα, παρατηρήθηκε αναστολή σχηματισμού biofilm και μείωση της ανάπτυξης της *Listeria* (Hossain et al., 2021).

Η παρούσα μελέτη εξέτασε τη δράση ενός postbiotic, προϊόντος του *Ligilactobacillus murinus*, έναντι δύο ομάδων μικροοργανισμών: της *Listeria monocytogenes* και των *Pseudomonas* spp. Η βακτηριακή ανάπτυξη, παρακολουθήθηκε σε τέσσερις διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης, 4°C, 8°C, 12°C και 20 °C, τόσο σε μονοκαλλιέργειες για τον κάθε μικροοργανισμό ξεχωριστά, όσο και σε συνδυασμένες καλλιέργειες.

Σε όλες τις θερμοκρασίες, η παρουσία του postbiotic οδήγησε σε σημαντική μείωση της ανάπτυξης του *Listeria*, ιδιαίτερα στις υψηλότερες θερμοκρασίες (12°C και 20°C). Η διαφορά σε επίπεδο πληθυσμών έφτανε τα 2–3 log cfu/g. Στους 4°C, η ανάπτυξη ήταν περιορισμένη γενικά, αλλά η επίδραση του postbiotic διατήρησε τον πληθυσμό σε ακόμα χαμηλότερα επίπεδα. Η παρουσία του postbiotic μείωσε τον τελικό πληθυσμό των *Pseudomonas* spp. έως και κατά 7 log cfu/g σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου. Ακόμα και στους 20°C, η δράση του postbiotic παρέμεινε εμφανής, αν και λιγότερο έντονη. Η συνύπαρξη των δύο μικροοργανισμών, στη συνδυασμένη καλλιέργεια, παρουσίασε ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις, ιδιαίτερα σε ψυχρές θερμοκρασίες, οδηγώντας σε χαμηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης. Η εφαρμογή του postbiotic ενίσχυσε περαιτέρω την ανασταλτική δράση, μειώνοντας σημαντικά τους πληθυσμούς και των δύο μικροοργανισμών.

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν την αντιμικροβιακή δράση του postbiotic του *Ligilactobacillus murinus*, ενισχύοντας τη θέση του ως φυσικό συντηρητικό. Η αναστολή της ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* ακόμη και σε θερμοκρασίες ψύξης, ενισχύει τη δυνατότητα χρήσης του postbiotic σε ευαλλοίωτα προϊόντα. Παρόμοια, η καταστολή της ανάπτυξης των *Pseudomonas spp.* αποτελεί σημαντικό στοιχείο για τη βιοσυντήρηση νωπών τροφίμων.

Η δράση των postbiotics πιθανότατα οφείλεται σε συνδυαστικό μηχανισμό: μείωση του pH, παραγωγή οργανικών οξέων, διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης, παρεμπόδιση ενζύμων και αναστολή σχηματισμού biofilm (Aguilar-Toala et al., 2018). Επίσης, η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στις ενδιάμεσες θερμοκρασίες (8°C και 12°C) δείχνει ότι τα postbiotics είναι ιδανικά για εφαρμογές εντός της ψυκτικής αλυσίδας.

Σημειώνεται ότι στους 20°C η ανασταλτική δράση του postbiotic ήταν μειωμένη, πιθανόν λόγω αυξημένων μεταβολικών ρυθμών των βακτηρίων ή μειωμένης σταθερότητας ορισμένων postbiotic ενώσεων (Wegh et al., 2019).

Τα ευρήματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες:

- Zhou et al. (2021) παρατήρησαν διαταραχή της κυτταρικής μεμβράνης σε *Listeria monocytogenes* μετά από εφαρμογή postbiotics.
- Zhou et al. (2022) ανέφεραν μείωση έως και 5 log cfu/g σε *E. coli* και *S. aureus* με εφαρμογή postbiotics σε επιφάνειες επεξεργασίας τροφίμων.
- Yang et al. (2022) κατέγραψαν μείωση του μικροβιακού φορτίου σε προϊόντα τύπου frankfurter, χωρίς αλλοίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών.

Συμπερασματικά διαπιστώθηκε ότι η χρήση postbiotics, όπως αυτοί του *L. mirinus*, αποτελεί μια φυσική και αποτελεσματική στρατηγική για τη βιοσυντήρηση των τροφίμων, ενισχύοντας τόσο την ασφάλεια όσο και τη διάρκεια ζωής των προϊόντων, χωρίς την ανάγκη χημικών συντηρητικών. Η παρούσα μελέτη κατάφερε να δημιουργήσει έναν proof-of-concept χαρακτήρα, καθώς πραγματοποιήθηκε σε μοντέλα υποστρώματα και όχι σε πραγματικές μήτρες τροφίμων όπως κρέας, γάλα ή έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποτελεί περιορισμό εξωτερικής εγκυρότητας, ωστόσο τα ευρήματα παρέχουν ισχυρές ενδείξεις για τη δυνατότητα εφαρμογής των postbiotics ως φυσικών βιοσυντηρητικών παραγόντων. Συνολικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ενισχύουν τη θέση των postbiotics ως βιώσιμες και καινοτόμες λύσεις για τη σύγχρονη βιομηχανία τροφίμων.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η θερμοκρασία αποθήκευσης αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη του μικροβιακού φορτίου σε τρόφιμα.
- Η εφαρμογή postbiotic μεταβολίτη, προερχόμενου από οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB), είχε ανασταλτική επίδραση στην ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου σε όλες τις θερμοκρασίες που εξετάστηκαν.
- Η μέγιστη αποτελεσματικότητα παρατηρήθηκε στους 8°C και 12°C, όπου υπήρξε καθυστέρηση ή και πλήρης αναστολή της βακτηριακής αύξησης, ειδικά κατά τις πρώτες ώρες αποθήκευσης.
- Η ανασταλτική δράση πιθανόν οφείλεται στην παρουσία οργανικών οξέων, βακτηριοσινών και άλλων αντιμικροβιακών ενώσεων που παράγονται από LAB.
- Στους 4°C, η επίδραση του postbiotic ήταν λιγότερο έντονη, λόγω του γενικά περιορισμένου ρυθμού ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε αυτή τη θερμοκρασία.
- Στους 20°C, καταγράφηκε σημαντική βακτηριακή ανάπτυξη, αλλά η παρουσία του postbiotic μείωσε στατιστικά σημαντικά τους πληθυσμούς σε σύγκριση με το δείγμα ελέγχου.
- Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με προηγούμενες έρευνες (Aguilar-Toala et al., 2018; Wegh et al., 2019; Sun et al., 2024), επιβεβαιώνοντας τη δυναμική των postbiotics ως φυσικά συντηρητικά.
- Ιδιαίτερα ενισχύονται τα πειραματικά δεδομένα των Zhou et al. (2021–2022) και Yang et al. (2022), όπου καταγράφηκε μείωση της ανάπτυξης των *Listeria monocytogenes* και *Pseudomonas* spp.

- Η χρήση postbiotics από LAB αποτελεί υποσχόμενη στρατηγική για τη βελτίωση της ασφάλειας και ποιότητας των τροφίμων, ειδικά όταν συνδυάζεται με ήπιες συνθήκες ψύξης.
- Η προσέγγιση αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε αναλλοίωτα ή έτοιμα προς κατανάλωση προϊόντα, προσφέροντας έναν φυσικό και αποδεκτό τρόπο μείωσης του μικροβιακού κινδύνου, χωρίς τη χρήση χημικών συντηρητικών.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

1. **Adams M.R., Moss M.O. (2008).** Food microbiology (3rd ed.). Royal Society of Chemistry.
2. **Aguilar-Toalá J. E., Garcia-Varela R., Garcia H. S., Mata-Haro V., González-Córdova A.F., Vallejo-Cordoba B., & Hernández-Mendoza A. (2018).** Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 105–114.
3. **Ahansaz, N. (2023).** Lactic acid bacteria in dairy foods: Prime sources of antimicrobial agents. MDPI.
4. **Arslan S., Eyi A., & Özdemir F. (2011).** Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 5851–5856.
5. **Athan, K. (2019).** Food Microbiology and Fermentation Processes. Εκδόσεις Τζιόλα.
6. **Baranyi J., Roberts T.A. (1994).** A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology* 23(3-4), 277-294.
7. **Bintsis T. (2017).** Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529–563.
8. **Canfora E. E., Jocken J. W., & Blaak E. E. (2015).** Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, 11(10), 577–591.
9. **Charlier, C., Perrodeau, É., Leclercq, A., Cazenave, B., Pilmis, B., Henry, B., Lopes, A., Maury, M. M., Moura, A., Goffinet, F., Dieye, H. B., Thouvenot, P., Ungeheuer, M. N., Tourdjman, M., Goulet, V., de Valk, H., Lortholary, O., & Lecuit, M. (2020).** Clinical features and prognostic factors of listeriosis: The MONALISA national prospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(5), 510–519.
10. **Cintas L. M., Rodríguez J. M., Fernández M. F., Sletten K., Nes, I. F., Hernández P. E., & Holo H. (2001).** Isolation and characterization of pediocin L50, a new bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* with a broad

inhibitory spectrum. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), 2643–2648.

11. **Codex Alimentarius Commission. (2009).** Food hygiene: Basic texts (4th ed.). FAO/WHO.
12. **Doulgeraki A. I., Paramithiotis S., Kagkli D. M., & Nychas G.-J. E. (2012).** Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. *Food Microbiology*, 29(2), 187–196.
13. **Doyle, M. P., Beuchat, L. R., & Montville, T. J. (2012).** Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers (4th ed.). ASM Press.
14. **Florou-Paneri P., Christaki E., & Bonos E. (2013).** Lactic acid bacteria as a source of functional ingredients. In *Microbial Biotechnology in Food and Health* (pp. 123–145).
15. **Gomila M., Peña A., Mulet M., Lalucat J., & García-Valdés, E. (2015).** Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 214.
16. **Gram L., Ravn L., Rasch M., Bruhn, J. B., Christensen A. B., & Givskov M. (2002).** Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 79–97.
17. **Holzappel W.H. (1997).** Use of Lactobacilli in foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 149-179.
18. **Havelaar A. H., Kirk M. D., Torgerson P. R., Gibb H. J., Hald T., Lake R. J., Praet N., Bellinger D. C., de Silva N. R., Gargouri N., Speybroeck N., Cawthorne A., Mathers C., Stein C., Angulo F. J., & Devleesschauwer B. (2015).** World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. *PLoS Medicine*, 12(12), e1001923.
19. **Hossain M.I., Mizan M.F.R., Roy P.K., Nahar S., Toushik S.H., Ashrafudoula M., Jahid I.K., Lee J., & Ha S.-D. (2021).** *Listeria monocytogenes* biofilm inhibition on food contact surfaces by application of postbiotics from *Lactobacillus plantarum* M.2. *Food Research International*, 148, 110595.
20. **Hosseini, M., Dehghan, P., & Gandomi, H. (2022).** Evaluating the antimicrobial effect of postbiotic extract from *Lactobacillus casei* on

- Escherichia coli in commercial sterilized milk. *Journal of Food Safety and Hygiene*, 8(1), 25–32.
21. **Jadhav S., Bhawe M., & Palombo E. A. (2012).** Methods used for the detection and subtyping of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Microbiological Methods*, 88(3), 327–341.
 22. **Jamali H., Radmehr B., & Thong K. L. (2015).** Prevalence, characterisation, and antimicrobial resistance of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk in farm bulk tanks. *Food Control*, 49, 119–123.
 23. **Jay J. M., Loessner M. J., & Golden D. A. (2005).** *Modern Food Microbiology* (7th ed.). Springer.
 24. **Jeppesen N. (1995).** Selective media for *Pseudomonas* isolation. *Journal of Applied Bacteriology*, 79(1), 123–128.
 25. **Karanth, S., Sharma, A., Patel, R., Nguyen, T., Oliveira, M., Kim, H., Li, J., & Thompson, D. (2023).** Linking microbial contamination to food spoilage and (cross)contamination events on food loss and waste. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1198124.
 26. **Mani-López E., García H. S., & López-Malo A. (2020).** Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International*, 137, 109489.
 27. **Mardani S., Moradi M., Tajik H., & Divsalar E., (2025).** Chia seed mucilage film with *Lactobacillus acidophilus* LA-5 postbiotics: Preparation and antimicrobial performance in ultra-filter cheese against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Biological Macromolecules* 308, 142411.
 28. **Mead G. C. (1985).** *Meat microbiology: Advances and applications*. Applied Science Publishers.
 29. **Moradi M., Guimarães J. T., Hussein W. E., Balthazar C. F., Qian C., Zhang L., & Cruz A. G. (2020).** Postbiotics: A novel trend in food safety and functional foods. *Food Reviews International*, 36(6), 610–639.
 30. **Mosqueda-Melgar J., Raybaudi-Massilia, R. & Martín-Belloso O. (2023).** Phenyllactic acid as a natural antimicrobial compound in food preservation. *Frontiers in Microbiology*, 14, 115–128.

31. Nagpal R., Kumar M., Yadav A. K., Hemalatha R., Yadav H., Marotta F., Yamashiro, Y. (2020). Gut microbiota and probiotics: Current status and future perspectives. *Journal of Clinical Medicine*, 9(11), 3533.
32. Nychas G.-J. E., Skandamis P. N., Tassou C. C., & Koutsoumanis K. P. (2007). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1–2), 77–89.
33. Nychas G.-J. E., Panagou E. Z., Mohareb F., & Skandamis P. N. (2008). New approaches to food preservation. In A. Taylor & F. J. Francis (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 111–118). Academic Press.
34. Osek, J. & Wiecek K. (2022). *Listeria monocytogenes*—How this pathogen uses its virulence mechanisms to infect the hosts. *Pathogens*, 11(12), 1491.
35. Papadopoulou O. S., Chorianopoulos N. G., Gkerekou M. A., Koutsoumanis K. P., & Nychas G.-J. E. (2011). Transfer of foodborne pathogenic bacteria to non-inoculated beef fillets through meat mincing machine. *Meat Science*, 88(3), 408–413.
36. Parlapani F.F., Malouchos A., Haroutounian S.A., Boziaris I.S. (2014). Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions. *International Journal of Food Microbiology* 189,153-163.
37. Parlapani F.F., Meziti A., Kormas Ar.K. & I.S. Boziaris (2013). Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis. *Food Microbiology* 33, 85-89.
38. Parlapani, F. F., Michailidou, S., Pasentsis, K., Argiriou, A., Krey, G., & Boziaris, I. S. (2018). A meta-barcoding approach to assess and compare the storage temperature-dependent bacterial diversity of gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) originating from fish farms from two geographically distinct areas of Greece. *International Journal of Food Microbiology*, 278, 36-43.
39. Petitfils, C., Chatel, J.-M., Bruneau, A., Rousset, P., Dall'Asta, M., Froidure, A., ... & Gourcerol, G. (2022). Identification of bacterial lipopeptides as key players in irritable bowel syndrome. *Gut*, 71(11), 2260–2271.

40. **Quereda J. J., Morón-García Á., Palacios-Gorba C., Dessaux C., García-del Portillo F., Pucciarelli M. G., & Ortega Á. D. (2021).** Pathogenicity and virulence of *Listeria monocytogenes*: A trip from environmental to medical microbiology. *Pathogens*, 10(8), 983.
41. **Sahu A., & Bala S. (2017).** Microbial spoilage of bakery products and preservation: A review. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*, 4(12), 2394–3386.
42. **Santana G.B., Quelemes P.V., Silva Neta E.R., Lima S.G., & Vale G.C., (2024).** Chemical Characterization and Effect of a Lactobacilli-Postbiotic on *Streptococcus mutans* Biofilm In Vitro. *Microorganisms* 12 (5), 843.
43. **Sevindik M., & Uysal I. (2021).** Fungal diversity associated with edible wild mushrooms in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(1), 915–920.
44. **Smith J. L., Fratamico P. M., & Novak J. S. (2004).** Quorum sensing in *Listeria monocytogenes*: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 253–264.
45. **Stiles M.E., & Holzapfel W.E. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36(1), 1-29.
46. **Sun Y., Wei T., Ma T., Fan Z., & Song J. (2024).** *Dellaallocia algida* cell-free supernatant inhibits *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi* by destroying cell membranes. *Foods*, 13(18), 2986.
47. **Vinderola G., Sanders M.E., & Salminen S., (2022).** The Concept of Postbiotics. *Foods*, 11, 1077
48. **Wegh, C. A. M., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., & Belzer, C. (2019).** Postbiotics and Their Potential Applications in Early Life Nutrition and Beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4673.
49. **Yang H., Jeong D., & Kim H., (2022).** Combined effect of chitosan and postbiotic from *Pediococcus acidilactici* on microbial inhibition in ready-to-eat meat products. *LWT-Food Science and Technology*, 154, 112814.
50. **Yilmaz, Y. (2024).** Postbiotics as antiinflammatory and immune-modulating bioactive compounds in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 68(1), 2200754.

51. **Zhang, Y., Liu, Y., Chen, J., Li, H., & Wang, X. (2025).** Inhibitory efficacy, production dynamics, and characterization of postbiotics of lactic acid bacteria. *BMC Microbiology*, 25(1), 123.
52. **Zhou F., Wang H., Xu H., & Zhao J., (2021).** Antimicrobial mechanisms of probiotic-derived postbiotics against foodborne pathogens. *Food Control*, 123, 107722.
53. **Zhou X., Zhang W., & Chao Y., (2022).** Antibacterial potential of postbiotics from *Lactobacillus spp.* on food-contact surfaces: Biofilm inhibition and membrane disruption. *Food Microbiology*, 102, 103949.

Ελληνική βιβλιογραφία

1. **Κριτή Ε.Ι. (2023).** Μελέτη της αποτελεσματικότητας του ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος στον έλεγχο της ανάπτυξης επιλεγμένων αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Μεταπτυχιακή μελέτη. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
2. **Νίπη Α.Γ. (2014).** Καθορισμός και χαρακτηρισμός των αντιμικροβιακών ουσιών που παράγονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια *Lactobacillus fermentum* ACA-DC 179 και *Lactobacillus rennin* ACA-DC 565. Μεταπτυχιακή μελέτη. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
3. **Παπαδοπούλου Ο.Σ., (2013).** Εκτίμηση της αλλοίωσης του κρέατος με σύγχρονες μεθόδους. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Ηλεκτρονικές πηγές

1. **FAO. (2009).** How to feed the world in 2050. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <http://www.fao.org>
2. **Food Quality and Safety. (2021).** Microbial contamination and food safety: Implications for public health. *Food Quality and Safety*, 5(1), 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyab019>
3. **Kouris A. (2019).** Food microbiology and lactic acid bacteria metabolism. Available at: <https://www.dairy-services.com>
4. **New Food Magazine. (2013).** Shelf life and food spoilage. *New Food Magazine*. Available at: <https://www.newfoodmagazine.com>

5. **Nutricia (2024).** Postbiotics and gut health: an emerging field of research to support the immune system. Available at: <https://www.nutricia.ie>
6. **World Health Organization (WHO). (2020).** Foodborne diseases. Available at: <https://www.who.int>