



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ  
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«*ΒΙΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ* ΑΛΙΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ  
ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ»**

**Μπούσδρα Θεοδώρα**

**ΒΟΛΟΣ 2018**

Η παρούσα *Διπλωματική Εργασία*  
εκπονήθηκε στα πλαίσια των *προπτυχιακών σπουδών*  
για την απόκτηση του *Διπλώματος Ειδίκευσης του Ιχθυολόγου,*  
που απονέμει το  
*Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος,*  
του *Πανεπιστημίου Θεσσαλίας*

Εγκρίθηκε από διμελή *Εξεταστική Επιτροπή (Δ.Ε.Ε)*, αποτελούμενη από τους :

1. **Μποζιάρης Ιωάννης**, Αναπληρωτής Καθηγητής (M.Sc., Ph.D.), γνωστικό αντικείμενο: Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών (*επιβλέπων καθηγητής*)
2. **Γκολομάζου Ελένη**, Επίκουρη Καθηγήτρια (Δρ.), γνωστικό αντικείμενο: Προστασία – Ευζωία Ιχθύων (*εξεταστικό μέλος*)

*Αφιέρωση,*  
εξαιρετικά στη *μαμά* μου,  
το *''στήριγμά''* μου σε  
αυτή την ερευνητική μου δοκιμασία

## Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία είναι αποτέλεσμα εκτενούς αναζήτησης και έρευνας. Θα ήθελα να απευθύνω θερμές ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Μποζιάρη Ιωάννη για την καθοδήγηση και την άμεση και ουσιαστική βοήθεια, που μου παρείχε κατά τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Ευχαριστώ επίσης, την κ. Γκολομάζου Ελένη, η οποία με τίμησε με την συμμετοχή της στη διμελή επιτροπή εξέτασης της διπλωματικής εργασίας. Αισθάνομαι ιδιαίτερη ανάγκη να ευχαριστήσω τους καθηγητές του *Τμήματος* για την αμέριστη υποστήριξη που μου έδωσαν, χωρίς την οποία η εργασία αυτή δε θα ήταν δυνατή.

Τέλος, δε μπορώ να μην αναφερθώ στην οικογένειά μου, που ήταν δίπλα μου σε κάθε μου βήμα. Χρωστάω σε όλους ένα μεγάλο ευχαριστώ!

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>9</b>
1.1 Από την παραδοσιακή διαδικασία της Ζύμωσης στην καινοτόμο μέθοδο της Βιοσυντήρησης.....	9
<b>2. ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ.....</b>	<b>12</b>
2.1 Καλλιέργειες Εκκίνησης ( <i>Starter Cultures</i> ).....	12
2.1 Προστατευτικές καλλιέργειες ( <i>Bio-protective cultures</i> ).....	15
<b>3. ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ (<i>Lactic Acid Bacteria</i>).....</b>	<b>14</b>
3.1 Η δράση τους στα τρόφιμα.....	15
3.1.1 Οργανικά οξέα ( <i>Organic Acids</i> ).....	16
3.1.2 Υπεροξείδιο του Υδρογόνου ( $H_2O_2$ ).....	17
3.1.3 Διοξείδιο του Άνθρακα ( $CO_2$ ).....	18
3.1.4 Διακετύλιο ( <i>diacetyl</i> ).....	18
3.2 Βακτηριοσίνες.....	19
3.2.1 Νισίνη ( <i>Nisin</i> ).....	23
<b>4. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ: ΜΙΑ ΙΔΙΑΙΤΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΒΙΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ.....</b>	<b>24</b>
<b>5. ΜΥΚΗΤΕΣ.....</b>	<b>26</b>
<b>6. ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ.....</b>	<b>28</b>
6.1 Ο ρόλος των <i>Ενδολυσινών</i> .....	29
6.1.1 Χρήση των <i>ενζύμων</i> .....	31
<b>7. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΑ ΑΛΙΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....</b>	<b>32</b>
<b>8. Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΕΜΠΟΔΙΩΝ (<i>HURDLE TECHNOLOGY</i>).....</b>	<b>37</b>
8.1 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ ΣΤΗΝ <i>ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΕΜΠΟΔΙΩΝ</i> .....	39
<b>9. ΕΠΙΛΟΓΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ.....</b>	<b>43</b>
<b>10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>45</b>

**11. ABSTRACT.....52**

## «**ΒΙΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗ** ΑΛΙΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ»

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

Η αποθήκευση των *τροφίμων* αποτελούσε επίμαχο ζήτημα για τους ανθρώπους, ανά τους αιώνες, καθώς η *συντήρησή* τους ήταν και εξακολουθεί να είναι αναγκαία.

Μία από τις διαδικασίες που ακολουθείτο, ήταν και η *ζύμωση*. Η διαδικασία *συντήρησής* της στηρίζεται αποκλειστικά στο μεταβολισμό της *μικροχλωρίδας* των *τροφίμων*. Βρίσκει όμως, εφαρμογή σε ορισμένες ομάδες εξ αυτών. Με την πρόοδο των επιστημών και της τεχνολογίας, έχει μελετηθεί πλήρως και κατανοηθεί ο τρόπος “λειτουργίας” της. Επίσης, έχει βρεθεί ότι αποτελεί μία μορφή ***βιοσυντήρησης***, μίας μεθόδου, όπου η *συντήρηση* των *τροφίμων* επέρχεται ως αποτέλεσμα της ανάπτυξης και αλληλεπίδρασης των διάφορων *μικροοργανισμών* στο ίδιο το *τρόφιμο*, που λειτουργεί ως “μικρο-οικοσύστημα”. Εξαιτίας των “ειδικών” περιβαλλοντικών συνθηκών σε κάθε *τρόφιμο*, η εκ φύσεως *μικροβιακή* αύξηση, που ευνοείται, καθώς και η παραγωγή *μεταβολιτών*, φαινόμενο αρκετά συχνό, έχουν ως αποτέλεσμα την επέκταση της *διάρκειας ζωής* και της *ασφάλειας* του *τροφίμου*.

Στη *βιοσυντήρηση* συμμετέχουν *μικροοργανισμοί* όλων των φυλετικών γενών, *βακτήρια*, *μύκητες*, *ιοί*, καθώς και άλλα βιομόρια. Παρόλα αυτά, κύριοι αντιπρόσωποι της, στη βιολογική δράση των οποίων στηρίζεται η εφαρμογή της, αποτελούν τα *LAB*(οξυγαλακτικά *βακτήρια*) και οι *βακτηριοσίνες*, που παράγουν. Η εφαρμογή τους μάλιστα κρίνεται ως αποτελεσματική, καθώς σε πολλά είδη *τροφίμων* έχει επιτευχθεί *συντήρησή* τους, με τη θανάτωση ή καταστολή των *αλλοιογόνων* παραγόντων. Δύο από τους λόγους συχνότερης χρήσης τους απ’ ότι εκείνη των υπόλοιπων *μικροοργανισμών*, αποτελούν: η πληθώρα τους ως *μικροβιακά* είδη και η φυσική τους παρουσία στα *τρόφιμα*.

Από την άλλη πλευρά, αντιπροσωπευτικό παράδειγμα προϊόντων διατροφής, ως μικροπεριβάλλοντα για την δράση των *μικροοργανισμών*, είναι τα *αλιεύματα* και γενικότερα, τα *θαλασσινά*. Ο ρυθμός κατανάλωσής τους συνδέεται με τον τρόπο ζωής και τους κανόνες υγιεινής διατροφής. Η ευπάθεια τους ως *τρόφιμα* είναι χαρακτηριστική.

Οι παραπάνω επισημάνσεις αποτελούν κυρίως τους λόγους επιλογής και μελέτης τούς ως μικροπεριβάλλοντα, για να διαπιστωθεί εν τέλει, ότι η μέθοδος της **βιοσυντήρησης** χαρακτηρίζεται από στενό φάσμα εφαρμογής στα *αλιευτικά προϊόντα* και τα *θαλασσινά*. Στο μέλλον, ‘‘κλειδί’’ για την διεύρυνση της μεθόδου - η εφαρμογή της οποίας βρίσκεται, μέχρι στιγμής, σε πειραματικό στάδιο ή αποτελεί μόνο έναν από τους φραγμούς της *τεχνολογίας εμποδίων* - θα αποτελέσει η χρήση *μοριακών εργαλείων*.

**Λέξεις-κλειδιά:** *βιο-συντήρηση, ζύμωση, μικροοργανισμοί, μεταβολίτες, τρόφιμα, θαλασσινά, αλλοίωση, μικροβιακή καλλιέργεια, τεχνολογία εμποδίων, μοριακά εργαλεία*



## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ιστορικά, η προσπάθεια των ανθρώπων να αποθηκεύσουν τα *τρόφιμα*, έπειτα από την σύγκομιδή τους, αποτελεί ενέργεια, η οποία έχει καταγραφεί από τις αρχές της Νεολιθικής περιόδου δηλαδή, πριν 10.000 χρόνια περίπου.

Η διαθεσιμότητα *ασφαλών τροφίμων*, τροφίμων δηλαδή, που τηρούσαν τους κανόνες ασφαλείας και παράλληλα, ήταν δυνατόν να αποθηκευτούν(επέκταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων) συνέβαλλε καθοριστικά στην εξέλιξη των ανθρώπινων κοινωνιών (Min-Tze Liong, 2015).

Από τις αρχές του 20ου αιώνα, η επεξεργασία(φυσική ή χημική) των τροφίμων και η διατροφή ανήκουν επίσημα, στα επιστημονικά αντικείμενα μελέτης. Επίσης, τον τελευταίο καιρό, έχει καθιερωθεί η συστηματική βάση της *συντήρησης* των τροφίμων, ιδιαίτερα μετά και την ανάπτυξη των επιστημών της *микροβιολογίας*, βιοχημείας, επεξεργασίας των τροφίμων, καθώς και πιο πρόσφατα της βιοτεχνολογίας, της γενετικής και της διατροφής (Ross P. R., Morgan S., Hill C.). Η σύγχρονη επεξεργασία τροφίμων εξαρτάται από *τεχνολογίες συντήρησης*, οι οποίες εξασφαλίζουν ότι τα *τρόφιμα* διατηρούνται σε αποδεκτό επίπεδο ποιότητας, από το χρόνο της παρασκευής έως τη στιγμή της κατανάλωσής τους.

### 1.1 ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΑΔΟΣΙΑΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΙΝΟΤΟΜΟ ΕΝΝΟΙΑ ΤΗΣ ΒΙΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Παρόλα αυτά, παραδοσιακές μέθοδοι *συντήρησης τροφίμων*, όπως είναι η ξήρανση, το αλάτισμα και η ζύμωση εξακολουθούν να εφαρμόζονται σήμερα. Συγκεκριμένα, η ζύμωση αποτελεί μία από τις παλαιότερες μεθόδους *συντήρησης*. Η δράση της δεν μπορούσε να εξηγηθεί, για αυτόν το λόγο, η διάσωσή της, μέχρι και σήμερα, στηρίχθηκε στη διάδοσή της στους επόμενους, μέσω της εμπειρικής γνώσης. Βέβαια σήμερα, ο τρόπος δράσης της πλέον, έχει περιγραφεί και εξηγηθεί επιστημονικά (Bogsan et al, 2015).

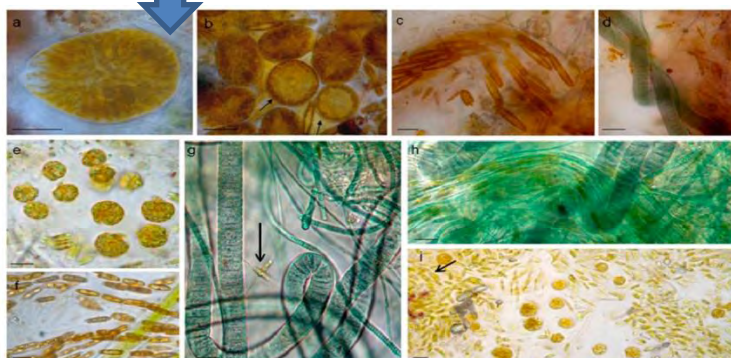
Ενδεικτικά, οι αρχαίοι Έλληνες, όπως και οι Ρωμαίοι μετέπειτα, μπορούσαν να σχηματίσουν γνώμη για το καλό φαγητό. Στη διατροφή τους περιλαμβάνονταν αρκετά είδη ζυμωμένων τροφίμων, όπως είναι: το κρασί, οι ελιές, το κρέας, το γάλα,

αλλά και προϊόντα *αλιευμάτων*. Η προετοιμασία των αλκοολούχων ποτών εξετάζεται για πρώτη φορά από τους Αιγυπτίους. Αναφορές υποδεικνύουν ότι οι νομαδικοί λαοί από την κεντρική Ασία προετοίμαζαν γιαούρτι, του είδους kumis και kefir. Στη Βόρεια Ευρώπη τα προϊόντα κρέατος, που έχουν υποστεί *ζύμωση*, αποτελούσαν μέρος των διατροφικών συνηθειών των γερμανικών φυλών. Είναι γνωστό επίσης, το ότι οι Εσκιμώοι ακολουθούσαν συγκεκριμένη διαδικασία για τη *διατήρηση των ψαριών*. Τέλος, τα προϊόντα, που έχουν υποστεί *ζύμωση*, με βάση το καλαμπόκι αποτελούσαν μέρος των διατροφικών και πνευματικών συνηθειών των ιθαγενών φυλών στην προ-Κολομβιανή Αμερική (Min-Tze Liong, 2015).

Ο *Louis Pasteur* ήταν ο πρώτος, που αναγνώρισε τη φύση της διαδικασίας, χαρακτηρίζοντάς την ως μικροβιακή «ζωή χωρίς αέρα». Η μέθοδος *συντήρησης* στη *ζύμωση* βασίζεται στη βιολογική δράση των *μικροοργανισμών*. Βέβαια, βάσει της σύγχρονης βιομηχανικής *μικροβιολογίας*, η *ζύμωση* ορίζεται ως μία διαδικασία βιομετασχηματισμού, που πραγματοποιείται από *μικροοργανισμούς* ή τα *ένζυμά* τους. Αυτό ισχύει, ανεξάρτητα από το αν διεξάγεται αναερόβιος καταβολισμός οργανικών υποστρωμάτων ή οξειδωτικός μεταβολισμός (*αναπνοή*).



**Εικόνα 1:** Αλκοολική ζύμωση στην Αρχαία Ελλάδα, απεικόνιση σε αρχαίο Αμφορέα



**Εικόνα 2:** Μικροοργανισμοί

Οι πολυάριθμες αλλαγές στις μαγειρικές συνήθειες, τις τελευταίες δεκαετίες, έχουν οδηγήσει τη βιομηχανία *τροφίμων* στην παραγωγή μίας πληθώρας ειδών προς βρώση. Παράλληλα, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον των καταναλωτών, σχετικά με τον τρόπο ζωής, που πρέπει να ακολουθήσουν, συμπεριλαμβανομένης και της διατροφής (Leroi et al., 2015). Για αυτόν το λόγο, δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στην ποιότητα των *τροφίμων*. Τα δύο παραπάνω φαινόμενα είναι αντικρουόμενα, καθώς η μεγάλη ποικιλία *τροφίμων* συνεπάγεται με την εμφάνιση και αύξηση ανεπιθύμητων και συχνά επικίνδυνων για την υγεία *μικροοργανισμών*.

Επίσης, τα τελευταία χρόνια, παραδοσιακές μέθοδοι όπως το αλάτισμα, το κάπνισμα και η κονσερβοποίηση, που εφαρμόζονται για την *συντήρηση* των *τροφίμων*, έχουν αντικατασταθεί από τις λεγόμενες *ήπιες τεχνολογίες*. Αυτόματα, η εφαρμογή αυτών συνεπάγεται με την αντίστοιχη εφαρμογή χαμηλότερων συγκεντρώσεων αλάτων, χαμηλότερης θερμοκρασίας, χαμηλής έντασης της θέρμανσης, καθώς και χρήση συσκευασίας υπό κενό ή υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα (*MAP*) (Emborg, Laursen, Rathjen & Dalgaard, 2002, Dalgaard, Madsen, Samieian, & Emborg, 2006). Ωστόσο, το μειονέκτημα αυτής της τάσης είναι ότι τα *εμπόδια* στην *ασφάλεια* μειώνονται και τα κρούσματα *τροφικών ασθενειών* μπορεί να αυξηθούν (Mejlholm et al., 2008).

Για την εναρμόνιση λοιπόν των καταναλωτικών απαιτήσεων με τα απαιτούμενα *πρότυπα ασφάλειας*, τα παραδοσιακά μέσα ελέγχου της *μικροβιακής αλλοίωσης* και των κινδύνων, για την *ασφάλεια* των *τροφίμων*, αντικαθίστανται από συνδυασμούς καινοτόμων *τεχνολογιών*, που περιλαμβάνουν βιολογικά αντιμικροβιακά συστήματα, όπως είναι και η μέθοδος της ***βιοσυντήρησης***.

Σύμφωνα με την διατύπωση των Ananou et al., (2007): ‘‘*ως βιοσυντήρηση, ορίζεται η χρήση φυσικών, αλλά και ελεγχόμενων μικροοργανισμών με ανταγωνιστική δράση και /ή των αντιμικροβιακών τους μεταβολιτών(παραγωγή), με σκοπό την επέκταση της διάρκειας ζωής και τη βελτίωση της ασφάλειας των τροφίμων.*’’

Ο *σκοπός* της παρούσας εργασίας είναι η προσπάθεια καταγραφής της παρουσίας της μεθόδου της *βιοσυντήρησης* μέσα στο χρόνο, καθώς και της εφαρμογής της στα διάφορα είδη τροφίμων, κυρίως στα *αλιεύματα* και τα *θαλασσινά*.

## **2. ΕΜΠΛΟΚΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**

Ο σύνδεσμος μεταξύ της διαδικασίας της ζύμωσης και της έννοιας της συντήρησης αποτελεί την έννοια της βιοσυντήρησης. Παρόλα αυτά, η ζύμωση δεν παύει να είναι η παλαιότερη μορφή της μεθόδου της βιοσυντήρησης.

Οι μικροοργανισμοί, που εμπλέκονται στη ζύμωση, σχεδόν πάντοτε, είναι αποτέλεσμα του εξής συνδυασμού: αποικίες διαφορετικών μικροοργανισμών (Chelule1 et al, 2016), που αναπτύσσονται υπό διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, εμφανίζουν διαφορετικές μεταβολικές ιδιότητες. Στα διάφορα ζυμωμένα τρόφιμα, αυτές οι αποικίες έχουν διαφορετικές συνθέσεις και κατά συνέπεια έχουν διαφορετικές μεταβολικές οδούς.

Με το πέρασμα του χρόνου, η βελτίωση της κατανόησης και η γνώση της πολυπλοκότητας των μικροβιακών αλληλεπιδράσεων, σε συνδυασμό με την επίδραση των συνθηκών της εκάστοτε μεθόδου συντήρησης, σε ένα τροφικό σύστημα(προϊόν) έχουν οδηγήσει στην ανακάλυψη νέων πεδίων εφαρμογής των μικροβιακών καλλιιεργειών. Επίσης, δύναται πλέον, η αξιοποίηση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών τους, για συγκεκριμένες εφαρμογές.

Η βιοσυντήρηση λοιπόν, είναι μία εναλλακτική, φυσική μέθοδος συντήρησης, που στηρίζεται στη χρήση μικροβιακών αποικιών και είναι δυνατόν να εφαρμοστεί σε μη ζυμωμένα τρόφιμα (SKLM, 2010).

### **2.1 ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΕΚΚΙΝΗΣΗΣ( *Starter Cultures* )**

Καλλιέργειες εκκίνησης μπορούν να χαρακτηριστούν τα παρασκευάσματα ενός συνόλου ή περισσότερων, μεταβολικά ενεργών, αλλά και χαμηλά ενεργών(μορφή σπορίων) μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί, όταν βρεθούν σε κατάλληλο ζυμωτικό υπόστρωμα, δηλαδή στο ζυμωμένο τρόφιμο, θέτονται σε εφαρμογή, επιταχύνοντας τη διαδικασία της ζύμωσης.

Ο στόχος της χρήσης των καλλιιεργειών εκκίνησης είναι να επηρεάσουν θετικά τη φυσική, χημική και βιολογική σύνθεση ενός τροφίμου, κατά την επεξεργασία του, προσφέροντας παράλληλα ελκυστικά γευστικές ιδιότητες στον καταναλωτή, απαίτηση του οποίου αποτελεί και η ασφάλεια του τροφίμου. Για αυτόν

τον λόγο, η εφαρμογή των καλλιιεργειών εκκίνησης βασίζεται σε ορισμένες προϋποθέσεις, κυρίως στις:

### **Προϋπόθεση 1η:**

Για να χρησιμοποιηθούν ως ‘εκκινητές’, οι μικροοργανισμοί πρέπει να πληρούν τα πρότυπα θεώρησης ως GRAS ουσίες (ασφάλεις προς βρώση ουσίες) και να μην παρουσιάζουν κανένα ίχνος παθογένειας ή και τοξικότητας (Ananou et al, 2007).

### **Προϋπόθεση 2η:**

Έπειτα από πειραματική δοκιμή, θα πρέπει να έχει αποδειχθεί η δυνατότητα τυποποίησης της δράσης των καλλιιεργειών εκκίνησης στα βιομηχανικά προϊόντα, καθώς και η δυνατότητα δράσης των μικροβιακών καλλιιεργειών σε τακτά χρονικά διαστήματα(διαδοχική αναπαραγωγή) (Ananou et al, 2007).

### **Προϋπόθεση 3η:**

Η επιλογή των βακτηρίων-‘εκκινητών’ πρέπει να γίνεται ανάλογα με το είδος τροφίμου (Ananou et al, 2007).

Αρχικά, ως καλλιιεργειες εκκίνησης ορίζονταν ‘ακαθόριστες’ μικροβιακές καλλιιεργειες ενός ή περισσότερων ομάδων μικροβιοτών. Χαρακτηρίζονται, μέχρι και σήμερα, ως ‘ακαθόριστες’, διότι αυτές οι μικροβιακές καλλιιεργειες υπόκεινται σε συνεχή μεταβολή της σύνθεσής τους, καθώς τα στελέχη μπορεί να εξαφανιστούν ή να μεταλλαχθούν ή να μεταβάλλουν τις ιδιότητές τους μετά από επιθέσεις φάγων.

Πλέον λοιπόν με τη χρήση ‘καθορισμένων’ μικροβιακών καλλιιεργειών, οι οποίες λειτουργούν ως καλλιιεργειες εκκίνησης, ελέγχεται περισσότερο η διαδικασία της ζύμωσης. Ανάλογα με τα είδη των μικροοργανισμών που συνθέτουν την καλλιιεργεια, οι καλλιιεργειες εκκίνησης κατατάσσονται ως εξής:

- ❖ Καλλιιεργειες με ένα μικροβιακό στέλεχος: περιέχουν ένα στέλεχος ενός μικροβιακού είδους.
- ❖ Καλλιιεργειες πολλαπλών στελεχών: περιέχουν περισσότερες από μία ομάδες ενός μικροβιακού είδους.
- ❖ Μεικτές καλλιιεργειες πολλαπλών στελεχών: περιέχουν διαφορετικά στελέχη από διαφορετικά μικροβιακά είδη. (SKLM, 2010)

Η χρήση καλλιιεργειών *εκκίνησης* συνδέεται με τα *ζυμωτικά τρόφιμα*, όπως είναι το γάλα, το κρέας, το κρασί, τα λαχανικά και τα φρούτα. Να σημειωθεί ότι οι καλλιιεργειες *εκκίνησης* χαρακτηρίζονται ανάλογα με τον τύπο *τρόφιμου*, στο οποίο βρίσκουν εφαρμογή. Το τελευταίο υποστηρίζεται από διάφορες μελέτες σε: γαλακτοκομικά προϊόντα: Teuber (2000), προϊόντα με βάση το κρέας: Hammes W. P. και Hertel C. (1998), κρασί: Lonvaud-Funel (1997) και Krieger-Weber (2009), μύρα: Bohak et al. (1998), χυμός φρούτων και λαχανικών: Buckenhüskes, (2001). Παρόλα αυτά, το πιο προηγμένο στάδιο εφαρμογής των καλλιιεργειών *εκκίνησης* έχει επιτευχθεί στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Ορισμένα από τα οφέλη της χρήσης των καλλιιεργειών *εκκίνησης* είναι:

- η παραγωγή *τροφίμων*, σταθερά υψηλής ποιότητας
- η ελαχιστοποίηση της πιθανότητας εμφάνισης *τροφογενών* κινδύνων, που σχετίζονται με την υγιεινή
- δυνατότητα ελέγχου του χρόνου διάρκειας και της διαδικασίας της *ζύμωσης*.
- δυνατότητα προσθήκης σε είδη *τροφίμων*, τα οποία δεν προκύπτουν φυσικά, χωρίς εξωτερική παρέμβαση, μέσω της *ζύμωσης*.

Η *μικροβιακή* ανάλυση των *ζυμωμένων* τροφίμων αναδεικνύει την ύπαρξη νέων *μικροοργανισμών*, οι οποίοι προστίθενται στην ομάδα εκείνων, που συνθέτουν τις καλλιιεργειες *εκκίνησης*. Με αυτό τον τρόπο, στη βιομηχανία *τροφίμων*, η εφαρμογή των καλλιιεργειών *εκκίνησης* συνεχώς επιδέχεται βελτίωση, φέροντας σημαντικά αποτελέσματα. Ενδεικτικά, εύρημα της ανάλυσης των ‘κόκκινων’ τυροκομικών προϊόντων αποτελεί ο περιορισμός της δράσης του παθογόνου *βακτηρίου*, *L. monocytogenes* με την προσθήκη ποικίλων νέων *μικροοργανισμών*, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ‘*εκκινητές*’ (Bockelmann et al., 2005).



**Εικόνα 3:** Εμπορική συσκευασία, που περιέχει *Καλλιιεργεια εκκίνησης*

Από τις επιστημονικές έρευνες για τη δράση των καλλιεργειών *εκκίνησης*, έχουν προκύψει τόσο τα *προβιοτικά*(*probiotics*), όσο και οι *προστατευτικές καλλιέργειες*(*protective cultures*).

## **2.2 ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ (PROTECTIVE CULTURES)**

Η ανακάλυψη ότι ορισμένα στελέχη, που σχετίζονται με τη διαδικασία της *ζύμωσης*, μπορούν να αναστείλλουν τους παθογόνους και τοξικογόνους *μικροοργανισμούς* στα *τρόφιμα*, έχει οδηγήσει τη βιομηχανία *τροφίμων* στην προσπάθεια εφαρμογής της *μικροβιακής προστατευτικής ιδιότητας* στα παραγόμενα τα προϊόντα της.

Οι *προστατευτικές καλλιέργειες* είναι παρασκευάσματα από ζώντες *μικροοργανισμούς*(*καθαρές καλλιέργειες ή συμπυκνώματα καλλιέργειας*), ενεργούς μεταβολικά, οι οποίοι προστίθενται στα *τρόφιμα*, με στόχο τη μείωση των κινδύνων από παθογόνους ή τοξικογόνους *μικροοργανισμούς*.

Ο μεταβολισμός των *μικροβιακών* στελεχών καθορίζει την *προστατευτική δράση*, που παρέχουν εκείνοι στα *τρόφιμα*. Όμως, η φυσική κατάσταση ενός *ζυμωμένου τροφίμου* καθορίζεται συνήθως από τις *μικροβιακές καλλιέργειες εκκίνησης*. Παρόλα αυτά, οι *προστατευτικές καλλιέργειες* αποτελούνται από *μικροοργανισμούς*, που θα μπορούσαν να συγκροτούν και μία *καλλιέργεια εκκίνησης* (SKLM,2010).

Η διάκριση μεταξύ των *προστατευτικών καλλιεργειών* και των *καλλιεργειών εκκίνησης* έγκειται στην προβλεπόμενη χρήση τους. Συγκεκριμένα, για τις *καλλιέργειες εκκίνησης*, μεγάλη τεχνολογική σημασία έχει η μεταβολική δραστηριότητα των στελεχών και όχι τόσο η *αντιμικροβιακή* τους δράση. Ωστόσο, για τις *προστατευτικές καλλιέργειες* ισχύει το αντίθετο. Μάλιστα, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν πάντα ο παράγοντας *ασφάλεια*, καθώς η “*εμφύτευση*” της *μικροβιακής καλλιέργειας* σε ένα *τρόφιμο*, πρέπει να ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο ανάπτυξης παθογόνων και τοξικογόνων *μικροοργανισμών*.

Η αποτελεσματικότητα των *προστατευτικών καλλιεργειών* βασίζεται στις ακόλουθες αρχές:

- *Ανταγωνιστικός αποκλεισμός*: Για παράδειγμα, μέσω του ανταγωνισμού των μικροβιοτών για θρεπτικά συστατικά και / ή χωρικά, για σημεία δέσμευσης στο υπόστρωμα ή μέσω του μικροβιακού ανταγωνισμού για οξυγόνο.
- *Σχηματισμός ανταγωνιστικά ενεργών ουσιών*: Ένα παράδειγμα αποτελεί η παραγωγή οργανικών οξέων και βακτηριοσινών από τον μεταβολισμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων(LAB). Επίσης, εδώ προστίθενται τα αντιβιοτικά ή άλλα ανταγωνιστικά, δραστικά συστατικά με *αντιμυκητιακή*, αλλά και *αντιβακτηριακή* δράση (SKLM, 2010).

Για την επιλογή των ‘προστατευτικών καλλιεργειών’(PCs), ακολουθείται η εξής διαδικασία:

1. **Εντοπισμός των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών-στόχων**: Ο εντοπισμός των παθογόνων βακτηρίων είναι εύκολος, αλλά περίπλοκος για τις περιπτώσεις αλλοίωσης, η οποία προκαλείται από διαφορετικούς και συχνά άγνωστους μικροοργανισμούς.
2. **Δημιουργία μίας συλλογής ‘προστατευτικών καλλιεργειών’(PCs)**, βάσει τεκμηρίων.
3. **Αναστολή των στελεχών-στόχων από στελέχη της συλλογής PCs, μοντελικά**: Υπάρχουν διάφορες τεχνικές, όπως είναι οι δοκιμές διάχυσης σε πλάκες άγαρ, που περιέχουν το βακτηριακό στόχο, αλλά και δίσκοι ή φρεάτια στελεχών της συλλογής PCs, (Matamoros et al., 2009, Odeyemi et al., 2011). Η επιλογή του μέσου καλλιέργειας πρέπει να γίνει προσεκτικά, καθώς μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.
4. **Συλλογή ταξινομικών και φυσιολογικών δεδομένων** (π.χ. παραγωγή οξέων, ανάπτυξη σε χαμηλή θερμοκρασία)
5. **Συλλογή πληροφοριών, σχετικά με την τήρηση της ασφάλειας** (αντοχή στα αντιβιοτικά, παραγωγή τοξικών μορίων, διεισδυτικότητα, καθώς και σχετικά με τις τεχνολογικές ιδιότητες (απόδοση παραγωγής της PC)
6. **Έλεγχος πιθανής αλλοίωσης των PCs**, σε αποστειρωμένα τρόφιμα
7. **Δοκιμή της δράσης των PCs**, ενάντια των μικροοργανισμών-στόχων, σε αποστειρωμένη μήτρα(τρόφιμο)
8. **Εργαστηριακά, δοκιμή της δράσης των επιλεγμένων PCs**, σε φυσικά μολυσμένα προϊόντα



## 9. Δοκιμή και εφαρμογή στη βιομηχανία (Ghanbari et al, 2013)

Όταν γίνεται χρήση ζωντανών, μικροβιακών “ανταγωνιστών” στη βιομηχανία τροφίμων, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν ορισμένα κριτήρια και απαιτήσεις:

- Θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν, η προστασία του καταναλωτή, όσον αφορά τα έτοιμα προς βρώση τρόφιμα, αλλά και άλλα είδη προϊόντων, από την στιγμή, που υπάρχει αυξημένη πιθανότητα μόλυνσης αυτών.
- Θα πρέπει να υπολογίζεται το πόσο, οι “προστατευτικές καλλιέργειες” και οι μεταβολίτες τους επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων.

Οι “προστατευτικές καλλιέργειες” δεν θα πρέπει να έχουν διαμετρικά αποτελέσματα στον στόχο-τρόφιμο.

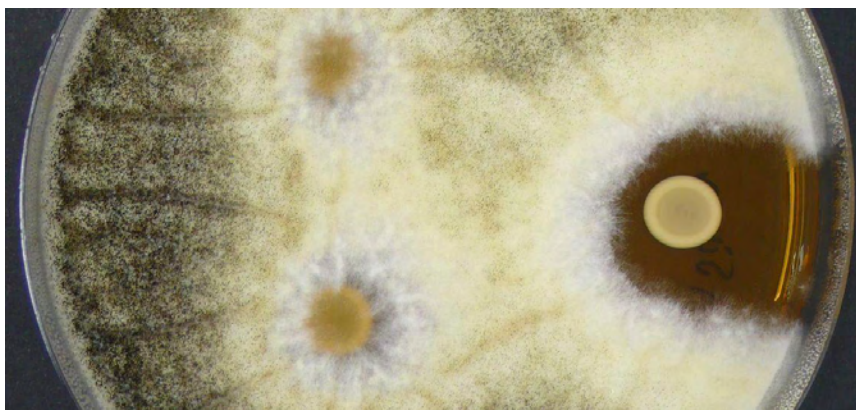
- ✚ Ορισμένα στελέχη των LAB μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση ή το λιγότερο, υποβάθμιση των συστατικών των τροφίμων.

Η γνώση της συνέπειας του αποτελέσματος της δράσης αυτών, στις χημικές, φυσικές και οργανοληπτικές παραμέτρους της ποιότητας αποτελεί βασική προϋπόθεση (Holzapfel et al, 1995).

Μία άλλη σημαντική απαίτηση, για να θεωρηθεί επιτυχής η εφαρμογή των “προστατευτικών καλλιεργειών”, είναι η ικανότητα να παράγουν επαρκώς ενεργητικούς μεταβολίτες, οι οποίοι θα ανταγωνίζονται τα τροφογενή, παθογόνα και/ή αλλοιογόνα βακτήρια, αλλά και τους μύκητες. Επιπλέον, στην ικανότητα επιβίωσής τους σε δυσμενείς συνθήκες, οι οποίες αντιμετωπίζονται τεχνολογικά, καθώς και στη διατήρηση της ανασταλτικής τους δράσης, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση. Για την εφαρμογή των “προστατευτικών καλλιεργειών” στη βιομηχανία των τροφίμων, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν και οι συνθήκες των μεθόδων επεξεργασίας, που χρησιμοποιούνται (π.χ: ξήρανση, αλάτισμα, ψύξη, κατάψυξη, απομάκρυνση οξυγόνου, όξυνση, χημική συντήρηση κτλ) (Hammes, 2010).

Οι “προστατευτικές καλλιέργειες” έχουν ιδιαίτερη σημασία όταν χρησιμοποιούνται σε μη ζυμωμένα τρόφιμα, με ουδέτερο pH και υψηλή ενεργότητα

νερού ( $a_w > 0,96$ ), στα οποία δεδομένα ο κίνδυνος, λόγω της μη τήρησης της υγιεινής, γενικά αυξάνεται (SKLM, 2010).



**Εικόνα 4: Μια προστατευτική καλλιέργεια σε τρυβλίο**

### **3. ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ (*Lactic Acid Bacteria*): ΟΙ ‘ΠΡΩΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ’ ΤΗΣ ΝΕΑΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ**

Η ομάδα των οξυγαλακτικών βακτηρίων (*LAB*) είναι ευρέως διαδεδομένη στη φύση και έχει εντοπιστεί σε πολλά τρόφιμα, καθώς και σε σωματικές κοιλότητες τόσο των ζώων, όσο και των ανθρώπων. Χαρακτηριστικά είδη, σχεδόν όλων των γενών της ομάδας εμπλέκονται σε αυτόχθονες ζυμώσεις.

Εμπειρικά, οι άνθρωποι έχουν χρησιμοποιήσει ενδογενή *LAB* για τη φυσική ζύμωση του γάλακτος, του κρέατος, των λαχανικών και των φρούτων για χιλιάδες χρόνια, κάτι, που οδήγησε σε νέα σταθεροποιημένα προϊόντα λόγω της όξυνσης (μείωση του *pH*). Με την πάροδο του χρόνου, τα *LAB*, που φυσικά συμμετείχαν και συνεχίζουν στη ζύμωση, συλλέχθηκαν και πλέον έχουν παραχθεί ως εμπορικές ‘καλλιέργειες εκκίνησης’, οι οποίες μπορούν να προστεθούν στην τροφή και να επιτρέψουν καλύτερο έλεγχο της ζύμωσης.

Τα *LAB* έχουν μελετηθεί εντατικά για τη φυσιολογία τους, καθώς και για τις αλληλεπιδράσεις τους στα τρόφιμα, κατά τη διάρκεια αυτού του αιώνα. Πιο πρόσφατα, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος, όσον αφορά την έρευνα για τη μοριακή τους βιολογία. Οι υπάρχουσες γνώσεις επιτρέπουν την διακρίση των ευεργετικών από τις δηλητηριώδεις δραστηριότητες τους στα τρόφιμα - που συχνά

σχετίζονται με τον τύπο του προϊόντος, τον χρόνο και τις προσδοκίες των καταναλωτών-, αλλά και τον μηχανισμό δράσης τους (Ghanbari et al, 2013).

Οι ανταγωνιστικές και ανασταλτικές ιδιότητες των *LAB* οφείλονται στον ανταγωνισμό τους για τα θρεπτικά συστατικά και την παραγωγή ενός ή περισσοτέρων αντιμικροβιακών, δραστικών, μεταβολιτών, όπως είναι τα οργανικά οξέα (γαλακτικό και οξικό οξύ), το υπεροξειδίο του υδρογόνου και τα αντιμικροβιακά πεπτίδια (βακτηριοσίνες). Ορισμένα *LAB* αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης και είναι ανθεκτικά στις συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας, στις χαμηλές τιμές pH, στις υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων, καθώς και στην παρουσία ορισμένων προσθετικών, όπως το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ και η αιθανόλη.

Λόγω αυτών των πλεονεκτημάτων, τα *LAB* μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προστατευτικές καλλιέργειες, περιορίζοντας την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών, όπως είναι ορισμένα αλλοιογόνα και παθογόνα βακτήρια.

Επιπλέον, αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορεί να έχουν επιπλέον λειτουργικές ιδιότητες και σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να είναι επωφελείς για τους καταναλωτές. Τα *LAB* αποτελούν την μικροβιακή ομάδα, που χρησιμοποιείται πιο συχνά ως προστατευτική καλλιέργεια, καθώς υπάρχουν σε όλα τα ζυμωμένα τρόφιμα και έχουν ιστορικό ασφαλούς χρήσης, μεγάλης διάρκειας.

Είναι *gram*(+), ραβδοειδή(βάκιλλοι), αλλά και κοκκώδη(κόκκοι) βακτήρια, δεν σχηματίζουν σπόρια και είναι ανίκανα να κινηθούν. Χαμηλή είναι η αναλογία *G+C*, που παρατηρείται στο γενετικό τους υλικό. Τα γένη περιλαμβάνουν μια τεράστια ποικιλία ειδών, όπως το γένος *Lactobacillus*, με περισσότερα από 150 στελέχη, τα περισσότερα από τα οποία εμπεριέχονται στα τρόφιμα (Hammes and Hertel, 2009). Παρακάτω, αναφέρονται μερικά από τα πιο γνωστά είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων, στα οποία στηρίζεται και η εφαρμογή της μεθόδου της Βιοσυντήρησης:

- *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* και *Weisella* (Ananou et al, 2007)

### 3.1 Η ΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Ο ρυθμός ανάπτυξης και η δραστικότητα μιας *μικροβιακής καλλιέργειας* καθορίζονται από την προσαρμογή της σε ένα υπόστρωμα και από έναν αριθμό εγγενών και εξωγενών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου του *δυναμικού της οξειδοαναγωγής (E)*, τη *δραστικότητα του νερού (a)*, το *pH* και τη *θερμοκρασία*.

Η ανταγωνιστική δράση των *μικροβιακών καλλιιεργειών* αναφέρεται στην αναστολή άλλων (π.χ. ανεπιθύμητων ή παθογόνων) *μικροοργανισμών*, που οφείλεται στον μεταξύ τους ανταγωνισμό για τα θρεπτικά συστατικά και στην παραγωγή *αντιμικροβιακών μεταβολιτών*. Επιπλέον, να σημειωθεί ότι ο αποικισμός ανεπιθύμητων *μικροοργανισμών* μειώνεται εξαιτίας αυτού του είδους δράσης των *μικροβιακών καλλιιεργειών*.

Παρακάτω, συνοψίζονται περιγραφικά, οι *αντιμικροβιακές ιδιότητες* ορισμένων, χαρακτηριστικών *μεταβολιτών των οξυγαλακτικών βακτηρίων(LAB)* (Sagdic et al, 2016),

#### 3.1.1 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ (*Organic Acids*)

Ένας από τους σημαντικούς ρόλους των καλλιιεργειών *εκκίνησης των οξυγαλακτικών βακτηρίων(LAB)*, στους ζωϊκούς ιστούς(κρέας) αποτελεί και η γρήγορη παραγωγή *οργανικών οξέων(organic acids)*.

Τα είδη και ο βαθμός δραστικότητας των *οργανικών οξέων*, τα οποία παράγονται κατά την διαδικασία της *ζύμωσης* εξαρτώνται από: α) τα στελέχη των *LAB*, που έχουν αναπτυχθεί ή που προϋπήρχαν, β) την σύσταση της *βακτηριακής καλλιιεργειας* και γ) τις συνθήκες αύξησης. Η παρουσία των *οργανικών οξέων* αναστέλλει την αύξηση της *μικροχλωρίδας* και ενισχύει την *ασφάλεια* και τη *διάρκεια ζωής* του προϊόντος. Στους ζωϊκούς ιστούς, η *ζύμωση* υδατανθράκων, γλυκόζης, γλυκογόνου και γενικά μικρών ποσοτήτων ριβόζης παράγει *οργανικά οξέα* στο στάδιο της γλυκόλυσης.

Τα *οργανικά οξέα* έχουν *βακτηριοκτόνο* ή *βακτηριοστατική* δράση, η οποία γίνεται αντιληπτή στο μικροπεριβάλλον του *τροφίμου*, μειώνοντας το *pH* αυτού. Αυτή η μείωση του *pH* δημιουργεί ένα επιλεκτικό φράγμα ενάντια στους μη-οξεόφιλους *μικροοργανισμούς* (Gálvez et al., 2014). Παράλληλα, η χαμηλή τιμή *pH*, σε συνδυασμό με την υψηλή συγκέντρωση σε πρωτόνια επηρεάζουν την

διαπερατότητα της μεμβράνης και τις ενδοκυτταρικές λειτουργίες των *μικροβιακών* κυττάρων, προκαλώντας μετουσίωση των πρωτεϊνών, απώλεια της βιωσιμότητας και μετάπτωση του γενετικού υλικού. Έχει παρατηρηθεί ότι η *αντιμικροβιακή* επίδραση των *οργανικών οξέων* είναι ισχυρότερη από ότι η αντίστοιχη των ισχυρών, ανόργανων οξέων (Sorrells et al., 1989). Τα *οξυγαλακτικά βακτήρια* προκαλούν μείωση του *pH*. Το επίπεδο δραστηριότητας είναι ισχυρό και με αυτόν τον τρόπο, η δράση των διάφορων σηψιγόνων (πχ: *Clostridia* και *Pseudomonas*), παθογόνων (πχ: *Salmonella* και *Listeria spp.*) και τοξικογόνων βακτηρίων (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*) είτε αναστέλλεται, είτε απαλείφεται.

Είναι δυνατόν, το *οξικό* και το *προπανικό οξύ* να συνδυαστούν αποτελεσματικά με το *λακτικό οξύ* (Schnurer and Magnusso, 2005). Το *λακτικό οξύ* είναι γνωστό *οργανικό οξύ* και χρησιμοποιείται ως *συντηρητικό* στα *τροφίμα*. Το ίδιο συμβαίνει και με το *οξικό οξύ*. Το *λακτικό οξύ* και το *προπανικό οξύ* βρίσκουν επίσης, κοινή εφαρμογή στη βιομηχανία των *τροφίμων* και έχουν αναγνωρισθεί ως *ασφαλείς ουσίες* προς βρώση (GRAS), από την επίσημη *Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA)*.

Ενδεικτικά, λόγω της δράσης του *λακτικού οξέος*, που παράγεται από τις καλλιέργειες *εκκίνησης*, συντηρούνται *ζυμωμένα τρόφιμα*, όπως τα *γαλακτοκομικά προϊόντα* και οι διάφορες ζύμες ψωμιού. Άλλα είδη *οργανικών οξέων* μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως *συντηρητικά* στην παραγωγή κρεάτων και *αλιευμάτων* σε άλμη, σε προϊόντα που περιέχουν λαχανικά, σε μαρμελάδες, σε ζελέδες φρούτων και προϊόντα ζαχαροπλαστικής (Celikyurt and Arici, 2008).

### 3.1.2 ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ( $H_2O_2$ )

Η δράση του *υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ )* είναι ισχυρή τόσο ενάντια στις βλαστικές, όσο και των σποριογόνων μορφών *βακτηρίων*, *μυκήτων* και *ζυμών*. Τα περισσότερα είδη *οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB)* διαθέτουν το πρωτεϊνολυτικό ένζυμο *οξειδάση*, το οποίο με την σειρά του διασπά την πρωτεΐνη σε  $H_2O_2$ , υπό αερόβιες συνθήκες. Το  $H_2O_2$ , που παράγεται από τα *LAB* συσσωρεύεται στο περιβάλλον, καθώς τα *βακτηριακά κύτταρα* δεν μπορούν να το διασπάσουν με τη χρήση του ενζύμου *καταλάση* (Sagdic et al, 2016).

Ίσως λοιπόν, η *αντιμικροβιακή* δράση του  $H_2O_2$  να προκύπτει από την οξείδωση των θειολών, προκαλώντας μετουσίωση ενός συνόλου πρωτεϊνών, αλλά

και από την υπεροξειδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης του *βακτηριακού* κυττάρου, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο την διαπερατότητά της.

Συχνά, τα *βακτήρια*, που φέρουν το μεγαλύτερο βαθμό επικινδυνότητας, όπως τα είδη *Pseudomonas* και το *S. aureus* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα, δεχόμενα τη δράση του  $H_2O_2$  (Ananou et al).

### 3.1.3 ΔΙΟΞΕΙΔΙΟ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ ( $CO_2$ )

Το διοξείδιο του άνθρακα ( $CO_2$ ), που παράγεται κυρίως, από τα ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά *βακτήρια* (*LAB*) αποτελεί παραπροϊόν της σακχαρικής ζύμωσης. Η παρουσία του  $CO_2$  είναι απαραίτητη για την δημιουργία ενός αναερόβιου μικροπεριβάλλοντος, το οποίο μπορεί να αναστείλλει την πιθανή ανάπτυξη αερόβιων *βακτηρίων* (Adams and Nicolaidis, 1997 ). Επίσης, έχει βρεθεί ότι το  $CO_2$  συσσωρεύεται στη λιπώδη στοιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης και καταστρέφει τη διαπερατότητα αυτής (Lindgren and Dobrogosz, 1990 και Yang , 2000). Διαλύεται στο νερό, παράγοντας ανθρακικό οξύ.

Το  $CO_2$  μπορεί αποτελεσματικά να αναστείλλει την ανάπτυξη πολλών αλλοιογόνων *μικροοργανισμών*, ιδιαίτερα όμως των *gram(-)*, ψυχρόφιλων *βακτηρίων*. Έχει αποδεχθεί ότι το  $CO_2$  μειώνει τον αριθμό των *βακτηρίων* και των *μυκήτων* σε ποσοστό 10% και 20% - 50%, αντιστοίχως (Yang , 2000).

### 3.1.4 ΔΙΑΚΕΤΥΛΙΟ (*diacetyl*)

Το διακετύλιο είναι συστατικό των *τροφίμων*, που συμβάλλει στη βελτίωση του αρώματός τους. Παράγεται από διάφορα στελέχη, όλων των γενών των οξυγαλακτικών *βακτηρίων*(*LAB*), μέσω της διαδικασίας της *κιτρικής ζυμώσεως*. Αποτελεί παραπροϊόν της δράσης των ετεροζυμωτικών οξυγαλακτικών *βακτηρίων* (*LAB*), με τη *λακτάση* να είναι το κύριο προϊόν.

Το διακετύλιο διαθέτει *αντιμικροβιακές* ιδιότητες. Ενδεικτικά, η δράση του είναι αποτελεσματική, ακόμη και σε περιβάλλοντα με αρκετά χαμηλό *pH*(όξινα). Αποτελεί *βακτηριοστατικό* παράγοντα για τα *gram(+)* *βακτήρια* και έχει *βακτηριοκτόνο* δράση ενάντια στα *gram(-)* *βακτήρια*, όπως είναι τα είδη: *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Yersinia* and *Aeromonas* (Jay, 1982). Επιπλέον, ο

ρόλος τού είναι ιδιαίτερα ενεργός εναντίον της ανάπτυξης *μυκήτων* και *ζυμών*(μούχλας).

Παρόλα αυτά, για να επιτευχθεί η αναστολή των *αλλοιογόνων βακτηρίων*, απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις *διακετύλιου*, οι οποίες είναι δυνατόν να επηρεάσουν σημαντικά τις οργανοληπτικές ιδιότητες των *τροφίμων* (Helander et al., 1997). Για αυτόν το λόγο λοιπόν, η χρήση *βακτηριακών καλλιεργειών*, που παράγουν *διακετύλιο* για προστατευτικούς σκοπούς, θα πρέπει να περιορίζεται σε είδη *τροφίμων*, όπου το *διακετύλιο* αποτελεί βασικό συστατικό των οργανοληπτικών τους ιδιοτήτων (Jay 1982). Είναι όμως προϊόν υψηλής αξίας και χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία *τροφίμων*, κυρίως στα γαλακτοκομικά προϊόντα ως συστατικό. Μάλιστα συνιστάται από τους ειδικούς για τη βελτίωση της γεύσης. Είναι δυνατόν, να σχηματιστεί υπό συνθηκών παραγωγής κρασιού, ψημένου καφέ και άλλων *ζυμωμένων προϊόντων* (Jay, 1982).

Παραδοσιακά, τα *οξυγαλακτικά βακτήρια(LAB)* έχουν συνδεθεί με τον κλαδο της επεξεργασίας των *τροφίμων*. Η μέθοδος της *βιοσυντήρησης* όμως, εστιάζει και στη χρήση των *μεταβολιτών* τούς, στους οποίους ανήκουν μεταξύ άλλων και οι *βακτηριοσίνες*, οι *βακτηριοσίνες των οξυγαλακτικών βακτηρίων(LAB)*.

### 3.2 ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΕΣ

Οι *βακτηριοσίνες* είναι πεπτίδες με σύνθεση ριβοσωμάτων(*ριβοσωμικά πεπτίδια*) ή πρωτεΐνες με *αντιμικροβιακή* δραστηριότητα, που παράγονται από διάφορες ομάδες *βακτηρίων*, εναντίον συγγενών παθογόνων *μικροοργανισμών*.

Πολλά *LAB* παράγουν *βακτηριοσίνες*, έχοντας, να σημειωθεί, ένα μεγάλο φάσμα αναστολής. Εξαιτίας της φύσης τους, αδρανοποιούνται από τις πεπτιδάσεις του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι περισσότερες *LAB-βακτηριοσίνες*, οι οποίες έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι τώρα, είναι κατιονικά μόρια, σταθερής θερμοκρασίας. Έχουν εντοπιστεί στη δομή τους μέχρι και 60 υπολείμματα αμινοξέων (Onaran et al, 2017).

Η μέθοδος της *βιοσυντήρησης* βρίσκει εφαρμογή σε αρκετές *LAB-βακτηριοσίνες*. Επίσης, η χρήση των *βακτηριοσίνων* στη βιομηχανία μπορεί να βοηθήσει στη μείωση της χρήσης *χημικών συντηρητικών*, καθώς και στη μείωση της εφαρμογής εντατικών μεθόδων/διαδικασιών *συντήρησης*. Με την συμβολή της

δράσης αυτών των ουσιών, τα *τρόφιμα* μπορούν να συντηρηθούν πιο φυσικά, χωρίς να επηρεάζονται οι χημικές και οργανοληπτικές τους ιδιότητες (Ghanbari et al, 2016). Επιπλέον, εκτός της *νισίνης* και της *πεντιοσίνης*, άλλα είδη *βακτηριοσίνων*, προσφέρουν ποικίλλες προοπτικές.

Οι *βακτηριοσίνες* διαθέτουν χαρακτηριστικά, τα οποία τις καθιστούν ιδανικά *συντηρητικά τροφίμων*. Αυτά είναι:

- η πρωτεϊνική τους φύση και η δυνατότητα αδρανοποίησής τους από πρωτεολυτικά ένζυμα του γαστρεντερικού σωλήνα

**Είναι:**

- μη τοξικές, όταν η δράση τους ελέγχεται πειραματικά σε ζώντες οργανισμούς και γενικά μη ανοσολογικές
- ανενεργά τοξικές εναντίον ευκαρυωτικών κυττάρων
- γενικά θερμοανθεκτικές ουσίες (η *αντιμικροβιακή* τους δράση συνεχίζει να λαμβάνει χώρα ακόμη και μετά την εφαρμογή εντατικών μεθόδων, όπως είναι αυτή της παστερίωσης και της αποστείρωσης.)
- γενικά αναγνωρισμένες ως *ασφαλείς* ουσίες (*GRAS*).
- **Επιπλέον:**
- δεν αντιδρούν με τα αντιβιοτικά.
- έχουν ένα ευρύτερο μικροβιακό φάσμα εναντίον πολλών *αλλοιογόνων*, *τροφογενών* και *παθογόνων βακτηρίων* (μεγάλη επιρροή στα *gram(+)* *βακτήρια*, καθώς και σε ορισμένα, κατεστραμμένα δομικά *gram(-)* *βακτήρια*, εδώ περιλαμβάνονται παθογόνα είδη, όπως είναι: το *L. monocytogenes*, το *Bacillus cereus*, το *S. aureus* και η *Salmonella*.
- εμφανίζουν μια *βακτηριοκτόνο* δράση, δρώντας εναντίον της.
- τα γενετικά τους χαρακτηριστικά είναι συνηθώς πλασματικά κωδικοποιημένα, διευκολύνοντας την γενετική παραλλακτικότητά τους (*γενετική μετατροπή*)

Παρά την πρόοδο της *τεχνολογίας*, η *συντήρηση* των *τροφίμων* αποτελεί ένα επίμαχο θέμα στις αναπτυσσόμενες χώρες, η εφαρμογή καινοτόμων *τεχνολογιών συντήρησης* αποτελεί επιτακτική ανάγκη για τον βιομηχανοποιημένο κόσμο.

Η εξάπλωση των *μικροβιολογικών προβλημάτων* έχει αντίκτυπο στην στρατηγική της *WHO*. Η ανάδειξη νέων παθογενειών και παθογόνων νοσημάτων



είναι ένα μεγάλο θέμα. Οι *μικροοργανισμοί* έχουν την ικανότητα να υιοθετούν και να μεταλλάσσονται και οι μέθοδοι παραγωγής και συντήρησης έχουν ως αποτέλεσμα στο να μεταλλαχθούν και οι κίνδυνοι, όσον αφορά την *ασφάλεια των τροφίμων*. Η εμπειρική χρήση των *μικροοργανισμών* και τα φυσικά τους προϊόντα για τη *συντήρηση τροφίμων(βιοσυντήρηση)* αποτελεί μία συνηθισμένη πρακτική στην εξέλιξη του ανθρώπινου είδους. Τα *LAB* παράγουν μία σειρά *αντιμικροβιακών* ουσιών, όπως είναι: τα οργανικά οξέα, το διακετύλιο κτλ.

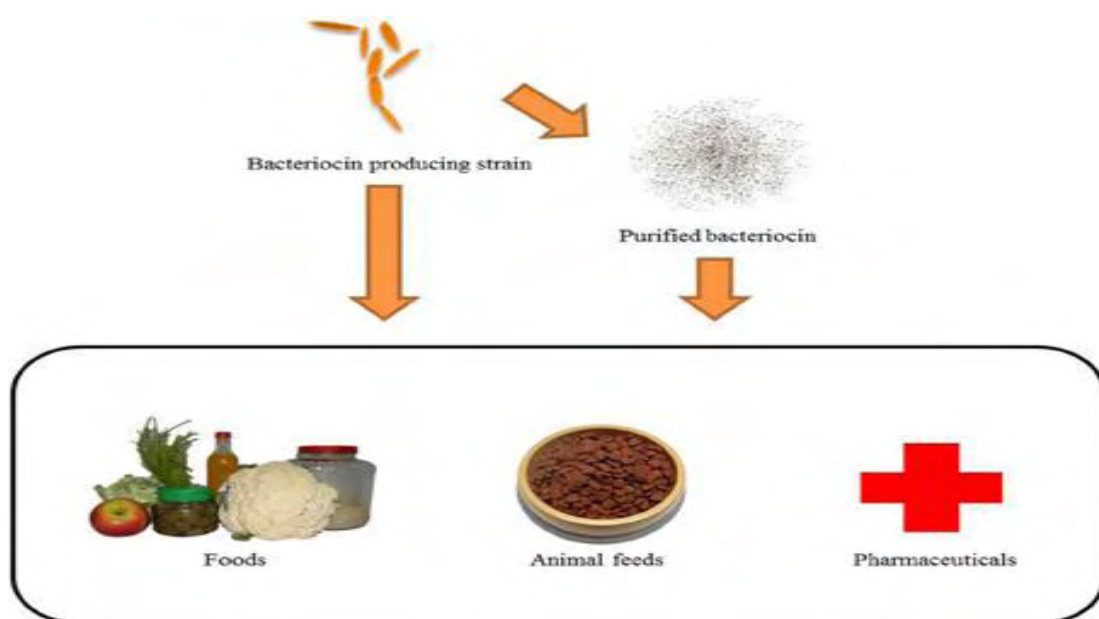
Οι μελέτες, που έχουν γίνει, υποδεικνύουν ότι η εφαρμογή των *βακτηριοσίνων* στη *βιοσυντήρηση* παρέχει πολλαπλά οφέλη:

- Εκτεταμένη *διάρκεια ζωής* στα *τρόφιμα*
- Παρέχουν επιπλέον προστασία σε *τρόφιμα* που διατηρούνται σε *δυσμενείς(λανθασμένες)* συνθήκες θερμοκρασίας.
- Μειώνουν τον κίνδυνο μεταφοράς των *τροφογενών βακτηριών* μέσω της *τροφικής αλυσίδας*.
- Προσφέρουν βελτίωση της οικονομικής ζημίας, εξαιτίας των απωλειών, λόγω των *αλλοιώσεων*.
- Μειώνουν την εφαρμογή των *χημικών συντηρητικών*.
- Επιτρέπουν την εφαρμογή όχι εντατικών μεθόδων θέρμανσης, που θα μπορούσαν να ασφαλίσουν ενδεχομένως περισσότερο τα *τρόφιμα*.
- Καλύτερη *συντήρηση* των *θρεπτικών συστατικών* και *βιταμινών* των *τροφίμων* και των *οργανοληπτικών χαρακτηριστικών* τους.
- Επιτρέπουν το *μάρκετινγκ νέων τροφίμων-προϊόντων*(λιγότερο αλάτι, λιγότερη κατακράτηση υγρών κτλ).
- Μπορούν να ικανοποιούν και τις *βιομηχανικές* και τις *καταναλωτικές απαιτήσεις*.

Σύμφωνα με τις νέες τάσεις στην *τεχνολογία* και την *βιομηχανία τροφίμων* στην Ευρώπη, η εφαρμογή των *βακτηριοσινών*, εν μέρει, μειώνει τα τεχνικά προσθετικά στα *τρόφιμα*, καθιστώντας τα τελικά προϊόντα πιο φρέσκα, κάτι, που απαιτεί ο καταναλωτής. Επιπλέον, μειώνονται και τα ποσοστά κινδύνου από τεχνητά επεξεργασμένες, πρόσθετες ουσίες στα έτοιμα προς βρώση προϊόντα.

Βασικό ρόλο σε όλες τις δραστηριότητές τους παίζει η πρόσφατη πρόοδος στη μοριακή βιολογία των *βακτηριακών* γονιδιωμάτων και των *βακτηριοσίνων*. Τα *τρόφιμα* μπορούν να εμπλουτιστούν με έτοιμες, *in situ* *βακτηριοσίνες* ή με εμβολιασμό *βακτηριοσίνων*, κάτω από ευνοϊκές συνθήκες, όσον αφορά την παραγωγή των *βακτηριοσινών*.

Παράγοντες, που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της δράσης τους στα *τρόφιμα*: Αυτοί κυρίως εξαρτώνται από τον αριθμό των παραγόντων, που σχετίζονται με τα ίδια τα *τρόφιμα* και οι περισσότερες περιπτώσεις αφορούν την διαδραστικότητα των συστατικών της τροφής, την υγροποίηση, την αδρανοποίηση ή την μη ομαλή ροή των *βακτηριακών* μορίων στο τροφικό πλέγμα (Galvez et al, 2007).



**Εικόνα 5:** Χρήση *βακτηριοσινών*

Μία επίσημη, καθολική ταξινόμηση των *βακτηριοσινών* εξακολουθεί να αποτελεί θέμα έντονης συζήτησης, μεταξύ των επιστημόνων. Έπειτα από έρευνες, σχετικά πρόσφατα, προτάθηκε οι *βακτηριοσίνες* να κατηγοροποιούνται σε τέσσερις τάξεις(ομάδες) (Heng and Tagg, 2006):

1. τα λανθιοτοκικά: χαρακτηρίζονται από κάποια ασυνήθιστα αμινοξέα όπως η λανθιονίνη ή η p- μεθυλ-λανθιονίνη.
2. οι πεπτιδικές *βακτηριοσίνες*: είναι μικρά υδρόφοβα πεπτίδια με ενεργή μεμβράνη.
3. οι πρωτεϊνικές *βακτηριοσίνες*: έχουν υψηλότερη μοριακή μάζα από ότι οι πεπτιδικές.

4. οι σύνθετες *βακτηριοσίνες*: περιέχουν ένα τμήμα σακχάρου και/ ή λιπιδίου, απαραίτητο για τη δράση τους.

Οι περισσότερες *βακτηριοσίνες* των *οξυγαλακτικών βακτηρίων(LAB)*, που βρίσκουν εφαρμογή στη *συντήρηση των τροφίμων* ανήκουν στην Ia, II και IV Τάξη.

Παράδειγμα αποτελεί η εφαρμογή της *νισίνης* σε προϊόντα κρέατος από την διαδραστικότητα των *βακτηριοσίνων* με τα γαλακτικά φωσφολιπίδια και άλλα συστατικά.

### 3.2.1 ΝΙΣΙΝΗ (*NISIN*)

Η ιστορία χρήσεως της *νισίνης* για την *συντήρηση τροφίμων* είναι αρκετά γνώστη. Στην Ισπανία είναι γνωστή ως *μικροοργανισμός E-234*, αλλά γενικά αναφέρεται ως *συντηρητική-νισίνη* ή *φυσικό συντηρητικό*. Είναι το φυσικό *συντηρητικό*, του οποίου η δράση έχει μελετηθεί περισσότερο.

Παράγεται από τον αναγνωρισμένο, ως ασφαλής ουσία (*GRAS*), μικροοργανισμό *Lactococcus Lactis* και επίσημα ανήκει στην πρώτη τάξη των *βακτηριοσινών(Lantibiotics)*. Παρόλα αυτά, υποστηρίζεται ότι η δράση της την χαρακτηρίζει όχι ως μία απλή *βακτηριοσίνη*, αλλά ως ένα ειδικό αντιβιοτικό-πεπτίδιο (Schüller et al., 1989).

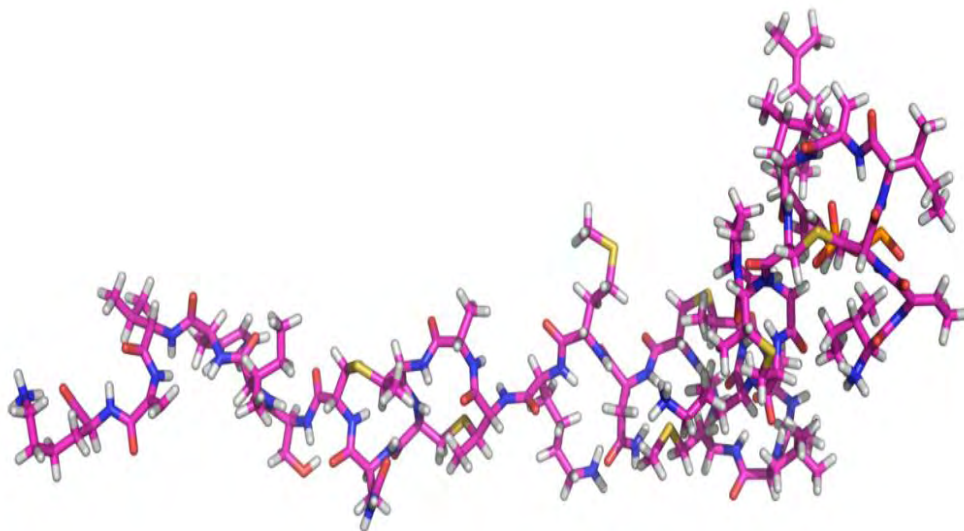
Ουσιαστικά, η αναστολή σύστασης κυτταρικού τοίχους και παράλληλα ο σχηματισμός πόρων στην μεμβράνη των κυττάρων χαρακτηρίζουν τη δράση της *νισίνης*. Η *νισίνη* είναι αποτελεσματική *βακτηριοσίνη*, όσον αφορά τη δράση της, εναντίον *τροφογενών παθογόνων μικροβιοτών*, όπως είναι τα στελέχη του είδους *Listeria monocytogenes* και πολλά είδη των *gram(+)*, *αλλοιογόνων μικροοργανισμών*. Δρουν και εναντίον *σποριογόνων μικροοργανισμών*.

Η αποτελεσματικότητα και το εύρος εφαρμογής της *νισίνης*, όπως και κάθε άλλου *αντιμικροβιακού*, μπορούν να επεκταθούν όταν χρησιμοποιηθεί σε ένα σύστημα, όπου δραστηριοποιούνται διάφοροι παράγοντες. Ενδεικτικά, η *νισίνη* μπορεί να προστατευθεί από πρωτεϊνολυτικά *ένζυμα* ή να απομονωθεί με ενσωμάτωση σε λιποσώματα ή ενσωμάτωση σε βρώσιμες επιστρώσεις ή μεμβράνες. Η αποτελεσματικότητα και το εύρος των στόχων της δράσης της μπορούν να ενισχυθούν με συνδυασμό φυτικών εκχυλισμάτων ή αιθέριων ελαίων ή με φυσικές επεξεργασίες, όπως η υψηλή υδροστατική πίεση (Elsser-Gravesen D. and A., 2014).

Η δράση της *νισίνης* βρίσκει εφαρμογή κυρίως σε θερμικά επεξεργασμένα προϊόντα με χαμηλό  $pH$ . Η αποτελεσματικότητά της δεν επηρεάζεται από τη θερμότητα, αλλά μειώνεται όσο μειώνεται και η οξύτητα. Επιπλέον, αν χρησιμοποιηθεί σε ζυμωμένα προϊόντα, η *νισίνη* θα αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροβιακών καλλιεργειών εκκίνησης.

Αρκετές παραλλαγές της *νισίνης* απαντώνται στη φύση. Δύο τέτοιες παραλλαγές είναι διαθέσιμες ως εμπορικά προϊόντα τα τελευταία χρόνια και είναι: η *νισίνη Α* και η *νισίνη Ζ*. Διαφέρουν σε ένα αμινοξύ, γεγονός που επηρεάζει το βαθμό δραστηριότητάς τους. Ωστόσο, τοξικολογικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί μόνο για την *νισίνη Ζ* (SKLM, 2010).

Στην βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιείται ευρέως, καθώς έχει αναγνωρισθεί ως ασφαλής ουσία προς βρώση από την υπηρεσία τροφίμων και φαρμάκων (*FDA*). Ενδεικτικά, αποτελεί προσθετικό τροφίμων για 48 χώρες, κυρίως στα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα κονσερβοποιημένα. Η εφαρμογή αυτής της *βακτηριοσίνης*, ως συντηρητικό στη βιομηχανία τροφίμων, έχει δώσει έναυσμα για τη μελέτη της δράσης άλλων *βακτηριοσινών* και την πιθανή αξιοποίησή τους.



**Εικόνα 6:** Η *νισίνη*

#### 4. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ: ΜΙΑ ΙΔΙΑΙΤΕΡΗ ΜΟΡΦΗ ΒΙΟΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ

Ως *προβιοτικά* νοούνται παρασκευάσματα ακόμη και προϊόντα, τα οποία περιέχουν έμβιους(βιώσιμους), καθορισμένους βιολογικά *μικροοργανισμούς* σε επαρκή αριθμό. Οι *μικροοργανισμοί* αυτοί, στοχεύουν στην τροποποίηση των *μικροβιοτών*(μέσω της εμφύτευσης ή της δημιουργίας αποικιών) ενός τμήματος του οργανισμού-ξενιστή. Με αυτό τον τρόπο, η δράση των *μικροοργανισμών* αυτών, συμβάλλει στη βελτίωση της κατάστασης της υγείας του οργανισμού-ξενιστή.

Αρκετά στελέχη των *οξυγαλακτικών βακτηρίων(LAB)*, όσον αφορά τις εφαρμογές τους στα *τρόφιμα*, εντάσσονται στην κατηγορία των *προβιοτικών*.

Τα *LAB* διαθέτουν χαρακτηριστικές ιδιότητες και έτσι ένα είδος *μικροοργανισμού* εξ' αυτών, μπορεί εύκολα να καταστεί (ως) αποτελεσματικό *προβιοτικό*. Αυτές οι ιδιότητες των *LAB* περιλαμβάνουν την ικανότητα:

- πρόσφυσης στα κύτταρα
- αποκλεισμού ή μείωσης πιθανότητας παθογενούς πρόσφυσης
- συνοχής και πολλαπλασιασμού
- παραγωγής *οξέων, υπεροξειδίου του υδρογόνου και βακτηριοσινών*, που ανταγωνίζονται την παθογενή αύξηση *μικροβιοτών*.
- να είναι *ασφαλείς*, μη επεμβατικές(δεν παρεμποδίζουν άλλες ενέργειες), μη καρκινογόνες, μη παθογόνες ουσίες.
- να *συναθροίζονται*, σχηματίζοντας μια φυσική ισορροπημένη *χλωρίδα* (Gaggia et al, 2011).

Τα *οξυγαλακτικά βακτήρια* συμβάλλουν στην αποκατάσταση της *μικροχλωρίδας* του εντέρου, κυρίως ασθενών που υποφέρουν από διάρροια και οι οποίοι χρησιμοποιούν αντιβιοτικά, που καταστρέφουν τη φυσική *μικροχλωρίδα*.

Στελέχη, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί ως *προβιοτικά* για τον άνθρωπο, έχουν απομονωθεί από το γαστρεντερικό του σύστημα. Συνήθως στελέχη, που λειτουργούν ως *προβιοτικά*, ανήκουν σε είδη του γένους *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.

Γεγονός, βάσει του οποίου διαπιστώθηκε η χρησιμότητα της δράσης των *προβιοτικών*, αποτελεί η ικανότητα του οργανισμού των νεογέννητων κοτόπουλων να προστατεύεται από τον αποικισμό στελεχών του είδους *Salmonella*, στο έντερο. Συγκεκριμένα, ποσότητες του εντερικού περιεχομένου υγιών ενήλικων πουλερικών παρείχαν προστασία στο έντερο νεαρών ατόμων του είδους (Nurmi & Rantala, 1973). Το φαινόμενο έγινε γνωστό ως *ανταγωνιστικός αποκλεισμός* (*Competitive Exclusion*) και συνέβαλλε στην ανάπτυξη παρασκευασμάτων, με εφαρμογή σε διάφορα πεδία. Στόχος τους αποτελούσε ο έλεγχος της σαλμονέλας στα πουλερικά (Schneitz, 2005).

Με βάση λοιπόν την έννοια του ανταγωνιστικού αποκλεισμού, επί του παρόντος, δύναται η χορήγηση *προβιοτικών*, πρωτίστως επιβεβαιωμένων ως *ασφαλείς* ουσίες και όχι απαραίτητα ζωϊκής προέλευσης, κυρίως σε στόχους-ζώα φάρμας (Wiemann, 2003). Ανεξάρτητα από την στρατηγική που εφαρμόστηκε, αλλά και τον μηχανισμό εμπλοκής, η αποκατάσταση της εντερικής *μικροχλωρίδας* από την χρήση *προβιοτικών* φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη, όσον αφορά τη μείωση του παθογόνου *μικροβιακού* φορτίου, τόσο στα μονογαστρικά, όσο και στα πολυγαστρικά ζώα (Gagg et al., 2010).

Εν τέλει, φαίνεται ότι ξεκινώντας από τη διατήρηση ενός υγιούς εντερικού οικοσυστήματος, η τροφοδότηση των ζωϊκών οργανισμών με *προβιοτικά συμπληρώματα* αποτελεί ολοκληρωμένη προσέγγιση για τη βελτίωση της *ασφάλειας* των τροφίμων, από το αρχικό στάδιο της τροφικής αλυσίδας, ‘‘περιβάλλον’’ μέχρι και το τελικό, ‘‘καταναλωτής’’.



**Εικόνα 7:** Προβιοτικά στο εσωτερικό του εντέρου

Η δράση διάφορων *μυκήτων* και *ζυμών*, σε συγκρίση με την αντίστοιχη των *μικροοργανισμών*, φαίνεται να προωθείται περισσότερο ως μέθοδος *συντήρησης*, καθώς η παραγωγή αντιβιοτικών ή άλλων τοξικών μεταβολιτών δεν επηρεάζεται από την δράση τους εναντίον παθογόνων *μικροβιοτών*.

## 5. ΜΥΚΗΤΕΣ

Ο τρόπος δράσης των *ζυμομύκητων* εναντίον των παθογόνων *μικροοργανισμών* είναι περίπλοκος. Βασίζεται στον *τροφικό* ανταγωνισμό, που αναπτύσσεται μεταξύ των *ζυμομύκητων* και των διάφορων *μικροοργανισμών* για τα θρεπτικά συστατικά. Επίσης, το φάσμα της δράσης τους περιλαμβάνει τον άμεσο παρασιτισμό, την μετάλλαξη του *μικροοργανισμού-στόχου* ή την παραγωγή πρωτεολυτικών *ενζύμων*. Αποτέλεσμα της δράσης των *ζυμομύκητων* αποτελεί η πρόκληση αντίστασης στην εξάπλωση παθογόνων ή και τοξικογόνων *μικροβίων* (Guo-Zheng et al, 2003).

Η δράση των *ζυμομύκητων*, που συμμετέχουν στη διαδικασία της *ζύμωσης*, έχει θετική αλλά και αρνητική επίδραση στην ποιότητα του τελικού, κατεργασμένου *τροφίμου*. Πέρα από την συμβολή τους, κυρίως στη βελτίωση της γεύσης και του αρώματος, οι *ζυμομύκητες* συχνά συνδέονται και με περιπτώσεις *τροφικών αλλοιώσεων* στα κατεργασμένα *τρόφιμα*. Εξαιτίας του ανταγωνισμού των *μικροβιοτών* για θρεπτικά συστατικά, η δράση ορισμένων *ζυμομύκητων* εναντίον άλλων ειδών *μυκήτων* και ‘*μούχλας*’ στηρίζεται και στην παραγωγή θανατηφόρων τοξινών από τους ίδιους τους *ζυμομύκητες*. Παράδειγμα αποτελεί η δράση της τοξίνης του *ζυμομύκητα Saccharomyces cerevisiae*, η ταυτοποίηση της οποίας έγινε μετά και το 1963. Μικροβιακά θανατηφόροι *ζυμομύκητες* παράγουν *μυοσίνη*, η οποία είναι εξίσου *μικροβιακά* θανατηφόρα πρωτεΐνη. Αναφέρεται ότι οι τοξίνες αποτελούνται από πρωτεΐνη και γλυκοπρωτεΐνη και το μοριακό τους βάρος ποικίλλει από 1,8-1,87  $\mu$ KDa. Παρόλα αυτά, μαζί με τα επιθυμητά *αντιμυκητιακά* αποτελέσματα των ‘*ζυμών*’ στα *τρόφιμα*, μερικές φορές, η αύξηση του *μύκητα* είναι ανεπιθύμητη. Η *αντιμικροβιακή* δράση των *ζυμομύκητων* είναι αποτελεσματική εναντίον μερικών *gram(+)* παθογόνων και μη παθογόνων *βακτηρίων*. Έχουν μελετηθεί αρκετά είδη τοξινών και η ειδικά θανατηφόρα δράση τους. Να σημειωθεί ότι μοριακά, τα γονιδιώματά τους παρουσιάζουν διαφορετικά χαρακτηριστικά.

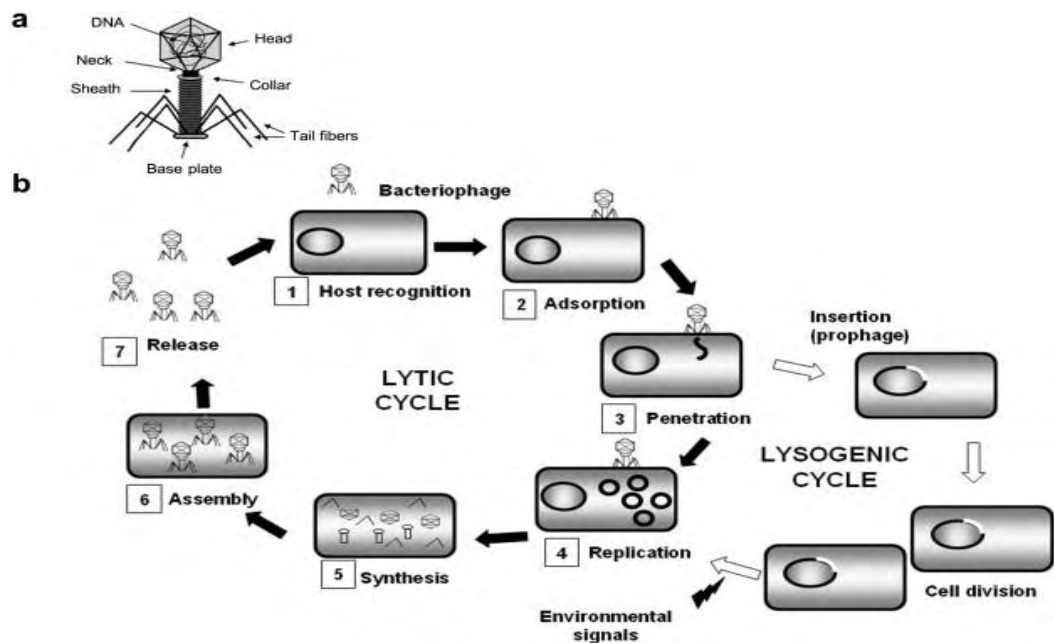
Όσον αφορά την μέθοδο της *βιοσυντήρησης*, η δράση των *ζυμομυκήτων* έχει δοκιμασθεί σε φρούτα και λαχανικά. Μετά την συγκομιδή τους, ακολουθεί η φυσική εξασθένηση του αμυντικού μηχανισμού αυτών και με αυτό τον τρόπο φρούτα και λαχανικά, που φέρουν φθορές ή είναι παραγινωμένα, μπορούν εύκολα να αποτελέσουν ξενιστές για τα διάφορα είδη ‘*μούχλας*’. Επίσης, χημικά συστατικά, που χρησιμοποιούνται για την συντήρηση των φρούτων και των λαχανικών, μετά και την συγκομιδή τους, είναι δυνατόν να αντκατασταθούν από την δράση των *ζυμομυκήτων* και των τοξινών, που παράγουν (Sagdic et al, 2014).

## 6. ΒΑΚΤΗΡΙΟΦΑΓΟΙ

*Βακτηριοφάγοι ή φάγοι* είναι ιοί που πολλαπλασιάζονται, χρησιμοποιώντας ως ξενιστές τα *βακτηριακά* κύτταρα. Οι *φάγοι* εξαπλώνονται σε ‘*ειδικούς*’ ξενιστές, μολύνουν δηλαδή μόνο ειδικές δομές και δεν τοποθετούνται σε άλλα είδη κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων άλλων *βακτηριακών* δομών, ανθρώπων και φυτών. Η ειδοποιός διαφορά, που ξεχωρίζει τους *βακτηριοφάγους* από τους ξενιστές τους, καθορίζεται από τους ειδικούς υποδοχείς, που βρίσκονται στην μεμβράνη των κυττάρων. Επίσης, δεν επηρεάζουν τους εναπομείνοντες *μικροβιότες* (Bhardwaj et al, 2015).

Οι *βακτηριοφάγοι* δείχνουν την *βακτηριακή* τους δραστηριότητα με το να διασπών τον *βακτηριακό* μεταβολισμό και να προκαλούν λύση του *μικροοργανισμού*. Η λύση του ξενιστή /*βακτηριακού* κυττάρου αποτελεί απόρροια δύο μηχανισμών. Με: **A)** Τον πολλαπλασιασμό του *φάγου*, όπου το γενετικό υλικό είναι το μόνο υλικό, που εισέρχεται στο κύτταρο και πολλαπλασιάζεται και **B)** Χωρίς τον πολλαπλασιασμό του *φάγου*, όπου ένας ικανός αριθμός *φάγων* προσκολλάται στο κύτταρο και προκαλεί λύση του κυττάρου, μέσω της μετατροπής του δυναμικού της μεμβράνης και /ή της δραστηριότητας των *ενζύμων* του υποβαθμισμένου σε ισχύ κυτταρικού τοίχους. Σε αυτή την περίπτωση όμως, για την επιβίωση των *βακτηριοφάγων*, χρειάζεται ένα μέσο, που θα ευνοεί την είσοδο των *φάγων*, οι οποίοι πρέπει να έρθουν σε επαφή με τον ξενιστή- κύτταρο.





**Εικόνα 8:** Απεικόνιση δράσης βακτηριοφάγων

## 6.1 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΝΔΟΛΥΣΙΝΩΝ

Οι *φάγοι* δρουν ενάντια στα *βακτηριακά* κύτταρα, τα οποία έχουν προσβάλλει, με δύο τρόπους:

1. Υπό πίεση, *νηματώδεις φάγοι* απελευθερώνονται από τα κύτταρα, χωρίς να τα θανατώνουν.
2. *Φάγοι*, όχι *νηματώδεις* καταστρέφουν το κυτταρικό τοίχος των *βακτηριακών* κυττάρων, προκαλώντας τη λύση αυτών με τη δράση ειδικών, κωδικοποιημένων, *φαγωτικών ενζύμων*.

Συγκεκριμένα, το *βακτηριακό*, κυτταρικό τοίχος διαθέτει ένα γλυκοπρωτεϊνικό επίστρωμα, το οποίο παρέχει στο *βακτήριο* στεγανότητα, συμβάλλοντας παράλληλα στη διαμόρφωση του σχήματός του.

Οι *ενδολυσίνες*(*λυσίνες*) είναι *ένζυμα* των *βακτηριοφάγων*, οι οποίες προκαλούν υδρόλυση του γλυκοπρωτεϊνικού επιστρώματος, σε συνδυασμό με τη δράση μικρών υδροφοβικών πρωτεϊνών, που ορίζονται ως *χολίνες*. Ως συνέπεια της διάσπασης της γλυκοπρωτεΐνης, το κύτταρο δεν είναι πλέον ικανό να αντέξει την πίεση του φαινομένου της *ώσμωσης* στο εσωτερικό του. Εν τέλει, εξαιτίας της δημιουργίας δυσμενούς περιβάλλοντος(*υδατικό, υποτονικό διάλυμα*) επέρχεται λύση του *βακτηριακού* κυττάρου.

Τα κύρια πλεονεκτήματα των ενδολυσινών, που τις καθιστούν ως ιδανικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες, είναι: α) η αναγνώρισή τους ως “ειδικοί” ξενιστές, β) η χρονικά έγκαιρη αποτελεσματικότητά τους, γ) ο ιδιαίτερα διάκριτος τρόπος δράσης τους και δ) η βακτηριοκτόνος δράση τους, η οποία δεν επηρεάζεται από την ευαισθησία των ενδολυσινών στη δράση των αντιβιοτικών (Sagdic et al, 2016).

Όσον αφορά τον έλεγχο για την πιθανή ύπαρξη τροφογενών νοσημάτων: η χρήση των ενδολυσινών συνίσταται, καθώς ως σταθερά μόρια δεν επηρεάζονται από παράγοντες που σχετίζονται με τα τρόφιμα, όπως είναι: η θερμοκρασία, η οξύτητα(pH), ακόμη και η μέθοδος επεξεργασίας του τροφίμου και οι εκάστοτε συνθήκες της. Η καταναλωτική υποστήριξη της χρήσης τους στηρίζεται επίσης στο ότι: γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί ενεργούν, παράγοντας έτσι τις ενδολυσίνες.

Η εφαρμογή της δράσης των ενδολυσινών, ως προσθετικό στη βιομηχανία τροφίμων, μελετάται. Η περισσότερη έρευνα αφορά τη χρήση ενδολυσινών στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Ενδεικτικά: Σε δείγμα από γάλα σόγιας εντοπίστηκε ανάπτυξη του είδους *Listeria monocytogenes*. Πειραματικά, προτάθηκε η εξής, ειδική αντιμετώπιση: η δράση φαγωτικής ενδολυσίνης ενάντια στα μικροβιακά στελέχη του γένους *Listeria* (*LysZ5*), η οποία εν τέλει θανάτωσε τις συνολικές αποκίες του είδους, συμβάλλοντας στην εξυγίανση του γάλακτος.

Οι βακτηριοφάγοι μπορούν να βρεθούν φυσικά σε κρασί, αλιεύματα, πουλερικά και ζυμωμένα προϊόντα. Αυτό δείχνει ότι αποτελούν φυσικούς πληθυσμούς των τροφικών οικοσυστημάτων και αλληλεπιδρούν με βακτηριακούς ξενιστές.

Όσον αφορά την ανθρώπινη υγεία, είναι ακίνδυνοι. Όσον αφορά το τομέα της οικονομικής διαχείρισης, οι βακτηριοφάγοι δεν ευνοούν απόλυτα την βιομηχανία των τροφίμων, καθώς μολυσμένοι φάγοι μπορούν να ελαττώσουν ή να παρεμποδίσουν την διαδικασία της ζύμωσης με το να μολύνουν τις καλλιέργειες εκκίνησης. Επίσης, είναι γνωστό ότι ευθύνονται για την καταστροφή του λακτικού οξέος από τη ζύμωση. Με αυτόν τον τρόπο, ουσιαστικά, αναστέλλεται η παραγωγή του τελικού, επιθυμητού προϊόντος.

Επιπλέον, οι βακτηριοφάγοι είναι κατάλληλοι: i) για τη μείωση των μικροβιακών αποικιών και τον περιορισμό εμφάνισης ασθενειών στα ζώα ή και την

πρόληψή τους απο αυτά (θεραπεία με τη χρήση *φάγων*), ii) για την απολύμανση των σφαγίων και άλλων ακατέργαστων προϊόντων, όπως είναι τα νωπά οπωροκηπευτικά, iii) για την απολύμανση του εξοπλισμού (*φαγική βιοσυσσωμάτωση*) και iii) για την επέκταση της *διάρκειας ζωής* των φθαρτών παρασκευασμένων *τροφίμων*, ως φυσικά *συντηρητικά*.

Οι *βακτηριοφάγοι* μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορα *τρόφιμα* ζωικής ή φυτικής προέλευσης. Και η αποτελεσματικότητά τους ποικίλλει. Η επιβίωση των *βακτηριών*, εναντίον της εφαρμογής των *φάγων* στα *τρόφιμα*, μπορεί να επηρεαστεί από ένα σύνολο παραγόντων, όπως είναι η συγκέντρωση *φάγων* και *βακτηρίων*, αλλά και η σύνθεση των *τροφίμων* (αλάτι, λιπαρά οξέα, θερμοκρασία, συγκέντρωση νερού κτλ). Οι *φάγοι* παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην εναλλαγή των περιβαλλοντικών συνθηκών. Η συμβατική παστερίωση στα *τρόφιμα* είναι ανεπαρκής με την αδράνεια των *φάγων* και απαιτεί αυστηρότερες συνθήκες που αφορούν τον χρόνο και τη θερμοκρασία.

Εμπορικά παρασκευάσματα *βακτηριοφάγων*, όπως είναι: το *ListShield*™, που περιέχει ένα μείγμα έξι *φάγων*, που απαντώνται στη φύση και δρουν εναντίον στελεχών του γένους *Listeria spp*, και το *Listex*™ P100, η χρήση του οποίου βασίζεται στη δράση του *φάγου* P100, έχουν εγκριθεί επίσημα από τον οργανισμό *FDA* και τον *USDA* (Hagens and Loessner 2014). Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες για την εφαρμογή *βακτηριοφάγων* εναντίον ποικίλων παθογόνων ή τοξικογόνων *βακτηρίων* για τον άνθρωπο. Μερικά από αυτά τα *βακτήρια*- παρακάτω αναφέρεται παράλληλα, και η βιβλιογραφία της μελέτης εφαρμογής τους σε διάφορα *τρόφιμα*- είναι τα εξής: το *Shigella spp.* (Zhang et al., 2013), το *C. jejuni* (Bigwood et al., 2008), το *Cronobacter sakazakii* (Zuber et al., 2008), το *S. aureus* (Bueno et al.), το *Pseudomonas fluorescens* (Sillankorva κ.ά., 2008) και το *Brochothrix thermosphacta* (Greer and Dilts 2002) ή το *Leuconostoc gelidum* (Greer et al, 2007).

### **6.1.1 Χρήση των ενζύμων**

Στα βιολογικά συστήματα, η φυσική παρουσία *ενζύμων* λειτουργεί ως ανταγωνιστικός παράγοντας εναντίον ανεπιθύμητων και επικίνδυνων *μικροοργανισμών*. Άλλα *ένζυμα* αποτελούν μία άλλη ομάδα από φυσικούς, *αντιμικροβιακούς* παράγοντες για την *βιοσυντήρηση τροφίμων*, με ευαισθησία στις *αντιμικροβιακές* επιθέσεις. Μερικοί ευκαρυωτικοί οργανισμοί παράγουν τέτοιους. Τα

τροφικά συστήματα, που περιέχουν τέτοια ανταγωνιστικά ένζυμα αυξάνουν την σταθερότητα των τροφών εναντίον των μικροβιακών δράσεων. Από την άλλη πλευρά, μπορούν να απομονωθούν και να χρησιμοποιηθούν στην βιοσυντήρηση των τροφίμων. Αυτά τα ένζυμα περιέχουν οξειδάσεις, λιπάσεις κτλ.

Τα ένζυμα θεωρούνται ως πρόσθετα τροφίμων και απαιτούν ειδική έγκριση, όσον αφορά την ποιότητα που θα προσδώσουν στο τρόφιμο ή την κατάσταση «GRAS». Ενδεικτικά, αναφέρονται τα εξής, χαρακτηριστικά είδη ενζύμων:

#### **Λυσοζύμη:**

Ένα από τα σημαντικότερα ένζυμα είναι η λυσοζύμη, το οποίο μπορεί να βρεθεί στο γάλα και στα αυγά. Πρόκειται για μια υδρολυτική *μουραμινιδάση*, που οδηγεί σε λύση των βακτηριακών κυττάρων. Τα gram(-) βακτήρια διαθέτουν μια εξωτερική μεμβράνη, η οποία μπορεί να προστατεύσει το κυτταρικό τοίχωμα από τη δράση της λυσοζύμης.

Γενικά, οι gram(-) μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ευαισθησία στη δράση της λυσοζύμης. Η λυσοζύμη είναι ιδιαίτερα δραστική ενάντια στη ραγδαία αύξηση σπορίων του μικροβιακού είδους *Clostridium*, όπως και εναντίον άλλων παθογόνων ή τοξικογόνων βακτηρίων, όπως τα είδη *Bacillus* και *Listeria*. Τα τελευταία χρόνια, οι έρευνες αφορούσαν ιδιαίτερα τον έλεγχο της ανάπτυξης του είδους *Listeria monocytogenes* με τη δράση της λυσοζύμης (Hughey και Johnson, 1987, Carminati and Carini, 1989 και Bester and Lombard, 1990). Η λυσοζύμη μπορεί να ελέγξει την ανάπτυξη του είδους *Listeria* σε τροφικά συστήματα, όσον αφορά τις μικροβιακές καλλιέργειες (Hughey and Johnson, 1987). Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε είδη διατροφής, όπως το γάλα (Carminati and Carini, 1989) και το τυρί (Bester and Lombard, 1990). Σε ορισμένα τρόφιμα, η λυσοζύμη ως μόριο παρουσιάζει μια αξιολογούμενη σταθερότητα.

#### **Οξειδάση της γλυκόζης:**

Η οξείδωση της γλυκόζης καταλύεται από το ένζυμο GOX, υπεύθυνο για την οξείδωση της γλυκόζης, παράγοντας γλυκονικό οξύ και υπεροξειδίο του υδρογόνου, παρουσία μοριακού οξυγόνου. Η ένωση αυτή είναι ένα προσθετικό τροφίμων, που χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες και θεωρείται ασφαλής ουσία (GRAS). Η οξείδωση της γλυκόζης έχει αντιμικροβιακή δράση εναντίον gram(-), αλλά και gram(+) βακτηρίων, καθώς και μυκητοκτόνο δράση.

Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί, ώστε να προσδιοριστεί η καταλληλότητα της οξειδάσης της γλυκόζης ως αντιμικροβιακός παράγοντας στα διάφορα τροφικά συστήματα. Συγκεκριμένα, οι Yoo και Rand (2006) αναφέρουν ότι 0.5-2.0 U/ml οξειδάση της γλυκόζης, αναμειγμένη με 2.0, 1.0 και 4.0 mg/ml γλυκόζης, περιορίζουν την αύξηση του *Pseudomonas fragi*.

## **7. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΑ ΑΛΙΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ**

Η μικροχλωρίδα αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα όλων των προϊόντων διατροφής και καθορίζεται από τις πρώτες ύλες, που χρησιμοποιούνται, τις παραμέτρους επεξεργασίας τους, καθώς και τις συνθήκες αποθήκευσης, που ακολουθούν. Τα αλιευτικά προϊόντα είναι τρόφιμα. Παράλληλα όμως, στον άξονα του χρόνου, αποτελούν δυναμικά συστήματα, στα οποία λαμβάνουν χώρα αλλαγές στο pH, στην ατμοσφαιρική στρωμάτωση, στη θρεπτική σύσταση, αλλά και στη φυσική μικροχλωρίδα.

Η ανάπτυξη και ο μεταβολισμός των μικροοργανισμών επηρεάζει σημαντικά τον κύκλο ζωής της οργανικής, αλλά και ανόργανης ύλης σε όλα τα οικοσυστήματα. Η μικροβιακή αποικοδόμηση αποτελεί κύρια αιτία ακαταλληλότητας ενός προϊόντος διατροφής προς κατανάλωση, από τον άνθρωπο. Οφείλεται και σε χημικές αντιδράσεις, αλλά και σε φυσικές φθορές. Συνήθως, εκδηλώνεται στην ομάδα των αλιευτικών προϊόντων διατροφής, ως αλλοίωση.

Η αλλοίωση των θαλασσινών οφείλεται στις φυσικές και χημικές συνθήκες που επικρατούν, εξαιτίας της ανάπτυξης μικροοργανισμών σε μεγάλους αριθμούς (> 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> cfu/g). Συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση (ανταγωνισμός ή συμβίωση), μεταξύ των διαφορετικών ομάδων μικροοργανισμών μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη τους και το μεταβολισμό τους (Gram, 2017).

Ο αριθμός των κρουσμάτων, που αποδίδονται στην κατανάλωση θαλασσινών, είναι γενικά υψηλός, αντιστοιχεί στο 10%-20% του συνολικού ποσοστού των τροφογενών νοσημάτων. Εξαρτάται όμως, από την ποιότητα των συστημάτων ελέγχου, το επίπεδο της κατανάλωσης και κυρίως, τις συνήθειες των καταναλωτών.

Τα ωμά μαλάκια, τα ελαφρώς διατηρημένα και καπνισμένα αλιευτικά προϊόντα, *LPFP* και *SPFP*, αντίστοιχα αποτελούν την πιο επισφαλή ομάδα αλιευτικών προϊόντων για τους καταναλωτές (Leroi, 2010).

Αυτόχθονοι μικροοργανισμοί των υδάτινων οικοσυστημάτων, όπως είναι οι: *Vibrio vulnificus*, *V. parahaemolyticus* και *V. cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* και *Aeromonas hydrophila*, παρότι κανονικά δεν αποτελούν σοβαρό κίνδυνο, όσον αφορά την ασφάλεια, όταν βρεθούν στα είδη τροφίμων, που έχουν αναφερθεί, εξαιτίας των συνθηκών, παρατηρείται ραγδαία αύξηση του πληθυσμού τους και /ή παραγωγή τοξινών. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του βαθμού της δραστηριότητάς τους (πχ: παθογένεια, αλλοίωση τροφίμου). Το ίδιο συμβαίνει και στην περίπτωση επιμόλυνσης των παραπάνω προϊόντων από εξωγενείς, παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως είναι οι: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* ή εντεροαιμορραγική *Escherichia coli*, κατά την διάρκεια επεξεργασίας των αλιευμάτων. Μάλιστα, είναι δυνατόν, μερικά, από αυτά τα βακτήρια να είναι παρόντα σε παράκτιες περιοχές, εκβολές θαλασσινού νερού ή σε συστήματα υδατοκαλλιεργειών, εξαιτίας των ανθρώπινων δραστηριοτήτων (Kannappan and Manja, 2002).

Χαρακτηριστικά, το μικροβιακό είδος *L. monocytogenes* αποτελεί συχνό παθογόνο των νωπών ψαριών. Παρόλα αυτά, έχει απομονωθεί, αρκετές φορές και από τα *LPFP*. Η ανάπτυξή του δεν καταστέλλεται με τη μέθοδο της αλάτισης ή της κάπνισης, σε θερμοκρασία <math>30^{\circ}\text{C}</math> (*Cold smoking*). Συνεπώς, ο έλεγχός του κρίνεται αναγκαίος.

Έρευνες έχουν αποδείξει ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια, που έχουν απομονωθεί από τα θαλασσινά, όπως και οι βακτηριοσίνες τους μπορούν να εμποδίσουν ή να καταστείλουν την ανάπτυξη του συγκεκριμένου παθογόνου, σε περιβαλλοντικές συνθήκες, όμοιες με εκείνες του τροφικού μικροπεριβάλλοντος των *LPFP*. Παρακάτω δίνονται και ορισμένα παραδείγματα (Ghanbari et al., 2013).

ΕΙΔΟΣ ΨΑΡΙΟΥ (φιλέτο)	ΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ / ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	ΑΝΑΦΟΡΕΣ
Γατόψαρο ( <i>Phenacogrammus interruptus</i> )	<i>Lc Lactis</i> ssp <i>cremolis</i> ATTC 19257	Βελτίωση της <b>οσμής</b> και της <b>όψης</b> του προϊόντος	Kim & Hearnberger, 1994
Γατόψαρο( <i>Phenacog -rammus interruptus</i> )	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bif. Infantis</i> , ή <i>Bif. longum</i>	Επέκταση της <b>διάρκειας ζωής</b> του προϊόντος	Kim & James, 2006
Σαυρίδι( <i>Trachurus trachurus</i> )	<i>Ped.</i> ssp. (Bac+, Bac-)	<b>Οργανοληπτικά</b> , βελτίωση της <b>ποιότητας</b> του προϊόντος	Cosansu, Mol, Ucok Alakavuk, & Tosun, 2011
Σαυρίδι <i>Rastrelliger kanagurta</i>	<i>Ped. acidilactici</i> , <i>Ped. pentosaceous</i> , <i>Str. thermophilus</i> , <i>Lc Lactis</i> , <i>Lb plantarum</i> , <i>Lb acidophilus</i> , <i>Lb helveticus</i>	Έλεγχος των <b>αλλοιογόνων βακτηρίων</b> και <b>αμινών</b> του προϊόντος	Sudalayandi & Manja, 2011
Ιριδίζουσα πέστροφα ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Νισίνη, εμπιέροντας υδατικό δ/μα <i>Lc. lactis</i> ssp <i>lactis</i> NCFB 497	Καμία παρατήρηση	Kisla & Ünlütürk, 2004
Σολομός( <i>undefined</i> )	<i>Lb sakei</i> LAD και <i>Lb alimentarius</i> B133	Βελτίωση των <b>οργανοληπτικών ιδιοτήτων</b> του προϊόντος	Morzel, Fitzgerald, & Arendt, 1997
Σαρδέλα( <i>undefined</i> )	Νισίνη	Απομόνωση της <b>φυσικής μικροχλωρίδας</b> του προϊόντος	Elotmani & Assobhei, 2004
Τιλάπια ( <i>undefined</i> )	<i>Lb casei</i> DSM 120011(A) και <i>Lb acidophilus</i> 1M	Βελτίωση ποιοτικά, <b>βιοχημικών</b> και <b>μικροβιακών παραμέτρων</b>	Ibrahim & Salha, 2009
Τιλάπια ( <i>undefined</i> )	<i>Lb casei</i> DSM 120011 και <i>Lb acidophilus</i>	Επέκταση της <b>διάρκειας ζωής</b> και <b>ασφάλειας</b> του προϊόντος	Daboor & Ibrahim, 2008
Καλκάνι( <i>Scophthal m-us maximus</i> ) <b>*υπό συνθηκών συσκευασίας κενού(VP) και τροποποιημένης ατμόσφαιράς(MAP)</b>	Εντεροσίνη, μεταβολίτης <i>εντερόκοκκων(enterococci)</i>	Παραγωγή ουσιών <b>ενάντια</b> <b>στη δράση</b> στελεχών των ειδών: <b>Listeria</b> , <b>Staphylococci</b> , <b>Bacilli</b>	Campos, Castro, Aubourg, & Velázquez, 2012
νοπή Γλώσσα ( <i>undefined</i> )	<i>Bif.bifidum</i>	Απομόνωση του <b>Pseudomonas spp</b> , ιδίως του στελέχους <b>P. phosphoreum</b>	Altieri et al., 2005

Ιριδίζουσα πέστροφα ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού	<i>Lb. sakei</i> CECT 4808 και <i>Lb. curvutus</i> CECT 904T	Επέκταση της <b>διάρκειας ζωής</b> του προϊόντος	Katikou et al., 2007
Ιριδίζουσα πέστροφα ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού	Σακακινίνη A, μεταβολίτης του στελέχους <i>Lb. sakei</i> (Lb706)	Απομόνωση του στελέχους <b><i>L. monocytogenes</i></b>	Aras Husar, Kaban, Hisar, Yanik, & Kaya, 2005

Η αλλοίωση των νωπών ψαριών, γενικά προκαλείται από gram(-) μικροοργανισμούς. Στα φρέσκα ψάρια και τα θαλασσινά, που έχουν συσκευαστεί ακόμη και υπό κενό αέρος, παθογόνοι μικροοργανισμοί όπως είναι: το *Clostridium botulinum* και το *L. monocytogenes* είναι επίσης δυνατόν να προκαλέσουν προβλήματα.

Μελέτες έχουν εστιάσει στην ενσωμάτωση ενεργών μεταβολικά βακτηριακών καλλιιεργειών, που παράγουν βακτηριοσίνες στα προϊόντα ή στην προσθήκη συμπυκνωμένων παρασκευασμάτων βακτηριοσίνης σε αυτά.

<b>Καπνισμένα είδη αλιευμάτων, σε θερμοκρασία (&lt;30°C)</b>			
Καπνιστός σολομός *σε συσκευασία, υπό παρουσία CO <sub>2</sub>	Νισίνη	Μείωση της ανάπτυξης του στελέχους <b><i>L. monocytogenes</i></b>	Nilsson, 1997; Nilsson, Gram, & Huss, 1999
Καπνιστός σολομός	Σακακινίνη P	Απομόνωση του στελέχους <b><i>L. monocytogenes</i></b>	Aasen et al., 2003
Καπνιστός σολομός	<i>C. maltaromaticum</i> CS526	Απομόνωση του στελέχους <b><i>L. monocytogenes</i></b>	Yamazaki, Suzuki, Kawai, Inoue, & Montville, 2003
Καπνιστός σολομός	<i>C. divergens</i> V41 <i>C. divergens</i> V1 <i>C. divergens</i> SF668	Απομόνωση του στελέχους <b><i>L. monocytogenes</i></b>	Brillet, Pilet, Prevost, Cardinal, & Leroi, 2005
Καπνιστός σολομός	<i>Lb. sakei</i>	Απομόνωση του στελέχους <b><i>L. innocua</i></b>	Weiss & Hammes, 2006
Καπνιστός σολομός	<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. plantarum</i> και <i>Lb. maltaromaticum</i>	Απομόνωση του στελέχους <b><i>L. innocua</i></b>	Vescovo, Scolari, & Zacconi, 2006



Καπνιστός σολομός	<i>Lb. casei</i> T3 και <i>Lb. plantarum</i> PE2	Απομόνωση του στελέχους <i>L. innocua</i>	Vescovo, Scolari, & Zacconi, 2006
Καπνιστός σολομός	<i>Ent. faecium</i> ET05	Απομόνωση του στελέχους <i>L. innocua</i>	Tome, Pereira, Lopes, Gibbs, & Teixeira, 2008
Καπνιστός σολομός	<i>C. divergens</i> M35 (bac+)	Απομόνωση του στελέχους <i>L. monocytogenes</i>	Tahiri, Desbiens, Kheadr, & Lacroix, 2009
Καπνιστός σολομός *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού(VP)	<i>C. spp</i>	Βελτίωση των <b>οργανοληπτικών χαρακτηριστικών</b> του προϊόντος	Leroi, Arbey, Joffraud, & Chevalier, 1996 Duffes, Corre, Leroi, Dousset, & Boyaval, 1999
Καπνιστός σολομός *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού(VP)	<i>C. piscicola</i> V1, <i>C. divergens</i> V41 και <i>Divercin</i> V41	Απομόνωση του στελέχους <i>L. monocytogenes</i>	Duffes, Leroi, Boyaval, & Dousset, 1999; Nilsson et al., 2004
Καπνιστή ιριδίζουσα πέστροφα *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού(VP)	Νισίνη	Απομόνωση του στελέχους <i>L. monocytogenes</i>	Nykanen, Weckman, & Lapvetelainen, 2000
Καπνιστός σολομός *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού(VP)	Σακακινίνη P - μεταβολίτης του στελέχους <i>Lb. sakei</i> και Σακακινίνη P	Απομόνωση του στελέχους <i>L. monocytogenes</i>	Katla et al., 2001
<b>Καρκινοειδή:</b> <b>Γαρίδες(undefinied)</b>			
Αρτέμια(undefinied)	Νισίνη Z, Καρκινοκίνη UI49 κ.α	Βελτίωση της <b>ποιότητας</b> και επέκταση της <b>διάρκειας ζωής</b> του προϊόντος	Einarsson & Lauzon, 1995
Κατεγυμμένες γαρίδες	Νισίνη	Απομόνωση του είδους <b><i>Pseudomonas</i></b> και του <b>H<sub>2</sub>S</b> , παράγωγα των βακτηρίων	Shirazinejad, Noryati, Rosma, & Darah, 2010

Ελαφρά προ-μαγειρεμένες γαρίδες	<i>Lc. piscium</i> CNCM-4031	Απομόνωση του στελέχους <b><i>Brochothrix thermosphacta</i></b> και βελτίωση των <b>οργανοληπτικών δεικτών</b>	Fall, Leroi, Cardinal, Chevalier, & Pilet, 2010
Ελαφρά προ-μαγειρεμένες γαρίδες	<i>C. maltaromaticum</i>	Καμία παρατήρηση	Laursen et al., 2005
Ελαφρά προ-μαγειρεμένες γαρίδες *υπό συνθηκών συσκευασίας κενού(VP)	<i>Lc. piscium</i> EU2241 και <i>Leuc. gelidum</i> EU2247	Απομόνωση των στελεχών <b><i>L. monocytogenes</i></b> και <b><i>Staph. aureus</i></b>	Matamoros et al., 2009

## 8. Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΕΜΠΟΔΙΩΝ (HURDLE TECHNOLOGY)

Οι αλλοιώσεις, όπως και η δηλητηρίαση των τροφίμων από τη δράση μικροοργανισμών αποτελεί επίμαχο ζήτημα, καθώς ο επιθυμητός, πλήρης έλεγχός τους δεν έχει επιτευχθεί, παρά το ευρύ φάσμα των διαθέσιμων τεχνολογιών συντήρησης (π.χ. κατάψυξη, παστερίωση, κονσερβοποίηση κτλ). Στην πραγματικότητα όμως, το πρόβλημα περιπλέκεται και διευρύνεται, αν υπολογιστεί και η σημερινή απαίτηση των καταναλωτών για πιο φυσικά και φρέσκα προϊόντα τροφίμων, η οποία προτρέπει την βιομηχανία τροφίμων, να χρησιμοποιεί όχι μόνο ήπιες τεχνολογίες συντήρησης (π.χ. ψύξη, συσκευασίες τροποποιημένης ατμόσφαιρας(MAP)), αλλά και εναλλακτικές, όπως η βιοσυντήρηση, η οποία χαρακτηρίζεται και ως φυσική μέθοδος συντήρησης.

Προς όφελος λοιπόν της βιομηχανίας τροφίμων, η εφαρμογή νέων ή βελτιωμένων μεθόδων συντήρησης, ήπιας τεχνολογίας κρίνεται αναγκαία, καθώς θα δύναται η παραγωγή φρέσκων, σταθερών ως προς την ποιότητα και ασφαλών τροφίμων. Η ιδέα της τεχνολογίας των εμποδίων δεν είναι νέα αλλά θα μπορούσε να ανταποκριθεί πλήρως στις παραπάνω απαιτήσεις.

Η ιδέα της τεχνολογίας των εμποδίων(*hurdle technology*) ή αλλιώς συνδυαστική συντήρηση ή συντήρηση φραγμών, για πρώτη φορά, προτάθηκε από τον Leistner (Leistner, 1992). Συγκεκριμένα, υποστήριζε ότι η ασφάλεια, η σταθερότητα,

οι οργανοληπτικές και διατροφικές ιδιότητες των *τροφίμων* βασίζονται στην εφαρμογή συνδυασμένων παραγόντων *συντήρησης(εμπόδια)*, τους οποίους σε ένα *τρόφιμο*, οι *μικροοργανισμοί* αδυνατούν να ξεπεράσουν. Η *τεχνολογία εμποδίων* λοιπόν, έχει ως στόχο τον *συνδυασμό* διαφορετικών μεθόδων και διαδικασιών *συντήρησης* για την αναστολή της ανάπτυξης *μικροβίων* στα διάφορα *τροφικά συστήματα*.

Ο *μικροοργανισμός* πρέπει να δράσει, προκειμένου να ξεπεράσει κάθε *εμπόδιο*. Όσο “υψηλότερος” είναι ο βαθμός δραστηριότητας του *εμποδίου* ενάντια στη δράση του *μικροοργανισμού*, τόσο “υψηλότερος” είναι ο βαθμός δραστηριότητας του *μικροοργανισμού* και αυτομάτως τόσο μεγαλύτερος αριθμός *μικροοργανισμών* απαιτείται για ξεπεραστεί. Μερικά *εμπόδια*, όπως η *παστερίωση*, χαρακτηρίζονται ως *ισχυρά*, καθώς επηρεάζουν μεγάλο αριθμό, διαφορετικών *μικροβιακών* ειδών. Ενώ άλλοι, όπως η *αλάτιση*, έχουν λιγότερο ισχυρό αντίκτυπο, το οποίο εξαρτάται από το εύρος των *μικροβιακών* ειδών, τα οποία επηρεάζει (Leroi et al, 2006).

Το γεγονός ότι επηρεάζει τη *μικροβιακή* σταθερότητα και τηρεί την *ασφάλεια* των *τροφίμων* είναι γνωστό και συνειδητά ή ασυνείδητα εφαρμόζεται εδώ και χρόνια, σε πολλά είδη *τροφίμων*, ειδικά στις αναπτυσσόμενες χώρες. Το πόσο αποτελεσματική θα μπορούσε να είναι όμως, ως μέθοδος *συντήρησης*, έγινε αντιληπτό πριν από περίπου 15 χρόνια, στη βιομηχανία επεξεργασίας κρέατος. Πλέον, το φάσμα των προϊόντων διατροφής, στα οποία βρίσκει εφαρμογή, έχει διευρυνθεί, περιλαμβάνοντας διάφορα είδη φρούτων, γαλακτοκομικών προϊόντων, *αλιευμάτων* κτλ.

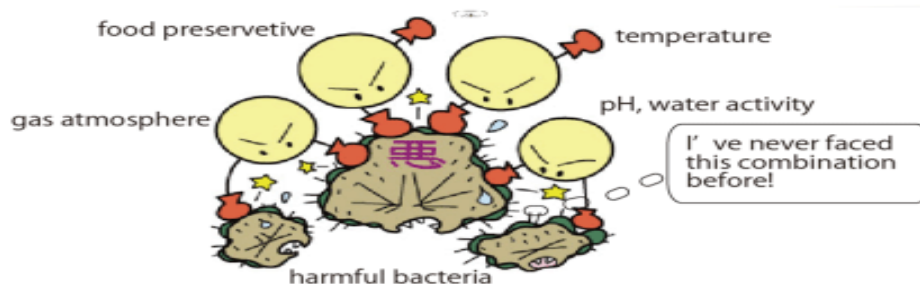
Η *τεχνολογία εμποδίων(hurdle technology)* αποτελεί σημαντική εξέλιξη για την εφαρμογή μεθόδων *συντήρησης*, *ήπιων τεχνολογιών*, καθώς σε ένα *τροφικό* σύστημα δύναται ο συντονισμένος έλεγχος εμφάνισης πιθανής *αλλοίωσης* και/ ή δηλητηρίασης από *μικροοργανισμούς*. Ενδεικτικά, η δραστηριότητά τους δεν επηρεάζεται από την ομοιόσταση των *μικροβιακών* κυττάρων. Εφαρμόζεται σε *ζυμωμένα* και μη *τρόφιμα* και δεν επηρεάζει τη διαδικασία της *ζύμωσης*. Τέλος, το αποτέλεσμα της δράσης της μεθόδου είναι συλλογικό και πιο δραστικό απ’ ότι εάν εφαρμόζονταν μεμονωμένα διάφορες μέθοδοι *σύντηρησης*. Αυτό δίνει τη δυνατότητα αξιοποίησης της κάθε μεθόδου *συντήρησης* στο έπακρον, ακόμη και όταν η δράση ορισμένης, ενάντια στους *μικροοργανισμούς*, δεν είναι τόσο ισχυρή.

Τα κύρια εμπόδια, που χρησιμοποιούνται και παράλληλα τηρούν την ασφάλεια των τροφίμων είναι: η θερμοκρασία (υψηλότερη ή χαμηλότερη), η ενεργότητα νερού ( $a_w$ ), το pH, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό ( $E_h$ ), τα χημικά συντηρητικά, η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP), η υψηλή υδροστατική πίεση, αλλά και η ανταγωνιστική μικροχλωρίδα (αντιμικροβιακές ενώσεις που παράγουν τα LAB) (Ananou et al., 2007).

### 8.1 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ ΣΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΕΜΠΟΔΙΩΝ

Η χρήση βακτηριοσινών, σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους συντήρησης για τη δημιουργία μιας σειράς εμποδίων, κατά τη διάρκεια επεξεργασίας των τροφίμων, έχει προταθεί από διάφορους ερευνητές. Στόχος αποτελεί η μείωση της αλλοίωσης των τροφίμων από μικροοργανισμούς.

Στην πραγματικότητα, έχει αποδειχθεί ότι η εφαρμογή χημικών συντηρητικών, φυσικών επεξεργασιών (π.χ θερμότητα) ή νέων, ήπιων, μη θερμικών, φυσικών μεθόδων (π.χ παλμικά ηλεκτρικά πεδία, HHP, συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας) αυξάνουν τη διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών. Με αυτόν τον τρόπο, επηρεάζουν θετικά τη δράση πολλών βακτηριοσινών (Garriga et al., 2002). Συγκεκριμένα, η μέθοδος συντήρησης, που συνδυάζει τη δράση των βακτηριοσινών με επιλεγμένα εμπόδια, επηρεάζει τη διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης. Παράλληλα, έχει βρεθεί ότι αυξάνεται η αποτελεσματικότητα ορισμένων βακτηριοσινών των LAB έναντι ορισμένων, gram(-), μικροβιακών κυττάρων, τα οποία γενικά, παρουσιάζουν μία ανθεκτικότητα. Επίσης, η ανάπτυξη παθογόνων, όπως τα *E. Coli* και *Salmonella* μπορούν να ελεγχθούν, όταν χρησιμοποιούνται χημικοί παράγοντες μετάλλων, όπως EDTA, τριπολυφωσφορικό νάτριο (STPP) ή φυσικές μέθοδοι όπως θερμότητα και HHP, σε συνδυασμό με βακτηριοσίνες.



Combination hurdle theory (soft technology)

Εικόνα 9: Παράδειγμα εφαρμογής της τεχνολογίας εμποδίων

Παρακάτω, αναφέρονται ορισμένα παραδείγματα, συνδυασμού μεθόδων συντήρησης, ήπιας τεχνολογίας και δράσης των βακτηριοσινών (Ananou et al, 2007).

### ΝΙΣΙΝΗ

#### ΥΨΗΛΗ ΥΔΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ (HHP)

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Ο συνδυασμός της δράσης της νισίνης και της τεχνολογίας HHP ήταν αποτελεσματικός. Επιτεύχθηκε αδρανοποίηση της φυσικής μικροχλωρίδας ενός είδους τυριού. Επιπλέον, λόγω της συνδυασμένης δράσης, παρατηρήθηκε περιορισμός των μικροβιακών σπορίων των ειδών *S. carnosus* και *B. subtilis*, αν και μέρος του πληθυσμού τους επιβίωσε, παρά τη θεραπεία.

### ΝΙΣΙΝΗ - ΠΕΝΤΙΟΣΙΝΗ AcH

#### Μεταβολή του pH και της θερμοκρασίας

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Παρατηρήθηκε μείωση των αποικιών του μικροβιακού είδους *L. innocua*, εξαιτίας της δράσης της νισίνης και του χαμηλού pH. Βέβαια, ορισμένα είδη παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στη δράση της νισίνης. Πρόσθετα εμπόδια, όπως η θερμοκρασία ψύξης, προκάλεσαν δραματική μείωση των μικροβιακών πληθυσμών και επέτρεψαν την αύξηση του χρόνου αποθήκευσης του προϊόντος, στις 10 ημέρες, σε υγρό ορό γάλακτος.

### ΝΙΣΙΝΗ - ΠΕΝΤΙΟΣΙΝΗ AcH

#### Προσθήκη χημικών συντηρητικών (λακτικό και κιτρικό νάτριο)

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Η συνδυασμένη δράση χημικών συντηρητικών (κιτρικό νάτριο, λακτικό νάτριο), νισίνης και χαμηλής θερμοκρασίας ελέγχει την ανάπτυξη του μικροβιακού στελέχους *Arcobacterbutzleri*, στα πουλερικά.

### ΝΙΣΙΝΗ - ΠΕΝΤΙΟΣΙΝΗ AcH

#### ΥΨΗΛΗ ΥΔΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ (HHP)

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Ο συνδυασμός της τεχνολογίας HHP και της δράσης της πεντιοσίνης AcH προκαλεί μείωση των αποικιών των ειδών *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. Coli O157: H7* και *Lb. Sakei*.

### ΝΙΣΙΝΗ - ΠΕΝΤΙΟΣΙΝΗ AcH

#### ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΠΕΔΙΑ (PEF)

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Η προσθήκη νισίνης, πριν από την εφαρμογή της τεχνολογίας PEF αύξησε την ευαισθησία του είδους *L. innocua*.

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Ο συνδυασμός της πεντιοσίνης και του διοξεικού νατρίου δρά έναντι του είδους *L. monocytogenes*, σε θερμοκρασία δωματίου και σε χαμηλή θερμοκρασία.

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Οι εντεροσίνες A και B χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με την τεχνολογία HHP, για την ενίσχυση της ασφάλειας του ζαμπόν έναντι του είδους *L. monocytogenes*. Οι μετρήσεις των παθογόνων ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης στο τέλος της αποθήκευσης.

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Η αποτελεσματικότητα της εντεροσίνης έναντι του είδους *S. aureus* ενισχύθηκε σημαντικά σε συνδυασμό με μέτρια θερμική επεξεργασία στο γάλα.

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Ο συνδυασμός της As-48 και του STPP ή του γαλακτικού οξέος ενεργεί δραστικά έναντι του είδους *S. aureus*. Η δραστικότητα της AS-48 αυξάνεται παρουσία οργανικών οξέων σε pH 4,5. Ο συνδυασμός με γαλακτικό οξύ μειώνει τον πληθυσμό του είδους *S. aureus*, υπό ουδέτερο pH με μέτρια θερμική επεξεργασία στο γάλα.

- **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ:** Η αντιμικροβιακή δραστικότητα της AS-48 έναντι του στελέχους *E. Coli* ενισχύεται σε συνδυασμό με τη χρήση ήπιας θερμικής επεξεργασίας, παρουσία παράγοντων διαπερατότητας, αλλά και STPP ή υπό όξινες ή αλκαλικές συνθήκες σε ρυθμιστικό διάλυμα και σε χυμό μήλου.

## 9. ΕΠΙΛΟΓΟΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, η μέθοδος της *βιοσυντήρησης* δεν είναι νέα. Εξελικτικά “εκινείτο” μέσα στο χρόνο, απλά κάθε φορά περιγραφόταν διαφορετικά, ανάλογα με τις γνώσεις, που κατείχαν όσοι την εφάρμοζαν.

Η *βιοσυντήρηση* αποτελεί ενέργεια των *μικροοργανισμών*. Ουσιαστικά, το κάθε *τρόφιμο* λειτουργεί ως μεμονωμένο μικροπεριβάλλον, στο οποίο επικρατούν κάθε φορά διαφορετικές συνθήκες. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη *μικροοργανισμών*, οι οποίοι ανταγωνίζονται άλλους για θρεπτικά συστατικά. Αυτό το είδος “ανταγωνισμού” οδηγεί στη θανάτωση ορισμένων ειδών *μικροοργανισμών* και /ή έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ειδικών ουσιών, που επιφέρουν τη θανάτωση ή καταστέλλουν ανεπιθύμητα είδη *μικροοργανισμών*. Έχει αποδειχθεί με την πρόοδο της τεχνολογίας και των επιστημών, ότι οι *μικροοργανισμοί* που θανατώνονται, είναι παθογόνοι ή /και *αλλοιογόνοι* για το ίδιο το *τρόφιμο*. Επίσης, έχει βρέθει ότι η δράση των *οξυγαλακτικών βακτηρίων* αποτελεί την πιο αντιπροσωπευτική μορφή *βιοσυντήρησης*. Για αυτόν το λόγο, τις περισσότερες φορές, η εφαρμογή της *βιοσυντήρησης* νοείται κυρίως ως δράση των *οξυγαλακτικών βακτηρίων*(LAB).

Τα πλεονεκτήματα, που έχουν καταγραφεί από τις διάφορες πειραματικές δοκιμές για τη δράση των *βιο-συντηρητικών*, μπορούν να συνοψιστούν ως εξής: (1) παράταση της *διάρκειας ζωής* των *θαλασσινών*, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, (2) μείωση του κινδύνου μετάδοσης *τροφογενών παθογόνων* στα *LFPF* και *SPFP*, (3) βελτίωση των οικονομικών απωλειών, που οφείλονται στην *αλλοίωση* των *θαλασσινών*, (4) μείωση της χρήσης χημικών *συντηρητικών* και της εφαρμογής εντατικών, φυσικών επεξεργασιών όπως είναι: η θέρμανση, η ψύξη κ.λπ., συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση της θρεπτικής αξίας και ποιότητας των *τροφίμων*, (5) καλή επιλογή για τη βιομηχανία, λόγω του χαμηλού κόστους εφαρμογής τους και (6) ανταπόκριση στις απαιτήσεις των καταναλωτών για *ασφαλή τρόφιμα*, χωρίς *συντηρητικά*, φρέσκα(όχι εντατική μεταποίηση) (Gálvez et al, 2007).

Ωστόσο, υπάρχουν και κάποια μειονεκτήματα, που πρέπει να ληφθούν υπόψιν. Η αποτελεσματικότητα των *προστατευτικών καλλιεργειών* και /ή η δράση των ενώσεών τους στα *τρόφιμα* μπορεί να περιοριστεί από μια σειρά παραγόντων,

όπως είναι: το στενό φάσμα δραστηριότητας ορισμένων παραγόντων, η γενετική αστάθεια ορισμένων *μικροοργανισμών*, αλλά και των *παραγώγων* τους, η μείωση της δραστηριότητάς τους σε στερεές μήτρες *τροφίμων*, η αδρανοποίησή τους μέσω πρωτεολυτικών *ενζύμων* ή η δέσμευσή τους σε συστατικά *τροφίμων*, όπως λιπίδια, η κακή προσαρμογή της *καλλιέργειας* στα *τροφικά* συστήματα (π.χ σε ψύξη). Επιπλέον, οι περισσότερες *καλλιέργειες LAB* δεν είναι ικανές να επιβιώσουν σε εμπορικές θερμικές κατεργασίες. Συνεπώς, η πρόσθεσή τους γίνεται μετέπειτα, συνήθως με εμφύσηση ή ψεκάσμο, μόνο μετά από θερμική επεξεργασία. Αυτό αυξάνει το κόστος για την βιομηχανία (Devlieghere, Vermeiren, & Debevere, 2004).

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί ερευνητικές δραστηριότητες για τη μελέτη της εφαρμογής *προστατευτικών* καλλιεργειών ως φυσικά *συντηρητικά* σε διάφορα είδη *θαλασσινών*. Είτε αυτά τα φυσικά *συντηρητικά* προστίθενται τεχνητά, είτε ωθείται φυσικά η παραγωγή τους στο προϊόν, έχει επιτευχθεί ουσιαστικά ο *μικροβιακός*, ανεπιθύμητος έλεγχος. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή τους στα *αλιευτικά* προϊόντα δεν υποστηρίζεται, καθώς περιοριστικό παράγοντα αποτελεί το γεγονός ότι είναι αποτελεσματικά μόνο σε ένα στενό εύρος *τροφικών* συστημάτων.

Αναμένεται ότι, η διεξαγωγή επιπρόσθετων μελετών για την επιλογή κατάλληλων στελεχών *LAB* και των αντίστοιχων συνδυασμών τους για τον περιορισμό τόσο των παθογόνων, όσο και των *αλλοιογόνων μικροβίων*, καθώς και η διερεύνηση της φύσης των στελεχών και του μηχανισμού δράσης τους, που αποτελούν το ανασταλτικό δυναμικό, θα οδηγήσουν οριστικά στην βελτίωση της δραστηριότητας της μεθόδου.

Στο μέλλον, καινοτόμες τεχνικές, που στηρίζονται στη γενετική και τη βιολογία θα μπορούν να ερμηνεύουν πλήρως, τα βιολογικά δεδομένα και ενδέχεται να επιτραπεί η ανάπτυξη μοντέλων πρόβλεψης εκτίμησης της *ασφάλειας* και της *διάρκειας ζωής* των *τροφίμων* και ιδιαίτερα των *αλιευτικών* προϊόντων.

Συνδυάζοντας την κλασική γνώση των μεθόδων *συντήρησης* με τα *μοριακά εργαλεία*, οι μέθοδοι, που θα προκύψουν, θα επιτρέπουν όχι μόνο την εξερεύνηση των *μικροοργανισμών*, αλλά ακόμη και τον *σχέδιασμό* τους. Το γεγονός αυτό, θα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή *ασφαλέστερων*, καινοτόμων *αλιευτικών* προϊόντων (Ghanbari et al., 2013)



## 10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aasen, I. M., Markussen, S., Moretro, T., Katla, T., Axelsson, L., & Naterstad. K. (2003) Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. *International Journal of Food Microbiology*, 87: 35-43
2. Ahmadi H., Anany H., Walkling-Ribeiro M., Griffiths M. W. (2015) Biocontrol of *Shigella flexneri* in Ground Beef and *Vibrio cholera* in Seafood with Bacteriophage-Assisted High Hydrostatic Pressure (HHP) Treatment, *Food Bioprocess Technol*, 8:1160–1167
3. Altieri, C., Speranza, B., Del Nobile, M., & Sinigaglia, M. (2005) Suitability of bifidobacteria bacteria and thymol as biopreservatives in extending the shelf life of fresh packed plaice fillets, *Journal of Applied Microbiology*, 99: 1294-1302
4. Ananou S., Maqueda M., Martínez-Bueno M., Valdivia E. (2007) Biopreservation, an ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods, *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, pages: 475-486
5. Anteneh T., Tetemke M., Mogessie A. (2011) Antagonism of Lactic Acid Bacteria against foodborne pathogens during fermentation and storage of borde and shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, *International Food Research Journal*, 18(3): 1189-1194
6. Aras Hüsar S., Kaban G., Hüsar O., Yanik T. & Kaya M. (2005) Effect of *Lactobacillus sakei* Lb706 on behavior of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed Rainbow Trout fillets, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 1039-1044
7. Bakkal S., Robinson S. M. & Riley M. A. (2012) Bacteriocins of Aquatic Microorganisms and Their Potential Applications in the Seafood Industry, In: Dr Carvalho E. (ed) *Health and Environment in Aquaculture*, Chapter 12
8. Bhardwaj N., Bhardwaj S. K., Deep A., Dahiya S., Kapoor S. (2015) Lytic Bacteriophages as Biocontrol Agents of Foodborne Pathogens, *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(11): 708-723
9. Bourouni Chahad O., El Bour M., Calo-Mata P., Boudabous A., Barros-Velazquez J. (2012) Discovery of novel biopreservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their application to seafood products, *Research in Microbiology*, 163: 44-54
10. Brillet A., Pilet M. – F., Prevost H., Cardinal M., Leroi F. (2005) Effect of inoculation of *Carnobacterium divergens* V41, a biopreservative strain against *Listeria monocytogenes* risk, on the microbiological, chemical and sensory quality of cold-smoked salmon, *International Journal of Food Microbiology*, 104(3) : 309-324
11. Brillet-Viel A., Pilet M.-F., Courcoux P., Prévost H., Leroi F. (2016) Optimization of Growth and Bacteriocin Activity of the Food Bioprotective

- Carnobacterium divergens* V41 in an Animal Origin Protein Free Medium, *Frontiers in Marine Science*, Vol: 3, Article: 128
12. Campos C., Rodríguez O., Calo-Mata P., Prado M. & Barros-Velazquez J. (2006) Preliminary characterization of bacteriocins from *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus mundtii* strains isolated from turbot (*Psetta maxima*). *Food Research International*, 39: 356-64
  13. Chelulel P. K, Mokoena M. P., Gqaleni N. (2016) Advantages of traditional lactic acid bacteria fermentation of food in Africa, In: Mendez-Vilas A. (ed) *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, pages: 1160-1167
  14. Cortesi M. L., Panebianco A., Giuffrida A., Anastasio A. (2009) Innovations in seafood preservation and storage, *Veterinary Research Communications*
  15. Cosansu S., Mol S., Uçok Alakavuk D. & Tosun Ş. (2011) Effects of *Pediococcus* spp. on the quality of vacuum-packed horse mackerel during cold storage. *Journal of Agricultural Sciences*, 17: 59-66
  16. Daboor S. & Ibrahim S. (2008) Biochemical and microbial aspects of tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) biopreserved by *Streptomyces* sp. *Metabolites*, International Conference of Veterinary Research Division, National Research Center (NRC), (pp. 39-49). Cairo, Egypt
  17. Duffes, F., Corre, C., Leroi, F., Dousset, X., & Boyaval, P. (1999) Inhibition of *Listeria monocytogenes* by in situ produced and semi purified bacteriocins of *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated. *Journal of Food Protection*, 62: 1394-1403
  18. Duffes, F., Leroi, F., Boyaval, P., & Dousset, X. (1999) Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium* spp. strains in a simulated cold smoked fish system stored at 4 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 33-42
  19. Einarsson, H., & Lauzon, H. (1995) Biopreservation of brined shrimp (*Pandalus borealis*) by bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 669-675
  20. Elayaraja S., Annamalai N., Mayavu P., Balasubramanian T. (2014) Production, purification and characterization of bacteriocin from *Lactobacillus murinus* AU06 and its broad antibacterial spectrum, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4: 305-311
  21. Elotmani F. & Assobhei O. (2004) In vitro inhibition of microbial flora of fish by nisin and lactoperoxidase system, *Letters in Applied Microbiology*, 38: 60-65
  22. Elsser-Gravesen D., Elsser-Gravesen A. (2014) Biopreservatives, *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 143: 29-49
  23. Fall, P., Leroi, F., Cardinal, M., Chevalier, F., & Pilet, M. (2010) Inhibition of *Brochothrix thermosphacta* and sensory improvement of tropical peeled cooked shrimp by *Lactococcus piscium* CNCM I-4031. *Letters in Applied Microbiology*, 50: 357-361

24. Gaggia F., Di Gioia D., Baffoni L., Biavati B. (2011) The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety, *Trends in Food Science & Technology*, 22: 58-66
25. Galvez A. M., Grande Burgos M. J., Lucas Lopez R., Perez Pulido R. (2014) *Food Biopreservation*, VI: 118 pp
26. Gálvez A., Abriouel H., Lucas López R., Ben Omar N. (2007) Bacteriocin based strategies for food biopreservation, *International Journal of Food Microbiology* 120: 51–70
27. Ghanbari M., Jami M. (2013) Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: A Promising Approach to Seafood Biopreservation, In: *R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, 16: 381-404
28. Ghanbari M., Jami M., Domig K.J., Kneifel W. (2013) Seafood biopreservation by lactic acid bacteria – a review, *Food Science and Technology*
29. Ghanbari M., Jami M., Kneifel W., Domig K. J. (2013) Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocins produced by lactobacilli isolated from Sturgeon fish, *Food Control* 32: 379-385
30. Gram L., Dalgaard P. (2017) Fish spoilage bacteria - Problems and solutions, *Current Opinion in Biotechnology*, pages: 262-266
31. Gravesen D. E., Gravesen A. E. (2013) Biopreservatives, In: Zorn H., Cvermak P. (eds) *Biotechnology of Food and Feed Additives*, Springer, Berlin, 143: 29–49
32. Groth Laursen B., Baya L., Cleenwerck I., Vancanneytb M., Swingsb Z., Dalgaard P., Leisner J. J. (2005) *Carnobacterium divergens* and *Carnobacterium maltaromaticum* as spoilers or protective cultures in meat and seafood: phenotypic and genotypic characterization, *Systematic and Applied Microbiology*, 28: 151-164
33. Guo-Zheng Q., Shi-Ping T., Hai-Bo L., Yong X. (2003) Biocontrol Efficacy of Three Antagonistic Yeasts Against *Penicillium expansum* in Harvested Apple Fruits, *Acta Botanica Sinica*, 45(4): 417-421
34. Holzapfel W. H., Geisen R., Schillinger U. (1995) Ecological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes, *International Journal of Food Microbiology*, 24: 343-362
35. Ibrahim S. & Salha G. (2009) Effect of antimicrobial metabolites produced by lactic acid bacteria on quality aspects of frozen Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets, *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1: 40-45
36. Kannappan S., Manja K. S. (2004) Antagonistic efficacy of lactic acid bacteria against seafood-borne bacteria, *Journal of Food Science and Technology*, 41: 50-59
37. Karasu S. (2016) Biological Preservation of Foods, In: Sagdic O., Tornuk F., Öztürk I., Karasu S., Yilmaz M.T (eds) *Microbial Food Safety and Preservation Techniques*, ResearchGate, pages: 454-465.

38. Katikou, P., Ambrosiadis, I. G., Koidis, P., & Georgakis, S. (2007) Effect of *Lactobacillus* cultures on microbiological, chemical and odour changes during storage of rainbow trout fillets, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 477-484
39. Katla, T., Moretro, T., Aasen, I., Holck, A., Axelsson, L., & Naterstad, K. (2001) Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon by addition of sakacin P and/or live *Lactobacillus sakei* cultures. *Food Microbiology*, 18: 431-439
40. Kim C., & Hearnberger, J. (1994) Gram negative bacteria inhibition by lactic acid culture and food preservatives on catfish fillets during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 59: 513-516.
41. Kim Y., Ohta T., Takahashi T., Kushiro A., Nomoto K., Yokokura T., et al. (2006) Probiotic *Lactobacillus casei* activates innate immunity via NF- $\kappa$ B and p38 MAP kinase signaling pathways *Microbes Infection*, 8C: 994-1005.
42. Kışla D., & Ünlütürk A. (2004) Microbial shelf life of rainbow trout fillets treated with lactic culture and lactic acid, *Advances in Food Science*, 26: 17-20
43. Laursen, B., Bay, L., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M., Swings, J., Dalgaard, P., et al. (2005) *Carnobacterium divergens* and *Carnobacterium maltaromicum* as spoilers or protective cultures, in meat and seafood: phenotypic and genotypic characterization. *Systematic Applied Microbiology*, 28: 151-164
44. Leistner L. (1992) Food preservation by combined methods, *Food Research International*, Vol: 25, p: 151 – 158
45. Leroi F. (2010) Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products, *Food Microbiology*, 27: 698-709
46. Leroi F., Amarita F., Arboleya J.C., Bjørkevoll I., Cruz Z., Dousset X., Izurieta E., Joffraud J.J., Lasagabaster A., Lauzon H. L., Lorentzen G., Martínez de Marañón I., Matamoros S., Miranda I., Nuin M., Olabarrieta I., Olsen R., Pilet M.F., Prévost H. and Skjerdal T. (2006) Hurdle technology to ensure the safety of seafood products, In: Torger Børresen (ed.) *Improving seafood products for the consumer, Part IV Seafood from source to consumer products*, Chapter 19, pp. 399-425
47. Leroi F., Amarita F., Arboleya J.C., Bjørkevoll I., Cruz Z., Dousset X., Izurieta E., Joffraud J.J., Lasagabaster A., Lauzon H. L., Lorentzen G., Martínez de Marañón I., Matamoros S., Miranda I., Nuin M., Olabarrieta I., Olsen R., Pilet M.F., Prévost H. and Skjerdal T. (2006) Hurdle technology to ensure the safety of seafood products, In: Torger Børresen (ed.) *Improving seafood products for the consumer, Part IV Seafood from source to consumer products*, 19: 399- 425
48. Leroi F., Cornet J., Chevalier F., Cardinal M., Coeuret G., Chaillou S., Joffraud J. – J. (2015) Selection of bioprotective cultures for preventing cold-

- smoked salmon spoilage, *International Journal of Food Microbiology*, 213: 79-87
49. Leroy F., De Vuyst L. (2004) Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology* 15: 67–78
  50. Liong M.- T. (2015) Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals, In: Alexander Steinbüchel (ed) *Microbiology Monographs*, Vol. 27
  51. Matamoros S., Leroi F., Cardinal M., Gigout F., Kasbi Chadli F., Cornet J., Prevost H., Pilet M. – F. (2009) Psychrotrophic Lactic Acid Bacteria Used To Improve the Safety and Quality of Vacuum-Packaged Cooked and Peeled Tropical Shrimp and Cold-Smoked Salmon, *Journal of Food Protection*, 72(2): 365–374
  52. McMullen L. M., Stilles M. E. (1996) Potential Use of Bacteriocin- Producing Lactic Acid Bacteria in the Preservation of Meats, *Journal of Food Protection*, pages: 64-71
  53. Members and guests of the DFG Senate Commission on Food Safety (2010) Microbial food cultures, DFG Senate Commission on Food Safety, pages: 1-15
  54. Moraes P. M., Martins Perin L., Tassinari Ortolani M. – B., Keizo Yamazi A., Nogueira Viçosa G., Nero L. A. (2010) Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential, *Food Science and Technology*, 43: 1320-1324
  55. Morzel M., Fransen N., & Arendt E. (1997) Defined starter cultures for fermentation of salmon fillets. *Journal of Food Science*, 62: 1214-1217
  56. Nath S., Chowdhury S., Dora P. K.C., Sarkar S. (2014) Role Of Biopreservation In Improving Food Safety And Storage, *Journal of Engineering Research and Applications*, 4(1): 26-32
  57. Nilsson L., Hansen T., Garrido P., Buchrieser C., Glaser P., Knochel S., et al. (2005) Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by a non bacteriocinogenic *Carnobacterium piscicola*, *Journal of Applied Microbiology*, 98: 172-183
  58. Nilsson L., Ng Y., Christiansen J., Jorgensen B., Grotinum D. & Gram L. (2004) The contribution of bacteriocin to the inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium piscicola* strains in cold-smoked salmon systems. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 133-143
  59. Nykanen A., Weckman K. & Lapvetelainen A. (2000) Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked rainbow trout by nisin and sodium lactate, *International Journal of Food Microbiology*, 61: 63-72
  60. O'Bryan C. A., , Crandall P. G., Ricke1 S. C., Ndahetuye J. B. (2015) Lactic acid bacteria (LAB) as antimicrobials in food products: analytical methods and applications, In: *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*, Chapter 7

61. Onaran B., Bas B. (2017) Effects of Bacteriocin Applications For *Clostridium botulinum* and *Listeria monocytogenes* in Seafood Products, *Kocatepe Veterinary Journal*, 10(1): 33-36
62. Paul Ross R., Morgan S., Hill C. (2002) Preservation and fermentation: past, present and future, *International Journal of Food Microbiology*, 79: 3 – 16
63. Pilet M.- F., Leroi F. (2011) Applications of protective cultures, bacteriocins and bacteriophages in fresh seafood and seafood products, *Series in Food Science, Technology and Nutrition* No. 201
64. RingØ E., Schillinger U., Holzapfel W. (2005) Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from aquatic animals and the use of lactic acid bacteria in aquaculture, In: Holzapfel W.H., Naughton P.J. (eds) *Microbial Ecology in Growing Animals*, 18: 418-453
65. Shirazinejad, A., Noryati, I., Rosma, A., & Darah, I. (2010). Inhibitory effect of lactic acid and Nisin on bacterial spoilage of chilled shrimp. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 41: 163-167
66. Sudalayandi, K., & Manja. (2011) Efficacy of lactic acid bacteria in the reduction of trimethylamine-nitrogen and related spoilage derivatives of fresh Indian mackerel fish chunks *African Journal of Biotechnology*, 10: 42-47.
67. Tahiri M., Desbiens E., Kheadr C. & Lacroix I. F. (2009) Comparison of different application strategies of divergicin M35 for inactivation of *Listeria monocytogenes* in cold smoked wild salmon, *Food Microbiology*, 26: 783-93
68. Tomé, E., Pereira, V., Lopes, C., Gibbs, P., & Teixeira, P. (2008) In vitro tests of suitability of bacteriocin-producing lactic acid bacteria, as potential biopreservation cultures in vacuum packaged cold-smoked salmon. *Food Control*, 19: 535-543
69. Tomé, E., Pereira, V., Lopes, C., Gibbs, P., & Teixeira, P. (2008). In vitro tests of suitability of bacteriocin-producing lactic acid bacteria, as potential biopreservation cultures in vacuum packaged cold-smoked salmon. *Food Control*, 19: 535-543
70. Tuntisuwanno N., Charernjiratrakul W., Bovornruengroj N., Borvornruengroj P. (2014) Selection of Biopreservative-produced Lactic Acid Bacteria from Chilled Seafood Products, *CMUJ NS Special Issue on Food and Applied Bioscience*, 13(1): 459-468
71. Vescovo, M., Scolari, G., & Zacconi, C. (2006) Inhibition of *Listeria innocua* growth by antimicrobial-producing lactic acid cultures in vacuum-packed cold-smoked salmon. *Food Microbiology*, 23: 689-693
72. Weiss, A., & Hammes, W. (2006) Lactic acid bacteria as protective cultures against *Listeria* spp. on cold-smoked salmon. *European Food Research Technology*, 222: 343-346
73. Wiernasz N., Cornet J., Cardinal M., Pilet M. F., Passerini D., Leroi F. (2017) Lactic Acid Bacteria Selection for Biopreservation as a Part of Hurdle Technology Approach Applied on Seafood, *Frontiers in Marine Science*, Vol: 4, Article: 119

74. Yamazaki, K., Suzuki, M., Kawai, Y., Inoue, N., & Montville, T. (2003) Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon by *Carnobacterium piscicola* CS526 isolated from frozen surimi, *Journal of Food Protection*, 66: 1420-1425

## « **BIOPRESERVATION OF AQUATIC PRODUCTS AND OTHER FOODS** »

### **ABSTRACT:**

Storage of *food* has been a controversial issue for people over the centuries, as their *preservation* has been and still is necessary.

One of the procedures followed was the *fermentation*. Its *maintenance* process rests solely on the *metabolism* of the *micro-flora* of *food*. However, it finds application to certain groups of them. With the advancement of science and technology, its ‘way of function’ has been fully studied and understood. It has also been found to be a form of *bio-preservation*, a method, where *food preservation* results from the growth and interaction of various *micro-organisms* in the *food* itself, which acts as a *micro-ecosystem*. Due to the “special” environmental conditions in each *food*, the naturally occurring *microbial* growth, as well as the production of *metabolites*, which is quite common, result in an *extension* of the *shelf life* and *safety* of the *food*.

*Micro-organisms* of all races, *bacteria*, *fungi*, *viruses*, as well as other molecules participate in *bio-preservation*. However, its main representatives, in whose biological action, *bio-preservation’s* application is based, are *LAB* (*Lactic Acid Bacteria*) and their *bacteriocins*. In fact, their application is considered to be effective, since in many types of food, their *preservation* has been achieved, with the killing or suppression of *spoilage* factors. Two of the reasons for their more frequent use than the rest of the microorganisms are: their abundance as microbial species and their natural presence in food.

On the other hand, a representative example of *food* products, as a “*micro-environment*” for the action of *micro-organisms*, is *fish* and, in general, *seafood*. Their rate of consumption is linked to lifestyle and *healthy eating habits*. Their vulnerability as *food* is typical.

The above observations are mainly the reasons for their selection and study as *micro-environments*, in order to finally find that the *bio-preservation* method is characterized by a narrow range of application in *fishery products* and *seafood*. In the future, the use of *molecular tools* will be the key to widening the method, the implementation of which, at the moment, is at an experimental stage or is just one of the barriers to *hurdle* technology.



**Key-words:** *bio-preservation, fermentation, microorganisms, metabolites, food, seafood, spoilage, microbial culture, hurdle technology, molecular tools*