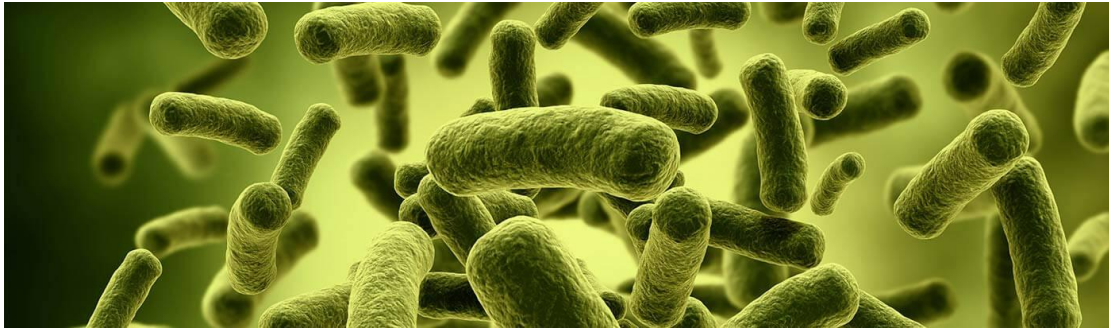


*LACTOBACILLUS PLANTARUM*  
ΣΕΓΑΛΑΚΤΟΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΗΣ

ΣΟΦΙΑΣ ΚΟΝΙΣΠΟΛΙΑΤΗ

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΙΟΝΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ



Αργοστόλι Κεφαλληνίας

Ιανουάριος 2023

*LACTOBACILLUS PLANTARUM*  
ΣΕ ΓΑΛΑΚΤΟΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Η πτυχιακή εργασία εγκρίθηκε από:

---

κ. Δημήτρα Δημητρέλλου

---

κ. Ελένη Σακαντάνη

---

κ. Ιλιάδα Λάππα

<<Δηλώνω υπεύθυνα ότι η διπλωματική εργασία είναι εξ' ολοκλήρου δικό μου έργο και κανένα μέρος της δεν είναι αντιγραμμένο από έντυπες ή ηλεκτρονικές πηγές, μετάφραση από ξενόγλωσσες πηγές και αναπαραγωγή από εργασίες άλλως ερευνητών ή φοιτητών. Όπου έχω βασιστεί σε ιδέες ή κείμενα άλλων, έχω προσπαθήσει με όλες μου τις δυνάμεις να τα προσδιορίσω σαφώς μέσα από την καλή χρήση αναφορών ακολουθώντας την ακαδημαϊκή δεοντολογία και την αποφυγή λογοκλοπής>>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετάται ο μικροοργανισμός *Lactobacillus plantarum*. Αρχικά γίνεται αναφορά στις προβιοτικές ιδιότητες των οξυγαλακτικών (LacticAcidBacteria, LAB), όπου και ανήκει ο *L. plantarum*, τις επιδράσεις των προβιοτικών στην ανθρώπινη υγεία και την ενσωμάτωσή τους στα τρόφιμα. Στην συνέχεια, παρουσιάζονται τα φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του *L. plantarum*, καθώς και η ικανότητα του να παράγει βακτηριοσίνες. Μία ιδιότητα που καθιστά το στέλεχος σημαντικό για αυτά που προσφέρει στην υγεία. Ακολουθεί η παράθεση των εφαρμογών του *L. plantarum* σε γαλακτοκομικά προϊόντα καθώς και η παρουσίαση ερευνητικών δεδομένων. Η χρήση LAB, σε γαλακτοκομικά τρόφιμα που υπόκεινται σε ζύμωση είναι μία από τις παλαιότερες μεθόδους ανάπτυξης προϊόντων. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι υπεύθυνοι για συγκεκριμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων όπως η οξίνιση και η παραγωγή αρωματικών ενώσεων. Συγκεκριμένα ο *L. plantarum* είναι σε θέση να παράγει αντιμικροβιακές ενώσεις, συμβάλλοντας στην ασφάλεια του τελικού προϊόντος και στην επέκταση του χρόνου διάρκειας ζωής του. Επιπλέον, παρουσιάζονται μελέτες που αφορούν την απομόνωση του συγκεκριμένου είδους από διάφορα προϊόντα με σκοπό τη μελέτη των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του εκάστοτε στελέχους. Τέλος, τα συμπεράσματα, αναδεικνύουν ότι ο *L. plantarum* έχει πληθώρα εφαρμογών στη βιομηχανία τροφίμων καθώς μπορεί να προστίθεται σε γαλακτοκομικά προϊόντα και να προσδίδει προβιοτικές ιδιότητες με στόχο να παράγονται προϊόντα με βελτιωμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω κλινικές μελέτες για την επιβεβαίωση των στοιχείων που αφορούν τη διαστελεχική παραλλακτικότητα του είδους.

### Λέξεις κλειδιά

*Lactobacillus plantarum*, προβιοτικά, γαλακτοκομικά προϊόντα, βακτηριοσίνες

## ABSTRACT

In this work, the microorganism *Lactobacillus plantarum* is studied. The first part of this study refers to the potential probiotic features of lactic acid bacteria (LAB), to which *L. plantarum* also belongs, as well as the impacts of probiotics for human health and their inclusion in food. Then, the physiological and biochemical characteristics of *L. plantarum* are described along its ability to produce bacteriocins. This is a crucial characteristic that makes strains noteworthy for their health benefits. Moreover, a list of *L. plantarum* uses in dairy products is provided, along with a summary of applications research. The use of LAB in fermented dairy foods is one of the oldest methods of product development. These microorganisms are responsible for the specific organoleptic characteristics of the products, such as acidification and the production of distinct aromatic compounds. In particular, the ability of *L. plantarum* to produce antimicrobial substances in particular contributes to the final product's safety and increases its shelf life. Additionally, research on the isolation of distinct species from a range of food products is presented in order to examine the unique functional traits in strain level. Finally, the conclusions demonstrate that *L. plantarum* has numerous applications in the food industry as it can be added to dairy products and impart probiotic properties with the aim of producing products with improved quality characteristics. However, further clinical studies are required to substantiate the data regarding the inter-strain variability of the species.

## KEY WORDS

*L. plantarum*, probiotics, dairy products, bacteriocins

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....                                                                    | 8  |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ.....                                     | 10 |
| 1.1 Ορισμός και αναγνωρισμένα στελέχη.....                                       | 10 |
| 1.2 Κριτήρια και ιδιότητες.....                                                  | 10 |
| 1.3 Πρεβιοτικά και συμβιωτικοί μικροοργανισμοί.....                              | 11 |
| 1.4 Πιθανές επιδράσεις στην υγεία και μηχανισμοί δράσεις.....                    | 12 |
| 1.5 Τεχνολογικές προκλήσεις και ενσωμάτωση στα τρόφιμα.....                      | 14 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. <i>Lactobacillus plantarum</i> .....                                 | 16 |
| 2.1 Εισαγωγικά στοιχεία.....                                                     | 16 |
| 2.2 Φυσιολογικά και Βιοχημικά χαρακτηριστικά.....                                | 16 |
| 2.3 Παραγωγή βακτηριοσινών.....                                                  | 18 |
| 2.4 Οφέλη στην ανθρώπινη υγεία.....                                              | 20 |
| 2.5 Χρήση σε τρόφιμα.....                                                        | 21 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....                            | 25 |
| 3.1 Προσθήκη του <i>Lactobacillus plantarum</i> σε γαλακτοκομικά προϊόντα.....   | 25 |
| 3.1.1 Γάλα.....                                                                  | 25 |
| 3.1.2 Τυρί.....                                                                  | 26 |
| 3.1.3 Παγωτό.....                                                                | 28 |
| 3.1.4 Γιαούρτι.....                                                              | 30 |
| 3.2 Απομόνωση του <i>Lactobacillus plantarum</i> από γαλακτοκομικά προϊόντα..... | 34 |
| 3.2.1 Γάλα.....                                                                  | 34 |
| 3.2.2 Βούτυρο.....                                                               | 37 |
| 3.2.3 Τυρί.....                                                                  | 37 |
| 3.2.4 Κεφίρ.....                                                                 | 41 |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....                                                                | 43 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....                                                                | 44 |

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Πίνακας 1. Παράθεση ενδεικτικών πρεβιοτικών, προβιοτικών & συμβιωτικών μικροοργανισμών..... | 11 |
| Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά ορισμένων χαρακτηριστικών plantaricins...                         | 19 |
| Πίνακας 3. Χρήσεις του <i>L. plantarum</i> σε ποικιλία τροφίμων .....                       | 24 |

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

|                                                                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Διάγραμμα 1. Διαγραμματική απεικόνιση της σύνδεσης επιστήμης, βιομηχανίας, καταναλωτών και νομοθεσίας ως προς τον αναπτυξιακό τομέα των προβιοτικών μικροοργανισμών ..... | 9  |
| Διάγραμμα 2. Πιθανές επιδράσεις στην υγεία & μηχανισμοί δράσης προβιοτικών μικροοργανισμών.....                                                                           | 13 |
| Διάγραμμα 3. Νέες ποικιλίες γιαουρτιού .....                                                                                                                              | 32 |

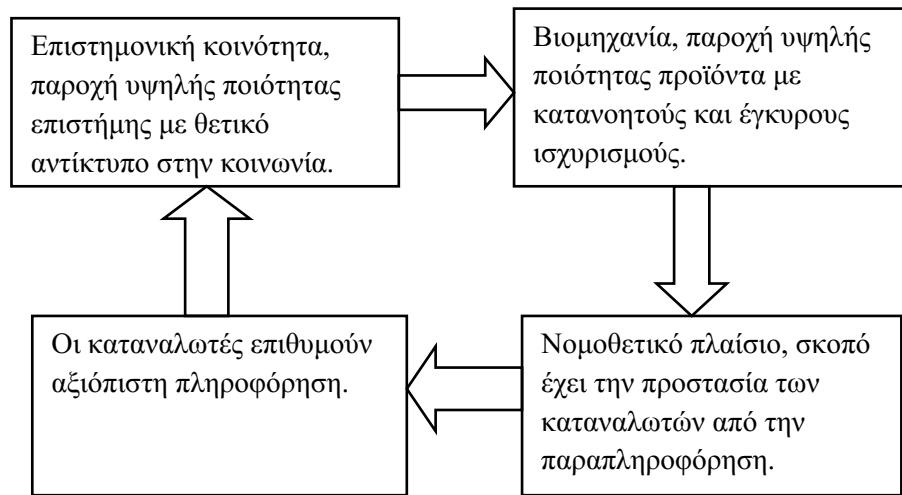
## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| Εικόνα 1. Τροφές πλούσιες σε προβιοτικά.....     | 14 |
| Εικόνα 2. Ξινογάχανο σε διαδικασία ζύμωσης ..... | 23 |
| Εικόνα 3. Η μηλογαλακτική ζύμωση .....           | 24 |
| Εικόνα 4. Γαλακτοκομικά προϊόντα.....            | 25 |
| Εικόνα 5. Απεικόνιση τυριού Πεκορίνο.....        | 40 |
| Εικόνα 6. Απεικόνιση τυριού Μοτσαρέλα.....       | 41 |

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει παρατηρηθεί ιδιαίτερη αύξηση του ενδιαφέροντος των καταναλωτών για πιο υγιεινές και φυσικές διατροφικές επιλογές, δεδομένου της σύνδεσης της υγείας με τη διατροφική συμπεριφοράς κάθε ατόμου. Το γεγονός αυτό, οδηγεί την επιστήμη σε μια συνεχή, εκτεταμένη και επισταμένη έρευνα, για να βρεθεί ο τρόπος με τον οποίο οι μικροοργανισμοί των τροφίμων επιδρούν ευεργετικά στο ανθρώπινο μικροβιώμα αλλά και σε μια ολιστική προσέγγιση της υγείας. Κατ' επέκταση, το συγκεκριμένο ερευνητικό πεδίο συνέβαλε στη διεύρυνση μίας νέας τάσης στην παγκόσμια αγορά αναφορικά με την ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων. Αντίστροφα, η ίδια η αγορά πυροδότησε περαιτέρω την έρευνα για κάθε παράγοντα που σχετίζεται με τη νέα αυτή κατηγορία λειτουργικών τροφίμων (Tur&Bibiloni, 2016). Όσον αφορά την ανάπτυξη νέων προϊόντων διακρίνονται τρεις κύριες συνιστώσες οι οποίες αλληλεπιδρούν, α) η επιστήμη, η οποία προσφέρει υψηλής ποιότητας έρευνα, β) η βιομηχανία, η οποία τροφοδοτεί πλέον με υψηλής ποιότητας προϊόντα και γ) η νομοθεσία, η οποία προστατεύει τους καταναλωτές από την παραπληροφόρηση (Διάγραμμα 1) (Hill et al., 2014).

Σε αυτή την αναζήτηση για μια πιο υγιεινή και φυσική δίαιτα έρχονται να διευκολύνουν τα γαλακτικά βακτήρια. Στην παρούσα εργασία, θα ασχοληθούμε με μια μεγάλη ομάδα γαλακτικών βακτηρίων (LAB). Σε αυτή ανήκουν πάνω από 50 διαφορετικά είδη, με το είδος *Lactobacillus plantarum* να είναι αυτό που θα μελετηθεί στην παρούσα πτυχιακή. Τα είδη του γένους *Lactobacillus* χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης στην βιομηχανική και βιοτεχνική ζύμωση τροφίμων, ενώ ταυτόχρονα συμβάλλουν στην βελτίωση γεύσης, υφής, αλλά και διάρκειας ζωής του ζυμούμενου τροφίμου (Maaike et al., 2006). Επιπλέον, στελέχη του είδους *L. plantarum*, είναι γνωστά για τις προβιοτικές τους ιδιότητες. Ο όρος 'προβιοτικά βακτήρια' αφορά σε ζωντανά βακτήρια τα οποία περιέχονται σε τροφές και κατά την πέψη τους ασκούν ευεργετικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία (Aysun et al., 2003). Μία ακόμα σημαντική ιδιότητα του είδους *L. plantarum* είναι η πιθανή παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών, όπως είναι οι πλανταρισίνες (plantaricins), οι οποίες δρουν εναντίον ορισμένων παθογόνων μικροοργανισμών (Aysun et al., 2003).



**Διάγραμμα 1.** Διαγραμματική απεικόνιση της σύνδεσης επιστήμης, βιομηχανίας, καταναλωτών και νομοθεσίας ως προς την ανάπτυξη των προβιοτικών μικροοργανισμών (Hill et al., 2014).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

### 1.1 Ορισμός και αναγνωρισμένα στελέχη

Το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό βακτηρίων, τα οποία φέρουν σημαντικές μεταβολικές και ανοσολογικές λειτουργίες, οδηγώντας σε αξιοσημείωτες επιδράσεις στην υγεία του ξενιστή (Cencic&Chingwaru, 2010). Ο FAO/WHO ορίζει για τους προβιοτικούς μικροοργανισμούς ότι είναι «οι ζωντανοί μικροοργανισμοί που όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες παρέχουν όφελος για την υγεία στον ξενιστή» (Sanders, 2009). Στελέχη των ειδών *Bifidobacterium adolescenti*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum* και *Bifidobacterium longum* και *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* και *Lactobacillus salivarius* είναι αναγνωρισμένα και διαθέτουν προβιοτική δράση, όταν εμπεριέχονται σε τρόφιμα σε επίπεδο  $1 \times 10^9$  cfu ανά μερίδα (Hill et al., 2014).

Ύστερα από διαρκή έρευνα ανακαλύπτονται νέα στελέχη τα οποία μπορούν να προσφέρουν προβιοτικές ιδιότητες. Ενδεικτικό παράδειγμα αποτελούν τα στελέχη του *L. plantarum* (PCS20, PCS22, PCS25, PCS26) τα οποία έχουν απομονωθεί από το τυρί και φαίνεται να έχουν υψηλές αντιμικροβιακές και ανοσοτροπικές δυνατότητες (Cencic&Chingwaru, 2010).

### 1.2 Κριτήρια και Ιδιότητες

Ωστόσο, για να χαρακτηριστεί ένας μικροοργανισμός ως προβιοτικός, απαιτείται να πληροί συγκεκριμένες προϋποθέσεις:

1. Κατά προτίμηση οι μικροοργανισμοί θα πρέπει να είναι «ανθρώπινης προέλευσης». Αν και συχνά υποδηλώνεται ότι τα προβιοτικά βακτήρια για ανθρώπινη χρήση πρέπει να είναι «ανθρώπινης προέλευσης», παρόλα αυτά ορισμένα στελέχη διαφορετικής προέλευσης, έχουν αποδειχθεί ότι είναι εξίσου αποτελεσματικά (π.χ. στελέχη του είδους *Bifidobacterium animalis*).
2. Να έχουν αποδειχθεί ασφαλή ύστερα από τη χρήση τους σε κλινικές μελέτες.
3. Να μη διαθέτουν κάποιον φορέα ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ή τοξικότητας.

4. Να είναι ανθεκτικοί στις όξινες συνθήκες της γαστρεντερικής οδού, των χολικών αλάτων και των ενζύμων πέψης.
5. Να παρουσιάζουν ανταγωνισμό με άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς και να ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα.
6. Να μπορούν να δημιουργούν αποικίες στο εντερικό επιθήλιο.
7. Να διατηρούν τη βιωσιμότητά τους, τη δραστικότητά τους και το ρυθμό ανάπτυξής τους μετά από την τεχνολογική επεξεργασία τους.
8. Να εντοπίζονται σε επαρκή ποσότητα στα τρόφιμα.

Ο πληθυσμός των προβιοτικών θα πρέπει να βασίζεται σε επίπεδα που έχουν βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικά σε μελέτες σε ανθρώπους. Για παράδειγμα, η αποτελεσματικότητα του *Bifidobacterium infantis* 35264 έχει τεκμηριωθεί σε  $10^8$  cfu/ημέρα, ενώ η συνιστώμενη δόση του VSL#3 (VSLPharmaceuticals) είναι  $1,8 \times 10^{12}$  cfu/ημέρα (SandersM., 2009).

### 1.3 Πρεβιοτικά& Συμβιωτικοί μικροοργανισμοί

Ως πρεβιοτικό ορίζεται «ένα συστατικό που έχει υποστεί επιλεκτική ζύμωση ή μια διαιτητική ίνα που επιτρέπει συγκεκριμένες αλλαγές, τόσο στη σύνθεση όσο και/ή στη δραστηριότητα της γαστρεντερικής μικροχλωρίδας, προσδίδοντας οφέλη στην ευημερία και την υγεία του ξενιστή» (Cencic&Chingwaru, 2010). Τα πρεβιοτικά αποτελούν μια ομάδα διαφορετικών συστατικών και αφορούν κυρίως μη εύπεπτους ολιγοσακχαρίτες (ιδιαίτερα η ινουλίνη, το προϊόν υδρόλυσης της ολιγοφρουκτόζης και οι (δια)γαλακτοολιγοσακχαρίτες).

Από την άλλη μεριά, τα συμβιωτικά είναι συνεργιστικοί συνδυασμοί προ- και πρεβιοτικών (Cencic&Chingwaru, 2010). Αποσκοπούν στην αύξηση της επιβίωσης των αποδεδειγμένων προβιοτικών *in vivo*, καθώς και στη διέγερση ενδογενών αναερόβιων βακτηρίων. Συνεπώς, τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά λειτουργούν συνεργιστικά για να παρέχουν ένα συνδυασμένο όφελος (Patel&DuPont, 2015).

**Πίνακας 1.** Παράθεση ενδεικτικών πρεβιοτικών, προβιοτικών& συμβιωτικών μικροοργανισμών (Patel&DuPont, 2015).

| Ταξινόμηση | Ενώσεις και Μικροοργανισμοί      |
|------------|----------------------------------|
| Πρεβιοτικά | Ινουλίνη,<br>Ξυλοολιγοσακχαρίτες |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                   | <i>Ολιγοφρουκτόζη</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|                   | <i>Φρουκτοολιγοσακχαρίτες</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <i>Συμβιωτικά</i> | <i>Saccharomyces boulardii</i><br><i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> ,<br><i>Fructooligosaccharides</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>Προβιοτικά</i> | <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                   | <i>Lactobacillus reuteri</i> (στελέχη SD2112 και RC14)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                   | <i>Lactobacillus plantarum</i> 299V DSM 9843                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                   | <i>Lactobacillus acidophilus</i> (στελέχος NCDO1748 και άλλα στελέχη)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|                   | <i>Lactobacillus casei</i> DN-114001<br><i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1<br><i>Lactobacillus gasseri</i> SBT2055<br><i>Escherichia coli</i> DSM 17252<br><i>Streptococcus faecalis</i><br><i>Bifidobacterium infantis</i> B5624<br><i>Bifidobacterium bifidum</i> στέλεχος NCDO1463<br><i>Bifidobacterium lactis</i><br><i>Lactobacillus brevis</i> CD2<br><i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Bio-K + CL1285) |

#### 1.4 Πιθανές επιδράσεις στην υγεία & μηχανισμοί δράσεις

Οι ευεργετικές ιδιότητες των προβιοτικών βακτηριών στην υγεία του ανθρώπου είναι πολλές και ασκούνται από διάφορους και πολύπλοκους μηχανισμούς (Seddik et al., 2017). Το Διάγραμμα 2 παρουσιάζει την κατανομή των μηχανισμών μεταξύ των προβιοτικών στελεχών. Αξιοσημείωτο είναι ότι ορισμένοι μηχανισμοί είναι ευρέως διαδεδομένοι σε μία πληθώρα στελεχών, ενώ άλλοι είναι λιγότερο γνωστοί. Οι ευρέως μελετημένοι μηχανισμοί μπορούν να συσχετιστούν με επιδράσεις, όπως η αναστολή ανάπτυξης πιθανών παθογόνων μικροοργανισμών ή η παραγωγή χρήσιμων μεταβολιτών ή ενζύμων. Άλλες επιδράσεις σε εντερικό ή εξωεντερικό επίπεδο, συμπεριλαμβανομένων των επιδράσεων στο ανοσοποιητικό, είναι πιο πιθανό να είναι πιο εξειδικευμένες και να αφορούν συγκεκριμένα στελέχη, οπότε και οι πιθανοί ισχυρισμοί μπορούν να γίνουν μόνο για στελέχη ή είδη στα οποία έχει αποδειχθεί ο εκάστοτε μηχανισμός. Αντίθετα, σε πολλές περιπτώσεις, ένα συγκεκριμένο προβιοτικό βακτήριο μπορεί να ασκήσει διάφορες επιδράσεις που προάγουν την υγεία, καθώς πολλαπλοί μηχανισμοί αντιπροσωπεύονται συχνά σε ένα μόνο στέλεχος. Παρόλα αυτά κανένα μεμονωμένο στέλεχος δεν αναμένεται να έχει τις πιθανές ιδιότητες που αναφέρονται παρακάτω (Διάγραμμα 2) (Hill et al, 2014).

##### **Σπανιότερα**

Ειδικές επιδράσεις στελεχούς

-Νευρολογικές επιδράσεις

-Ανοσολογικές επιδράσεις

-Ενδοκρινολογικές επιδράσεις

-Παραγωγή συγκεκριμένων βιοδραστικών

**Συχνά**

Επιδράσεις σε επίπεδο είδους

- Σύνθεση βιταμινών
- Ενζυματική δραστηριότητα
- Εξουδετέρωση των καρκινογόνων ουσιών
- Άμεσο ανταγωνισμό
- Ενίσχυση του φραγμού του εντέρου

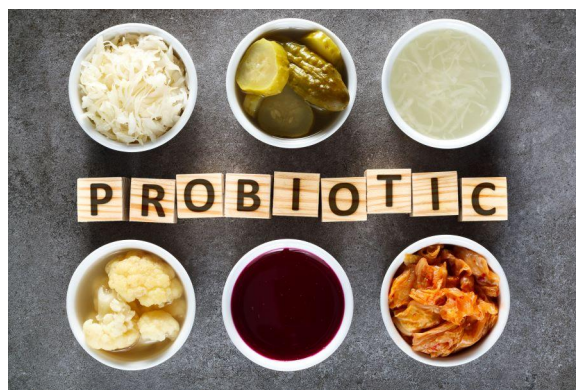
**Διαδεδομένα**

Μεταξύ των μελετημένων προβιοτικών

- Αντίσταση αποικισμού
- Παραγωγή οξέος και λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας
- Ρύθμιση της εντερικής διέλευσης
- Αυξημένος κύκλος εργασιών των εντεροκυττάρων
- Ανταγωνιστικός αποκλεισμός παθογόνων
- Ομαλοποίηση της διαταραγμένης μικροχλωρίδας

**Διάγραμμα 2.** Πιθανές επιδράσεις στην υγεία & μηχανισμοί δράσης προβιοτικών μικροοργανισμών (Hill et al., 2014).

Τα προβιοτικά μπορεί να δρουν ρυθμίζοντας το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή και αυτός ο τρόπος δράσης είναι ιδιαίτερα σημαντικός, για την πρόληψη και θεραπεία μολυσματικών ασθενειών και της φλεγμονής του πεπτικού σωλήνα (Oelshlaeger, 2010). Μπορούν επίσης να επηρεάζουν άμεσα άλλους μικροοργανισμούς συγγενείς ή και παθογόνους. Τέλος, τα προβιοτικά μπορούν να δρουν σε μικροβιακά προϊόντα όπως τοξίνες και προϊόντα του ξενιστή όπως χολικά άλατα ή και σε συστατικά τροφών. Δηλαδή είτε να έχουν άμεση αντιμικροβιακή επίδραση, είτε να συμβάλλουν στην ακεραιότητα του φραγμού του βλεννογόνου ή ακόμη και να δρουν μέσω ανοσολογικής διαμόρφωσης (Patel&DuPont, 2015; Oelshlaeger, 2010). Η αποτελεσματικότητα ενός προβιοτικού βακτηρίου εξαρτάται κυρίως από τις μεταβολικές του ιδιότητες, το σύνολο των μορίων που παρουσιάζονται στην κυτταρική μεμβράνη, τα συστατικά που εκκρίνει και τα αναπόσπαστα μέρη του μικροοργανισμού, όπως το DNA (Suzzi&Corsetti, 2020).



**Εικόνα 1.** Τροφές πλούσιες σε προβιοτικά

### 1.5 Τεχνολογικές προκλήσεις & ενσωμάτωση στα τρόφιμα

Πρόκληση αποτελεί μέχρι και σήμερα η ανάπτυξη μίας κατάλληλης μεθόδου που θα ευνοεί τη λειτουργική σταθερότητα ενός προβιοτικού μικροοργανισμού. Οι μικροοργανισμοί απαιτούν αυστηρές και καθορισμένες συνθήκες για να αναπτυχθούν, όπως συγκεκριμένα διατροφικά μέσα και συνθήκες περιβάλλοντος (κατάλληλη θερμοκρασία, pH, ενεργότητα νερού, περιεκτικότητα σε οξυγόνο). Οι διαδικασίες παραγωγής και αποθήκευσης των προϊόντων ενδέχεται να επηρεάσουν τη βιωσιμότητα των βακτηριακών στελεχών, επηρεάζοντας τη σταθερότητα και τις ιδιότητες τους. Προϋπόθεση, όπως προαναφέρθηκε, είναι τα βακτηριακά στελέχη να παραμείνουν βιώσιμα, σε επαρκή αριθμό μέσω της διόδου του γαστρεντερικού σωλήνα με σκοπό να φτάσουν στο εντερικό επιθήλιο. Ως εκ τούτου, η επιλογή ενός βέλτιστου μέσου καλλιέργειας καθώς και προστατευτικών των βακτηριακών κυττάρων είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας ενός προβιοτικού προϊόντος (El Hage et al., 2017).

Επιπλέον, στρατηγικές που συμβάλλουν στην μεγαλύτερη βιωσιμότητα των κυττάρων είναι είτε η προσαρμογή του στελέχους στο μικροπεριβάλλον του τροφίμου, είτε η προσθήκη ενώσεων που μπορεί να λειτουργούν ως αυξητικοί παράγοντες (τα σάκχαρα, οι βιταμίνες, τα μέταλλα και τα πρεβιοτικά). Ακόμη, υπάρχουν ενώσεις που προστατεύουν τα κύτταρα κατά την διάρκεια της επεξεργασίας, όπως είναι το αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη, η πρωτεΐνη ορού γάλακτος, η γλυκερίνη και η λακτόζη. Επίσης, η χρήση πρεβιοτικών ως προστατευτικά για προβιοτικούς μικροοργανισμούς παρουσιάζει έντονο ενδιαφέρον. Τέλος, μία επιπρόσθετη προτεινόμενη λύση για την προστασία των προβιοτικών μικροοργανισμών είναι η τεχνολογία της μικροενθυλάκωσης. Μια αποτελεσματική διαδικασία ενθυλάκωσης περιλαμβάνει την δημιουργία κατάλληλου

μικροπεριβάλλοντος στο οποίο τα βακτήρια θα παραμείνουν βιώσιμα κατά την επεξεργασία και την αποθήκευση και θα έχουν μία ελεγχόμενη απελευθέρωση στον πεπτικό σωλήνα (Chávarri et al., 2012). Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την ενθυλάκωση είναι καθοριστικής σημασίας για την αποτελεσματικότητά της. Πολλά υλικά έχουν εφαρμοστεί επιτυχώς, συμπεριλαμβανομένων πολυσακχαριτών (αλγινικό, φυτικά/μικροβιακά κόμμεα, χιτοζάνη, άμυλο, κ-καραγενάννη, οξική φθαλική κυτταρίνη), καθώς και πρωτεϊνών (ζελατίνη, πρωτεΐνες γάλακτος). Ακόμη, οι τεχνολογίες ενθυλάκωσης που εφαρμόζονται είναι εξίσου σημαντικές για τη βιωσιμότητα των προβιοτικών (Manojlović et al., 2010). Οι κύριες τεχνικές μικροενθυλάκωσης που χρησιμοποιούνται είναι αρχικά, η ξήρανση με ψεκασμό. Αυτή η τεχνική θεωρείται ως η πιο οικονομική και αποτελεσματική μέθοδος, που χρησιμοποιήθηκε αρχικά, το 1930. Ωστόσο, η βιωσιμότητα των προβιοτικών κυττάρων μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά σε συνθήκες ξήρανσης με ψεκασμό. Με σκοπό την βελτίωση της επιβίωσης των προβιοτικών γίνεται προσθήκη προστατευτικών μέσων πριν την ξήρανση. Τέτοια είναι για παράδειγμα, τα θερμοπροστατευτικά (τρεχαλόζη και μη λιπαρά στερεά γάλακτος). Μία ακόμα τεχνική μικροενθυλάκωσης είναι η ψύξη με ψεκασμό, η οποία είναι παρόμοια με την ξήρανση με ψεκασμό. Η κύρια διαφορά τους είναι το υλικό μεταφοράς και οι συνθήκες εργασίας. Η λυοφιλίωση είναι επίσης μία τεχνική μικροενθυλάκωσης, και είναι μία διαδικασία αφυδάτωσης του προϊόντος. Κατά την λυοφιλίωση το προϊόν καταψύχεται και στην συνέχεια μειώνεται η πίεση του περιβάλλοντος ώστε το παγωμένο νερό να εξαχνωθεί από την στερεά στην αέρια φάση. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα είναι ότι η μετάβαση στην υδατική φάση και η οξείδωση αποφεύγονται (Chávarri et al., 2012). Συμπερασματικά, για κάθε νέο προβιοτικό μικροοργανισμό απαιτείται λεπτομερής έρευνα για τα ιδανικά υλικά και την εφαρμογή κατάλληλου συνδυασμού τεχνολογιών για την απελευθέρωση των προβιοτικών στο έντερο (Manojlović et al., 2010).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. *Lactobacillus plantarum*

### 2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Ο μικροοργανισμός *L.plantarum* ανήκει στην ομάδα των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB).Είναι κατά βάση βακτήρια που δεν παρουσιάζουν κίνηση και παράγουν γαλακτικό οξύ ως τελικό προϊόν. Τα LAB είναι αρνητικά στην καταλάση και την οξειδάση.Το pH των ανεπτυγμένων καλλιιεργειών τους, στην στατική φάση ανάπτυξης συνήθως είναι κάτω από 4,0 (Todoron&Franco, 2010). Κάποια στελέχη παρουσιάζουν δραστηριότητα ψευδοκαταλάσης, όταν αναπτύσσονται σε περιβάλλον πλούσιο σε ομάδα αίμης, όπως είναι για παράδειγμα το άγαρ αίματος. Οι οργανισμοί που παράγουν μόνο γαλακτικό οξύ, ονομάζονται ομοζυμωτικοί. Ενώ αυτοί που μετασχηματίζουν τα σάκχαρα μέσω της μεταβολικής οδού Dickens-Horecker και Entner Doudoroff, και τελικά παράγουν διοξείδιο του άνθρακα και γαλακτικό οξύ, ονομάζονται ετεροζυμωτικοί οργανισμοί. Ο *L.plantarum* ανήκει στα προαιρετικά ετεροζυμωτικά είδη (Todoron&Franco, 2010).Επιπλέον, τα πολλά είδη των LAB παρουσιάζουν αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντικαρκινικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες καθώς επίσης και μείωση των επιπέδων χοληστερόλης. Τέλος, τα βακτήρια της κατηγορίας αυτής ανήκουν σε μία από τις πιο ζωτικές προβιοτικές ομάδες, οι οποίες προσφέρουν πολλές λειτουργικές ιδιότητες (Abdelazez et al., 2018).

### 2.2 Φυσιολογικά και Βιοχημικά χαρακτηριστικά του *L. plantarum*

Ο *L.plantarum* ανήκει σε μία γενικότερη ομάδα, όπου μαζί με τον *Lactobacillus pentosus* και τον *Lactobacillus paraplantarum*,αποτελούν μια στενά συγγενή ομάδα γνωστή ως «ομάδα *Lactobacillus plantarum*». Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά του ο *L. plantarum* είναι Gram-θετικό βακτήριο, δεν παρουσιάζει κίνηση, δεν σχηματίζει σπόρια, είναι μικροαερόφιλο και ανήκει στην κατηγορία των μεσόφιλων βακτηρίων (Corsetti&Valmorri, 2011). Μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες 15–45°C, σε τιμές pH 4–9, και σε περιβάλλον παρουσία 4–6% NaCl. Εξαιτίας αυτών των χαρακτηριστικών ο *L.plantarum* έχει απομονωθεί από ποικίλα φυτικά υποστρώματα, αλλά επίσης και από γάλα, προϊόντα κρέατος, ψάρια, πηγές και λύματα (Todoron&Franco, 2010). Η ιδιότητά του να απομονώνεται από διάφορες πηγές με ευκολία οφείλεται στο μέγεθος του γονιδιώματός του. Επίσης, αναπτύσσεται και προσαρμόζεται σε περιβάλλοντα που επικρατούν διαφορετικές

συνθήκες, όπως είναι οι πιέσεις που δημιουργούνται στο πεπτικό σύστημα, στο γαστρεντερικό και στο ουρογεννητικό σύστημα (Abdelazez et al., 2018). Τα κύτταρά του μοιάζουν με ευθείες ράβδους με στρογγυλεμένα άκρα, 0,9–1,2 μm πλάτος και 3,0–8,0 μm μήκος, εμφανίζονται μεμονωμένα, σε ζευγάρια ή ως αλυσίδες. Το κυτταρικό τους τοίχωμα περιέχει είτε ριβιτόλη, είτε γλυκερόλη, είτε τείχοϊκό οξύ (μόνο σε ορισμένα στελέχη) (Abdelazez et al., 2018).

Όπως ειπώθηκε παραπάνω, η ικανότητά του να προσαρμόζεται σε διαφορετικά περιβάλλοντα, συνδέεται με την ικανότητα του να ζυμώνει διαφόρων ειδών υδατάνθρακες, όπως είναι οι μονοσακχαρίτες, οι δισακχαρίτες και οι πολυσακχαρίτες. Επιπλέον, έχει την ικανότητα να μπορεί να ζυμώνει σάκχαρα και να παράγει οργανικά οξέα, όπως οξικό οξύ, ηλεκτρικό οξύ, γαλακτικό οξύ ή διοξειδίο του άνθρακα σαν κύριους μεταβολίτες. Ανάλογα με την πηγή άνθρακα, τα βακτήρια μπορούν να αλλάξουν τις διεργασίες που επιτελούν με την χρήση ετεροζυμωτικών και ομοζυμωτικών οδών του μεταβολισμού (Abdelazez et al., 2018). Μία από τις εφαρμογές του *L. plantarum* είναι στην οينوποιία, όπου εκεί ο μικροοργανισμός μεταβολίζει το μηλικό οξύ σε διοξειδίο του άνθρακα, με αποτέλεσμα να διευκολύνεται η μηλογαλακτική ζύμωση (Todorov & Franco, 2010).

### 2.3 Παραγωγή βακτηριοσινών

Τα γαλακτικά βακτήρια (LAB), όπως αναφέρθηκε παραπάνω, έχουν μία βασική ιδιότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών μέσω της παραγωγής οργανικών οξέων, διοξειδίου του άνθρακα, διακετυλίων ή αντιμικροβιακών πεπτιδίων. Τα τελευταία ανήκουν στην ομάδα των βακτηριοσινών. Οι βακτηριοσίνες είναι αντιμικροβιακά πεπτίδια που παράγονται από Gram-θετικά και Gram-αρνητικά βακτήρια. Ο *L. plantarum* παράγει βακτηριοσίνες οι οποίες ονομάζονται πλανταρισίνες (plantaricins) (Πίνακας 3) (Syaputri et al., 2020; Abdelazez et al., 2018). Οι πλανταρισίνες δρουν αντιβακτηριακά έναντι παθογόνων θετικών και αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, που βρίσκονται στα τρόφιμα και θα μπορούσαν να προκαλέσουν ασθένειες στον άνθρωπο όπως γαστρεντερίτιδα, λοιμώξεις, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα κ.λπ. (Abdelazez et al., 2018). Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, ένας αριθμός στελεχών παραγωγής βακτηριοσίνης του *L. plantarum* έχει απομονωθεί από μια ποικιλία τροφίμων, όπως κρέας, ψάρι, φρούτα, λαχανικά, δημητριακά και γάλα (Shafiei, 2018). Οι πλανταρισίνες χρησιμοποιούνται ευρέως ενσωματωμένες ως αντιβακτηριδιακό φιλμ συσκευασίας, βιοσυντηρητικό, με

σκοπό την παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων και ως αντικαρκινικά φάρμακα.

Ο μηχανισμός δράσης των βακτηριοσινών έχει στόχο κυρίως, την βακτηριακή μεμβράνη (Diep et al., 2001). Οι βακτηριοσίνες είναι κατιονικά πεπτίδια (20-70 αμινοξέα), μένουν σταθερά σε υψηλές θερμοκρασίες, σε πολύ όξινα ή αλκαλικά περιβάλλοντα και σε συνθήκες υψηλής αλατότητας. Είναι υδρόφοβα μόρια με μία ελικοειδή δομή, η οποία διευκολύνει την εισαγωγή τους στην κυτταροπλασματική μεμβράνη του κυτταρικού στόχου (Syaputri et al.,2020). Οι βακτηριοσίνες αποδείχθηκε ότι δρουν κυρίως εναντίον των Gram-θετικών βακτηρίων και σπάνια κατά των Gram-αρνητικών (Seddik et al.,2017).

Στο μέλλον, η χρήση βακτηριοσινών εξετάζεται για την βιοσυντήρηση θαλασσινών, ωμού κρέατος, γαλακτοκομικών προϊόντων και τροφίμων που έχουν υποστεί ζύμωση. Έχει αναφερθεί πως μπορεί να αδρανοποιήσει κάποια συγκεκριμένα παθογόνα βακτήρια που σχετίζονται με τα τρόφιμα όπως *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* και *Clostridium botulinum*(Syaputri et al.,2020). Έχει διαπιστωθεί πως οι βακτηριοσίνες δεν είναι τοξικές για τον άνθρωπο, δείχνουν σταθερότητα σε υψηλές θερμοκρασίες και σε αντιβιοτική δράση και αποικοδομείται εύκολα από πρωτεολυτικά ένζυμα. Παρόλα αυτά οι βακτηριοσίνες δεν έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία εξαιτίας του μειονεκτήματος να σκοτώνουν ή να αναστείλουν στενά συγγενικά είδη (Syaputri et al.,2020).

Όσον αφορά την αντικαρκινική δράση των βακτηριοσινών η έρευνα δεν είναι ακόμη εκτεταμένη, αλλά αυτό φαίνεται να αλλάζει. Πιο συγκεκριμένα, η plantaricin P1053 η οποία απομονώθηκε από το στέλεχος *L. plantarum* PBS067 και έδειξε φυσιολογική δράση και ταυτόχρονα μείωση του πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων (Syaputri et al.,2020). Παράλληλα, η plantaricin ZJ5 έχει παρουσιαστεί ως ένα ιδιαίτερο μοντέλο, αφού δρα εναντίον των παθογόνων *Staphylococcus aureus* και *Listeria monocytogenes*, (Gram-θετικά βακτήρια) και άλλα και εναντίον των *E.coli*, *Salmonella spp.*, και *Shigella spp.* (Gram-αρνητικά) (Seddik et al.,2017). Μία ακόμα δράση των βακτηριοσινών, η οποία θα μπορούσε να εφαρμοσθεί στα λειτουργικά τρόφιμα, είναι η μείωση τους χοληστερόλης αλλά και η αντιοξειδωτική τους δράση από διαφορετικά γονίδια που κωδικοποιούν την πλανταρισίνη στο στέλεχος *L. plantarum* (Devi et al., 2019).

**Πίνακας 2.** Χαρακτηριστικά ορισμένων χαρακτηριστικών plantaricins (Seddik et al., 2017).

| Όνομα Βακτηριοσίνης                    | Στέλεχος /πηγή απομόνωσης                            | Δομή Βακτηριοσίνης                                           | Ευαίσθητα Βακτήρια                                                                                            |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Plantaricin S</b>                   | <i>L. plantarum</i> LPCO10/<br>Ζύμωση πράσινης ελιάς | Δυο πεπτίδια 26 και 24 υπολείμματα αμινοξέων                 | Κλωστρίδια, Προπιονοβακτήρια, Εντερόκοκκοι                                                                    |
| <b>PlantaricinEF και PlantaricinJK</b> | <i>L. plantarum</i> C11/<br>Ζύμωση αγγουριού         | Δυο διπεπτίδια βακτηριοσινών plantaricinJK και plantaricinEF | Γαλακτοβάκιλλοι, <i>Pediacoccus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Streptococcus</i>                               |
| <b>Plantaricin W</b>                   | <i>L. plantarum</i> LMG 2379/<br>Κρασί               | Δυο πεπτίδια 29 και 32 υπολείμματα                           | Μεγάλος αριθμός από Gram θετικά βακτήρια όπως <i>S. aureus</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>E. faecalis</i> |
| <b>Plantaricin C</b>                   | <i>Lb. Plantarum</i> LL441/<br>Τυρί                  | Μονό πεπτίδιο: 27 υπολείμματα                                | Μεγάλος αριθμός από Gram θετικά βακτήρια όπως <i>B. subtilis</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Cl. sporogenes</i> |

## 2.4 Οφέλη στην ανθρώπινη υγεία

Ο *L. plantarum* αποτελεί σημαντικό μέλος της προβιοτικής ομάδας και μπορεί να επιφέρει ευεργετικά αποτελέσματα στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα πιθανά οφέλη που θα μπορούσε να προσφέρει ο *L. plantarum* στον οργανισμό περιλαμβάνουν τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος, την μείωση των επιπέδων χοληστερόλης, την ισορροπία μικροοργανισμών του εντέρου, την ελάττωση του κινδύνου εμφάνισης όγκων και επιπλέον, ανοσολογική άμυνα έναντι επιβλαβών αντιγόνων (Abdelazez et al., 2018).

Σε μια από τις πρωταρχικές μελέτες που πραγματοποιήθηκε από τους Kingamkono et al. (1999), παιδιά κάτω των 5 ετών κατανάλωναν καθημερινά ένα ρόφημα δημητριακών με γαλακτικό οξύ το οποίο ονομάζεται togwa, και περιέχει το στέλεχος *L. plantarum* 299v. Πριν την κατανάλωση του ροφήματος, βρέθηκε ότι το 38,9% των παιδιών είχαν εντεροπαθογόνα βακτήρια, μετά από 1 και 2 εβδομάδες κατανάλωσης του ροφήματος αυτά μειώθηκαν στα 6,1% και 6,9% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά εξακολουθούσαν να ισχύουν και 2 εβδομάδες μετά την κατανάλωση του togwa, με μόνο το 6,5% των παιδιών να φέρουν εντεροπαθογόνα.

Σε άλλη μελέτη που έγινε από τους Naruszewicz et al. (2002) σε καπνιστές που υποβλήθηκαν σε δίαιτα με ενεργές καλλιέργειες *L. plantarum* 299v τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική μείωση στη συγκέντρωση του ινωδογόνου κατά

21% και της LDL χοληστερόλης κατά 11,7%, όπου και οι δύο αυτοί είναι παράγοντες πρόκλησης της στεφανιαίας νόσου. Αυτό το αποτέλεσμα μείωσης των επιπέδων LDL χοληστερόλης και ινωδογόνου μπορεί να σχετίζεται με την παραγωγή προπιονικού οξέος και τη βακτηριακή ζύμωση των ινών.

Σε έρευνα που διεξήχθη από τους Bosch et al.(2011), δύο στελέχη *L.plantarum* (CECT 7315 και CECT 7316) βρέθηκε πως ήταν ικανά να επιβιώνουν στις στομαχικές και εντερικές συνθήκες, καθώς και να προσκολλώνται στο εντερικό επιθήλιο. Αυτές είναι δύο σημαντικές προϋποθέσεις ενός προβιοτικού στελέχους. Επιπλέον, τα δύο αυτά στελέχη ήταν ικανά να αναστείλουν αρκετά εντερικά παθογόνα όπως, *E. coli*, *S. enterica*, *Y. enterocolitica*, *B. Subtilis* και *Cl. botulinum*. Τέλος, αποδείχθηκε ότι επάγουν την παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτοκινών, ιδιαίτερα όταν χορηγούνται μαζί.

## 2.5 Χρήση σε τρόφιμα

Το είδος *L. plantarum* έχει αναγνωρισμένο - πιστοποιημένο τεκμήριο ασφάλειας (QPS) από την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) και έχει οριστεί από τον FDA ως GRAS, δηλαδή ως ασφαλές προϊόν για την ανθρώπινη κατανάλωση. Επιπλέον, θεωρείται μικροοργανισμός με τεκμηριωμένο ιστορικό χρήσης στα τρόφιμα (Seddik et al., 2017).

Είναι γνωστό πως τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται ευρέως σε παραδοσιακές και βιομηχανικές διαδικασίες ζύμωσης και έχουν γίνει ποικίλες έρευνες για να αποδειχθεί η θετική επίδρασή τους στα τρόφιμα. Παρόλα αυτά ορισμένα στελέχη έχουν συσχετιστεί με μεμονωμένες περιπτώσεις λοιμώξεων. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Cannon et al. (2005), ανέφεραν 241 περιπτώσεις. Οι 4 από τις 241 λοιμώξεις σχετίστηκαν με υπερβολική κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων. Τα στελέχη *Lactobacillus* ταυτοποιήθηκαν και βρέθηκε ότι τα είδη *L. casei* και *L. rhamnosus* απαντώνται πιο συχνά. Επίσης, βρέθηκε πως οι ασθενείς είχαν προδιάθεση για μόλυνση καθώς ήταν άτομα με σοβαρές παθήσεις όπως καρκίνο, διαβήτη και μεταμόσχευση.

Ο *L. plantarum* εντοπίζεται σε ευρεία ποικιλία προϊόντων διατροφής (Πίνακας 3.), τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση, συμπεριλαμβανομένων φυτικών προϊόντων με αναερόβιες συνθήκες (Shafiei, 2018). Αυτό το είδος υπάρχει επίσης στο σάλιο και αρχικά απομονώθηκε από αυτό. Το τελευταίο διάστημα, το

ενδιαφέρον έχει στραφεί στις ιδιότητές του αλλά και στις εφαρμογές που έχει σε προϊόντα τροφίμων και ποτών που έχουν υποστεί ζύμωση όπως τα γαλακτοκομικά προϊόντα (κεφίρ, τυρί), προϊόντα κρέατος και λαχανικά. Ο μικροοργανισμός δίνει στα τρόφιμα συγκεκριμένη γεύση ανάλογα με την συγκέντρωση των οξικών και γαλακτικών οξέων (Abdelazez et al., 2018).

Η χρήση του *L. plantarum* στα γαλακτοκομικά προϊόντα, πραγματοποιείται εδώ και αιώνες για την διαδικασία της ζύμωσης των τροφίμων και είναι υπεύθυνος για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων. Ο *L. plantarum* έχει απομονωθεί από διάφορους τύπους τυριών, όπως είναι το pecorino romano, το cheddar, η φέτα, η μοτσαρέλα, το Βέλγικο μαλακό τυρί και άλλα πολλά. Σε πάρα πολλά τυριά, στο γιαούρτι, στο κεφίρ και στο γάλα, ο *L. plantarum* είναι ένα από τα πιο συχνά απαντούμενα είδη (Todorov&Franco, 2010).

Επιπλέον, πολλά φυτικά προϊόντα τα οποία αποτελούν φυσική πηγή γαλακτικών βακτηρίων (LAB). Ο *L. plantarum* υπάρχει σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, στην διαδικασία παραγωγής ξινολάχανου, πράσινης ελιάς και αγγουριού, αφού παίρνει μέρος στη ζύμωση (Todorov&Franco,2010). Βέβαια, το τελικό προϊόν της ζύμωσης διαφέρει ανάλογα με τα βακτήρια που χρησιμοποιούνται, την συγκέντρωση αλάτων και την θερμοκρασία της ζύμωσης. Εξαιτίας αυτού, βρέθηκε ο κατάλληλος συνδυασμός μικροοργανισμών για δημιουργία καλλιέργειας εκκίνησης, με σκοπό την παραγωγή του ξινολάχανου. Σε πρόσφατη μελέτη, αναφέρθηκε πως για την παραγωγή ξινολάχανου στην πρώτη φάση της ζύμωσης χρησιμοποιήθηκε ο μικροοργανισμός *Leuconostoc mesenteroides* και κατόπιν ο *Lactobacillus plantarum* στην δεύτερη. Ο *L. mesenteroides* δίνει στο ξινολάχανο μία ευχάριστη αρωματική γεύση, ενώ ο *L. plantarum* μία όξινη γεύση. Ο συνδυασμός αυτός των μικροοργανισμών βελτίωσε το τελικό προϊόν καθώς ελαττώθηκε ο χρόνος της ζύμωσης και αναστάλθηκε η ανάπτυξη άλλων παθογόνων μικροοργανισμών (Abdelazez et al., 2018).



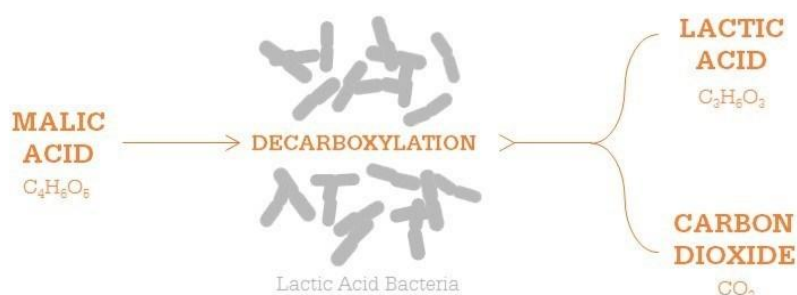
**Εικόνα 2:** Ξινολάχανο σε διαδικασία ζύμωσης

Στα προϊόντα κρέατος έχει αναφερθεί πολλές φορές η παρουσία του *L. plantarum*, σε νωπά και ζυμωμένα προϊόντα. Οι πιθανότητες να επιμολυνθεί το νωπό κρέας από τον *L. plantarum* είναι μικρές, αλλά αυτό εξαρτάται από την εποχή και τις συνθήκες επεξεργασίας του κρέατος. Επίσης, τα γαλακτικά βακτήρια και ιδιαίτερα ο *L. plantarum* αποτελούν σημαντικό κομμάτι στη συντήρηση του κρέατος. Ο *L. plantarum* χρησιμοποιείται ως καλλιέργεια εκκίνησης και ως προστατευτική καλλιέργεια για παραγωγή φρέσκων και ζυμωμένων κρεάτων. Επίσης, στα κρέατα που συντηρούνται στο ψυγείο, μπορεί να προστεθεί ο μικροοργανισμός για να καταστείλει την ανάπτυξη των παθογόνων (Todorov&Franco, 2010).

Ο *L. plantarum* χρησιμοποιείται συχνά στην αρτοποιία, για την παραγωγή ψωμιού, γλυκιάς ζύμης, ζυμών για κράκερ κ.ά. Ο μικροοργανισμός κατά την ζύμωση παράγει οργανικά οξέα και προσδίδει στα τελικά προϊόντα μία χαρακτηριστική γεύση και άρωμα. Οι αντιμικροβιακές του ιδιότητες έχουν επιπλέον διερευνηθεί σε αντίστοιχα προϊόντα. Πιο συγκεκριμένα, έχει αξιολογηθεί η ικανότητα του, να καθυστερεί την ανάπτυξη δύο μυκητών, που βρέθηκαν στο προζύμι και στο ψωμί. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά, καθώς το στέλεχος είχε την ικανότητα να καθυστερήσει την ανάπτυξη των μυκήτων και τελικά, να αυξηθεί η διάρκεια ζωής του ψωμιού (Todorov&Franco, 2010).

Τέλος, όσον αφορά τα προϊόντα διατροφής, ο *L. plantarum* μπορεί να αναπτυχθεί σε ποτά που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως για παράδειγμα είναι η μύρα, το κρασί, και ο μηλίτης. Ο *L. plantarum* συναντάται πιο συχνά από άλλα γαλακτικά βακτήρια στην οينوποιία. Η μηλογαλακτική ζύμωση (MLF) στο κρασί, πραγματοποιείται συνήθως στο τέλος της αλκοολικής ζύμωσης κυρίως από τον *Oenococcus oeni* και από άλλους μικροοργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του *L. plantarum*. Θεωρείται μία διαδικασία αποξίνωσης τους κρασιού, κατά την οποία το

δικαρβοξυλικό L-μηλικό οξύ μετατρέπεται σε μονοκαρβοξυλικό L-γαλακτικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα (Liu, 2002)(Εικόνα 3). Σε μία διαφορετική προσέγγιση, χρησιμοποιήθηκε ο *L. plantarum* ως εκκινητής και τα αποτελέσματα ήταν αρκετά ικανοποιητικά, καθώς τα στελέχη εμφάνισαν υψηλή μηλογαλακτική δράση, ακόμη και σε χαμηλό pH, τα σάκχαρα μεταβολίστηκαν σε μικρό βαθμό και δεν παράχθηκε οξικό οξύ (Todorov&Franco, 2010).



**Εικόνα 3:** Η μηλογαλακτική ζύμωση

**Πίνακας 3.** Χρήσεις του *L. plantarum* σε ποικιλία τροφίμων (deVries et al., 2006).

| Πρώτη ύλη         | Προϊόν                                                          |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Φυτικά προϊόντα   | Ελιές, Σπόροι κακάο, Κασάβα, Κρασί                              |
| Προϊόντα γάλακτος | Τυρί Stilton, Τυρί Φέτα, Τυρί ricotta forte                     |
| Προϊόντα κρέατος  | Λουκάνικο που έχει υποστεί ζύμωση<br>Ζυμωμένο Ιταλικό λουκάνικο |

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Η χρήση των γαλακτικών βακτηρίων στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι μία από τις παλαιότερες και πιο παραδοσιακές εφαρμογές. Στελέχη όπως *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp.*bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp.*lactis*, *L. lactis* subsp.*cremoris*, *L. rhamnosus* και *L. plantarum* χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες για την παρασκευή γιαουρτιού, τυριών και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση. Σε αυτές τις διαδικασίες ζύμωσης, τα LAB είναι επίσης υπεύθυνα για τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά αυτών των προϊόντων τα οποία προκύπτουν από την αποικοδόμηση της λακτόζης, των πρωτεϊνών, την οξίνιση και την παραγωγή αρωματικών ενώσεων (Kieronczyk et al., 2004).



**Εικόνα 4:** Γαλακτοκομικά προϊόντα

### 3.1 Προσθήκη του *L. plantarum* σε γαλακτοκομικά προϊόντα

Παρακάτω αναφέρονται έρευνες στις οποίες χρησιμοποιείται ο *L. plantarum* και αναλύεται ο τρόπος με τον οποίο η παρουσία του επηρεάζει το γαλακτοκομικό προϊόν.

#### 3.1.1 ΓΑΛΑ

Σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Dan et al. (2019) μελέτησαν τον *L. plantarum* P-8 ως προβιοτικό βακτήριο σε 6 διαφορετικές αναλογίες (1:1, 1:5, 1:10, 1:50, 1:100 και 1:1000) του *L. plantarum* P-8 ως προς τον εκκινητή της καλλιέργειας του γιαουρτιού. Ο *L. plantarum* P-8 προστέθηκε μαζί με τα στελέχη *L. delbrueckii*

subsp.*bulgaricus* και *S. thermophilus*, στην καλλιέργεια εκκίνησης του γιαουρτιού. Όσον αφορά το pH του γάλακτος αυτό άρχισε να μειώνεται μετά από 2 ώρες ζύμωσης, φτάνοντας περίπου στο 4,5 και 4,01 μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης. Η βιωσιμότητα του *L. plantarum* P-8 στην αναλογία 1:100 την 3<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης ήταν 9,72 logCFU/mL. Το ιξώδες του γάλακτος με *L. plantarum* P-8 αυξήθηκε φτάνοντας στα 1166 mPa·s. Η οργανοληπτική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε την πρώτη ημέρα αποθήκευσης και τα δείγματα με *L. plantarum* P-8, σε αναλογία 1:1000, θεωρήθηκε πως είχαν καλύτερα χαρακτηριστικά από τους υπόλοιπους συνδυασμούς. Τελικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το γάλα μπορεί να ζυμωθεί με *L. plantarum* P-8 μαζί με τα στελέχη *L. delbrueckii* subsp.*bulgaricus* και *S. thermophilus* και ταυτόχρονα να μην αλλοιωθούν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος.

Αντίθετα σε προγενέστερη μελέτη, οι Matejcekova et al. (2016) παρασκεύασαν γάλα σε περιβάλλον UHT με σκοπό να μελετήσουν την επίδραση θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του *L. plantarum*. Το πείραμα έγινε σε θερμοκρασίες από 8 έως 40°C. Αρχικά, όσον αφορά στο pH του γάλακτος, δεν υπήρχε σημαντική μείωση σε σχέση με τις αρχικές τιμές. Από τους 8°C μέχρι τους 40°C, το pH κυμαίνονταν από 6,60 έως 6,35. Η μικρή πτώση του pH μπορεί να εξηγηθεί, από την χαμηλή ικανότητα του *L. plantarum* να χρησιμοποιεί τη λακτόζη και να μετατρέπει το πυροσταφυλικό οξύ σε γαλακτικό. Η ανάπτυξη του *L. plantarum* στο γάλα ήταν αρκετά καλή. Συγκεκριμένα, στους 8°C ο πληθυσμός του στελέχους  $N_0$  (αρχικοί αριθμοί του στελέχους) ήταν 2,97 και  $N_{max}$  (αριθμοί στην στατική φάση) 3,14 logCFU/mL, στους 21°C  $N_0 = 3,30$  και  $N_{max} = 7,74$  logCFU/mL και στους 40°C υπήρξε μείωση κατά 62%, με τιμές  $N_{max} = 6,72$  logCFU/mL. Συμπερασματικά, μπορεί να ειπωθεί ότι εξαιτίας του σταθερού pH που είχε ο *L. plantarum*, μπορεί να προστεθεί σε παστεριωμένο γάλα και τελικά αυτό να γίνει φορέας προβιοτικών μικροοργανισμών.

### 3.1.2 ΤΥΠΙ

Πρόσφατα, οι Hegab et al. (2021) παρασκεύασαν τυρί Karish (λευκό μαλακό τυρί, αποβουτυρωμένου γάλακτος) χρησιμοποιώντας το προβιοτικό στέλεχος *L. plantarum* DSM 20174, με σκοπό να μελετήσουν τα οργανοληπτικά, χημικά και μικροβιολογικά χαρακτηριστικά. Αρχικά, στην οργανοληπτική αξιολόγηση οι βαθμολογίες σε όλες τις παραμέτρους (χρώμα, γεύση, υφή) ήταν

σημαντικά υψηλές στο δείγμα του τυριού με τον *L. plantarum*, με τη συνολική βαθμολογία να φτάνει τα 98,7/100. Την τρίτη ημέρα αποθήκευσης ο πληθυσμός του *L. plantarum* έφτασε τα 9 logCFU/g. Το δείγμα με το στέλεχος είχε την χαμηλότερη οξύτητα την ημέρα παραγωγής (0,40%) και την υψηλότερη στις 28 ημέρες αποθήκευσης (0,92%). Το δείγμα του τυριού με τον *L. plantarum* είχε την μεγαλύτερη διάρκεια ζωής. Αυτό αποδόθηκε στην ικανότητα του στελέχους να παράγει βακτηριοσίνες, υπεροξειδίο του υδρογόνου και οργανικά οξέα, τα οποία εμποδίζουν την αλλοίωση της μικροβιακής ανάπτυξης.

Σε άλλη μελέτη, οι Wang et al, (2018) παρασκεύασαν τυρί Cheddar χρησιμοποιώντας καλλιέργεια εκκίνησης με προσθήκη του στελέχους *L. plantarum* SKT109, ως συμπληρωματική καλλιέργεια. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης (περίοδος 12 εβδομάδων) μελετήθηκαν οι επιδράσεις του στελέχους στο τυρί. Αρχικά, όσον αφορά την σύνθεση του τυριού δεν υπήρχαν μεγάλες διαφορές στις τιμές της απόδοσης, πρωτεΐνης, λίπους, αλατιού, pH και υγρασίας ανάμεσα στο τυρί χωρίς το στέλεχος και το τυρί με την προσθήκη του *L. plantarum*. Μόνο η υγρασία του τυριού με το στέλεχος ήταν αυξημένη κατά 4,04%. Όσον αφορά την επιβίωση του *L. plantarum* SKT109 κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης, αυτή αυξήθηκε κατά 0,26 logCFU/g στις πρώτες 2 βδομάδες, ενώ στο τέλος της ωρίμανσης έφτασε τα 7,89 logCFU/g. Η σκληρότητα, η ελαστικότητα και η συνοχή του τυριού, στο οποίο προστέθηκε ο *L. plantarum*, μειώθηκαν όσο αυξανόταν ο χρόνος ωρίμανσης. Συνολικά, φαίνεται πως το στέλεχος *L. plantarum* SKT109 είναι χρήσιμο σαν πρόσθετο, εφόσον βελτιώνει τις ιδιότητες διατήρησης της υγρασίας και γεύσης του τυριού Cheddar, χωρίς να επηρεάζει σημαντικά την υφή του.

Σε μία άλλη εργασία, οι Papadopoulou et al. (2018), παρασκεύασαν τυρί φέτα με το στέλεχος T571, ως συμπληρωματική καλλιέργεια. Παρόλο που η βιωσιμότητα του μικροοργανισμού κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης στους 4 °C μειώθηκε στα 6,2 logCFU/g, σε γενικές γραμμές το στέλεχος επιβίωσε και στους 4°C και στους 12°C, ανιχνεύοντας το σε επαρκείς ποσότητες στο τέλος της αποθήκευσης. Όσον αφορά το pH και την ογκομετρούμενη οξύτητα επηρεάστηκαν από όλους τους παράγοντες (προβιοτικό, χρόνος αποθήκευσης, θερμοκρασία). Η οργανοληπτική αξιολόγηση έδειξε ικανοποιητικά αποτελέσματα για το προβιοτικό τυρί και το δείγμα θεωρήθηκε αποδεκτό. Η προσθήκη προβιοτικής καλλιέργειας επηρέασε την οξύτητα και τη γλυκύτητα. Επιπλέον, η σκληρότητα του τυριού είχε χαμηλή βαθμολογία, ενώ παρατηρήθηκε και η εμφάνιση πικρής γεύσης.

Σε παλαιότερη εργασία που διεξήχθη από τους Lynch et al, (1999) μελετήθηκε ξανά το τυρί Cheddar, το οποίο παρασκευάστηκε με προσθήκη του *L. plantarum*, με σκοπό την ανάλυση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών που αναπτύσσονται κατά την ωρίμανση του τυριού. Αρχικά, εξετάστηκε το άρωμα του τυριού σε κάθε στάδιο ωρίμανσης (3, 6 και 9 μήνες) και τα αποτελέσματα ήταν ικανοποιητικά. Πιο συγκεκριμένα, τα πειραματικά τυριά έδειξαν να έχουν πιο έντονο όξινο και πικάντικο άρωμα συγκρινόμενα με το τυρί χωρίς το στέλεχος. Η ένταση του αρώματος είναι πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό και φαίνεται να αυξάνεται με την ωρίμανση του τυριού. Η γεύση του τυριού φαίνεται να επηρεάστηκε επίσης από τον μικροοργανισμό. Γενικά, τα παραγόμενα τυριά είχαν υψηλότερες βαθμολογίες για την ένταση της γεύσης, την όξινη και την αλμυρή γεύση, ενώ βαθμολογήθηκαν χαμηλότερα για την κρεμώδη, γαλακτώδη γεύση. Επίσης, στα πρώτα στάδια της ωρίμανσης παρατηρήθηκαν υψηλά επίπεδα πικρίας στα δείγματα με τον *L. plantarum*.

### 3.1.3 ΠΑΓΩΤΟ

Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, τα προβιοτικά τρόφιμα έχουν μπει στην ζωή μας τα τελευταία χρόνια και η ζήτησή τους είναι μεγάλη, καθώς προάγουν την υγεία του οργανισμού. Ανάμεσα στα γαλακτοκομικά προϊόντα, το παγωτό είναι το κατάλληλο μέσο για να επιβιώσουν τα προβιοτικά για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Ozturk et al, 2018).

Οι Sabet-Sarvestni et al. (2021) παρασκεύασαν συμβιωτικό παγωτό με φρουκτοολιγοσακχαρίτες ως πρεβιοτικά και γαλακτικά βακτήρια (*L. plantarum* και *Lactobacillus casei*) ως προβιοτικά. Οι τιμές του pH των προβιοτικών παγωτών κυμαίνονταν μεταξύ 5.75–5.86 ενώ για τα παγωτά που δεν ζυμώθηκαν (δηλαδή δείγματα ελέγχου) το pH ήταν 6.49–6.62. Η οξύτητα των παγωτών με τον *L. plantarum* ήταν στα 0,24–0,29 ενώ για τα δείγματα ελέγχου ήταν 0,16–0,19. Η υψηλότερη οξύτητα και το χαμηλότερο pH των προβιοτικών παγωτών οφείλεται στην μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ, ως αποτέλεσμα της ζύμωσης των γαλακτικών βακτηρίων. Παγωτό με υψηλή οξύτητα μπορεί να έχει δυσάρεστη οσμή και γεύση καθώς μπορεί να προκληθεί μετουσίωση των πρωτεϊνών (Goff&Hartel, 2013). Η παρουσία του *L. plantarum* αύξησε το ιξώδες των παγωτών, λόγω της δυνατότητάς του να παράγει μικροβιακούς μεταβολίτες οι οποίοι αυξάνουν το ιξώδες, όπως για παράδειγμα εξωπολυσακχαρίτες (EPS). Η σκληρότητα του

παγωτού με την προσθήκη του *L. plantarum* δεν επηρεάστηκε, παρά μόνο στο ελάχιστο. Από την άλλη, η υφή του δείγματος έγινε κολλώδης. Η συγκεκριμένη υφή, είναι πολύ πιθανόν να οφείλονταν στην παραγωγή EPS κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Ακόμη, όλα τα δείγματα παγωτών έλιωσαν κατά 95%, μετά από 40 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ το δείγμα παγωτού χωρίς καμία προσθήκη έλιωσε κατά 100% στις ίδιες συνθήκες. Αυτό υποδεικνύει πως η ζύμωση του παγωτού μείωσε τον ρυθμό τήξης, πιθανώς λόγω του σχηματισμού EPS από τα μικροβιακά στελέχη. Οι μικροβιολογικές αναλύσεις έδειξαν ότι ο αριθμός των βακτηρίων στην αρχική καλλιέργεια και στα εμβολιασμένα μίγματα παγωτού ήταν μεταξύ  $10^8$  και  $10^9$  CFU/mL. Το παγωτό με *L. plantarum* είχε μικρότερο αριθμό βακτηρίων συγκριτικά με το παγωτό *L. casei*, μετά από 60 ημέρες. Επιπλέον, η μελέτη έδειξε ότι ο αριθμός των προβιοτικών μειώθηκε κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, εξαιτίας της μείωσης του pH και τις συνθήκες κατάψυξης. Τα δείγματα του παγωτού αξιολογήθηκαν οργανοληπτικά μετά από αποθήκευση στους  $-18^\circ\text{C}$  για 20 ημέρες. Όσον αφορά την οσμή, το δείγμα με τον *L. plantarum* δεν ήταν αποδεκτό, λόγω δημιουργίας δυσάρεστης οσμής. Η γεύση χαρακτηρίστηκε με μέτρια βαθμολογία (3,5/5). Η βαθμολογία για την υφή ήταν υψηλή (~4,6/5) και η γενικότερη αποδοχή του προϊόντος ήταν περίπου 4,2/5.

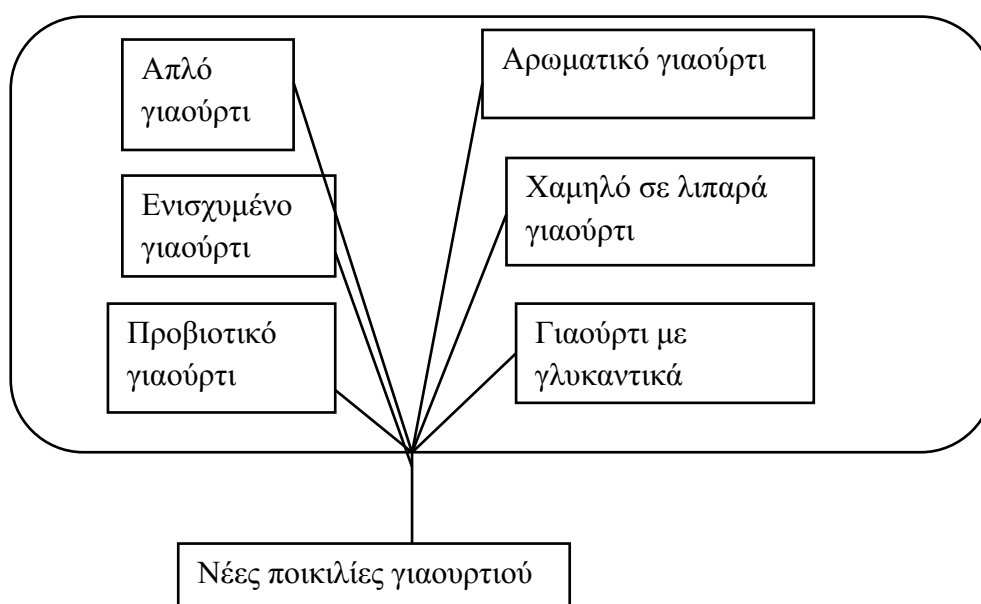
Οι Ibrahim et al. (2022) παρασκεύασαν επίσης συμβιωτικό παγωτό με ίνες okara (υποπροϊόν της σόγιας) και το προβιοτικό *L. plantarum* ATCC 8014. Αρχικά, το ιξώδες του παγωτού με τον *L. plantarum* ήταν χαμηλό, με αποτέλεσμα η υφή του να αραιωθεί αρκετά, σε σύγκριση με το παγωτό που περιείχε ίνες okara και *L. plantarum*. Το παγωτό με τον *L. plantarum* είχε χαμηλά ολικά διαλυτά στερεά και υψηλό ρυθμό τήξης. Η βιωσιμότητα του *L. plantarum* μέσα στο παγωτό από την 1η μέρα μέχρι την 60<sup>η</sup>, μετά την αποθήκευση σε κατάψυξη είχε μετρήσεις οι οποίες κυμαίνονταν μεταξύ 7,46–7,63 logCFU/mL. Το διάστημα μεταξύ της 30<sup>ης</sup> έως της 45<sup>ης</sup> ημέρας παρατηρήθηκαν οι πιο υψηλές μετρήσεις του πληθυσμού. Ο οργανοληπτικός έλεγχος του παγωτού με τον *L. plantarum* αξιολογήθηκε σε κλίμακα 0-10. Το παγωτό αυτό βαθμολογήθηκε με 6,93 για το χρώμα, 6,40 για την υφή, 6,3 για τη γεύση και για τη γενική αποδοχή του προϊόντος.

Οι Siti και Siti (2018) παρασκεύασαν συμβιωτικό παγωτό με 3 παραλλαγές προβιοτικών, ενθυλακωμένο προβιοτικό *L. plantarum* (μικροενθυλάκωση του *L. plantarum* που απομονώθηκε από ζυμωμένους κόκκους κακάο μέσω λυοφιλίωσης), μη ενθυλακωμένο *L. plantarum* και μία μίξη μη ενθυλακωμένου *L. plantarum* (1%)

με *Bifidoobacteria* (4%). Αρχικά τα ενθυλακωμένα προβιοτικά ενίσχυσαν κατά πολύ τις ρεολογικές ιδιότητες του παγωτού. Όσον αφορά τη γλυκύτητα του παγωτού, το παγωτό με το μη ενθυλακωμένο *L. plantarum* ευνοήθηκε λιγότερο εξαιτίας της υψηλής οξύτητας σε σύγκριση με το ενθυλακωμένο *L. plantarum* παγωτό. Παρόλα αυτά, το παγωτό με το μη ενθυλακωμένο *L. plantarum* ήταν πιο αρωματικό από το ενθυλακωμένο. Το παγωτό με το ενθυλακωμένο *L. plantarum* είχε την υψηλότερη βαθμολογία στην υφή από όλα τα δείγματα. Το ίδιο ισχύει και για την όξινη γεύση του, καθώς είχε την πιο υψηλή βαθμολογία. Γενικά, η έρευνα αυτή έδειξε μεγαλύτερη αποδοχή για το παγωτό με το ενθυλακωμένο *L. plantarum*.

### 3.1.4 ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Το γιαούρτι είναι ένα δημοφιλές γαλακτοκομικό προϊόν που λαμβάνεται με ζύμωση λακτόζης προς παραγωγή γαλακτικού οξέος από γαλακτικά βακτήρια. Εκτός από την παρουσία του *S. thermophilus* και του *L. bulgaricus* σε καλλιέργειες εκκίνησης, τα προϊόντα μπορεί να περιέχουν άλλα στελέχη LAB με προβιοτικές ιδιότητες (Poponi et al, 2020).



**Διάγραμμα 3:** Νέες ποικιλίες γιαουρτιού (Behare et al, 2016)

Οι Li et al. (2017) παρασκεύασαν γιαούρτι στο οποίο πρόσθεσαν 9 στελέχη *L. plantarum*. Παρακάτω αναφέρονται οι επιδράσεις του *L. plantarum* κατά τη διάρκεια της ζύμωσης του γάλακτος αλλά και της αποθήκευσης διάρκειας 28 ημερών. Οι *L. plantarum* IMAU80106, IMAU10216 και IMAU70095 μελετήθηκαν

λόγω της καλής πήξης και πρωτεολυτικής δράσης τους. Αυτά τα 3 στελέχη μπόρεσαν να πήξουν το αποβουτυρωμένο γάλα σε 8 έως 9 ώρες, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα στελέχη που απαιτούν πάνω από 10 ώρες. Και στα 3 στελέχη το pH του γιαουρτιού ελαττώθηκε κατά την 14η έως την 21η ημέρα αποθήκευσης. Ενώ από την 21η έως την 28η ημέρα αποθήκευσης το pH αυξήθηκε σημαντικά. Παρόμοιες αλλαγές παρατηρήθηκαν και στην ογκομετρούμενη οξύτητα στο ζυμώμενο γάλα με το στέλεχος IMAU10216. Τα στελέχη IMAU70095 και IMAU80106 είχαν υψηλή και χαμηλή ογκομετρούμενη οξύτητα, αντίστοιχα, κατά την αποθήκευση. Οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών του ζυμώμενου γάλακτος με τα 3 στελέχη *L. plantarum* IMAU80106, IMAU10216 και IMAU70095 παρέμειναν σταθερές καθόλη την διάρκεια της αποθήκευσης. Στην οργανοληπτική αξιολόγηση οι βαθμολογίες για την γεύση, την υφή και την εμφάνιση είχαν μία μικρή πτώση για όλες τις ομάδες κατά την αποθήκευση.

Οι Hilton et al. (2022) σε πρόσφατη μελέτη τους παρασκεύασαν γιαούρτι στο οποίο πρόσθεσαν το στέλεχος *L. plantarum* MC5. Σκοπός ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση του στελέχους στην ποιότητα, στην αντιοξειδωτική δράση και στη σταθερότητα αποθήκευσης του γιαουρτιού. Το προβιοτικό προστέθηκε με διαφορετικές αναλογίες στο γιαούρτι. Αρχικά, η προσθήκη *L. plantarum* MC5 συνέβαλε σημαντικά στην παραγωγή εξωπολυσακχαριτών (EPS) στα δείγματα γιαουρτιού. Το EPS μπορεί να βελτιώσει τις ρεολογικές ιδιότητες, τις ιδιότητες υφής και τη γεύση του τροφίμου. Η αναλογία 2:1 (*L. plantarum* MC5 προς εμπορική καλλιέργεια εκκινητή) του *L. plantarum* MC5 αύξησε κατά 53,61% την παραγωγή EPS. Το ιξώδες σε όλα τα δείγματα με το προβιοτικό ήταν πιο υψηλό σε σύγκριση με το δείγμα γιαουρτιού που δεν περιείχε προβιοτικό κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η σκληρότητα των δειγμάτων με τον *L. plantarum* MC5 ήταν χαμηλότερη από το δείγμα χωρίς *L. plantarum*. Η συνοχή επηρεάζει τη δομική ακεραιότητα του γιαουρτιού. Τα γιαούρτια με το προβιοτικού MC5 παρουσίασαν καλύτερη υφή και μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Η βιωσιμότητα του *L. plantarum* MC5 στα δείγματα με αναλογίες 2:1 και 1:2 ήταν οι πιο υψηλές σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δείγματα, σε όλη τη διάρκεια αποθήκευσης. Όσον αφορά τις μετρήσεις pH και ογκομετρούμενης οξύτητας, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στα δείγματα την πρώτη μέρα αποθήκευσης, αλλά αυξήθηκε σταδιακά καθώς προχωρούσε ο χρόνος αποθήκευσης. Ακόμη, η προσθήκη *L. plantarum* MC5

οδήγησε σε αύξηση της ικανότητας συγκράτησης νερού (WHC), με αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας ζωής του προϊόντος.

Οι Zhang et al. (2020) παρασκεύασαν επίσης γιαούρτι χαμηλής περιεκτικότητας σε ζάχαρη με συγκαλλιέργεια του *L.plantarum* WCFS1 με τα στελέχη *S.thermophilus* και *L.bulgaricus*. Αρχικά, απεδείχθη ότι το στέλεχος *L. plantarum* WCFS1 ήταν ικανό να μεταβολίσει τη λακτόζη και να καταναλώσει τη γαλακτόζη ταυτόχρονα, οδηγώντας σε αύξηση της συνολικής βιομάζας και μείωση του pH. Η βιωσιμότητα των κυττάρων του *L. plantarum* WCFS1 παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα περίπου 9 logcfu/mL, ενώ για τους *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* ο συνολικός αριθμός των βιώσιμων κυττάρων ήταν χαμηλότερος σε αντίθεση με τον *L. plantarum*, όπου πιο συγκεκριμένα έφτασε τα 8 logcfu/mL και 7 logcfu/mL αντίστοιχα. Η έρευνα έδειξε ότι ο *L. plantarum* WCFS1 είναι ικανός να μειώσει το pH και να αυξήσει την ογκομετρούμενη οξύτητα. Ακόμη, η προσθήκη του *L. plantarum* MC5 στο γιαούρτι ενίσχυσε την ικανότητα συγκράτησης νερού. Στην οργανοληπτική αξιολόγηση το γιαούρτι με τον *L. plantarum* έλαβε υψηλές βαθμολογίες.

### 3.2 Απομόνωση του *L. plantarum* από γαλακτοκομικά προϊόντα

Σε πολλά πειράματα που έχουν διεξαχθεί με σκοπό την μελέτη του *Lactobacillus plantarum*, βλέπουμε πως ο μικροοργανισμός υπάρχει ήδη μέσα στο γαλακτοκομικό προϊόν και απομονώνεται, ώστε να αναλυθούν τα χαρακτηριστικά του. Παρακάτω, αναφέρονται πειραματικές εργασίες όπου ο *L. plantarum* απομονώνεται από διάφορα προϊόντα.

#### 3.2.1 ΓΑΛΑ

Σε έρευνα που έγινε από τους Soumitra et al. (2020) απομονώθηκε από ζυμούμενο νωπό γάλα ο *L. plantarum*, με στόχο την αναγνώριση των οφελών που έχει το στέλεχος στην υγεία του καταναλωτή. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν, αρχικά, ότι το στέλεχος που βρέθηκε στο γάλα ήταν ο *L. plantarum* GCC\_19M1. Το συγκεκριμένο στέλεχος φάνηκε να μπορεί να επιβιώνει στο χαμηλό pH (pH=3) που έχει το γαστρεντερικό σύστημα του ανθρώπου, ένα χαρακτηριστικό που είναι απαραίτητο για έναν προβιοτικό μικροοργανισμό και υποδηλώνει την αποτελεσματικότητά του. Ακόμα, το στέλεχος μπορούσε να αναπτυχθεί σε 5% NaCl

και μέτρια ανάπτυξη σε έως 7,5% NaCl. Τέλος, βρέθηκε ότι το στέλεχος *L. plantarum* GCC\_19M1 έχει μη παθογόνο δράση.

Σε άλλη μελέτη που έγινε από τους Todorov et al. (2013) απομονώθηκε από το γάλα γαϊδούρας το στέλεχος *L. plantarum* LP08AD, με σκοπό την αναγνώριση των ευεργετικών ιδιοτήτων του. Το στέλεχος *L. plantarum* LP08AD απομονώθηκε από το προϊόν και αξιολογήθηκε για την παραγωγή βακτηριοσίνης και ταυτόχρονα για την σταθερότητα του παρουσία αλάτων, pH και θερμοκρασιών. Από τα αποτελέσματα της έρευνας φάνηκε ότι η βακτηριοσίνη LP08AD μπόρεσε να αναστείλει την ανάπτυξη αλλοιογόνων μικροοργανισμών, όπως είναι οι *Enterococcus faecium*, *L. curvatus*, *L. fermentum* και *L. monocytogenes*. Η ανάπτυξη της βακτηριοσίνης LP08AD σε ζωμό MRS δεν επηρεάστηκε από το pH όταν κυμάνθηκε από 2,0 έως 10,0 μετά την επώαση για 2 ώρες. Σε pH=12 το στέλεχος έχασε τη δραστηριότητά του, λόγω πρωτεολυτικής αποικοδόμησης, συσσώρευσης ή αστάθειας της πρωτεΐνης. Επίσης, η βακτηριοσίνη LP08AD παρέμεινε σταθερή σε θερμοκρασίες από 30 έως 100°C μετά από 2 ώρες, ωστόσο όταν εκτέθηκε στους 121°C για 20 λεπτά σε pH=6.0, το στέλεχος ανάστειλε μόνο την ανάπτυξη του *E. faecium* ET05. Επιπλέον, εξετάστηκε η ευαισθησία του στελέχους στα αντιβιοτικά. Κάποια από τα αντιβιοτικά που είναι ανθεκτικός ο *L. plantarum* LP08AD είναι τα παρακάτω, αμικασίνη, κεφταζιδίμη, σιπροφλοξασίνη, φλορφαινικόλη, γενταμυκίνη, καναμυκίνη, στρεπτομυκίνη και βανκομυκίνη. Ενώ, κάποια από τα οποία είναι ευαίσθητος είναι η αμικικιλίνη, κεφαζολίνη, ριφαμικίνη, τετρακυκλίνη, πενικιλίνη και οξακιλλίνη. Συμπερασματικά, από την έρευνα αποδείχθηκε ότι ο *L. plantarum* LP08AD μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή λειτουργικών τροφίμων με προβιοτικές ιδιότητες.

Σε μία ακόμη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Mohan Kumar&Murugalatha (2012), στέλεχος *L. plantarum* απομονώθηκε από αγελαδινό γάλα και μελετήθηκε για την παρουσία βακτηριοσίνης και την αντι-παθογόνο δράση του. Φαίνεται πως το προβιοτικό στέλεχος είχε ανασταλτική δράση εναντίων των *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* και *Proteus vulgaris*.

Οι Mathara et al. (2008), μελέτησαν το παραδοσιακό ζυμωμένο γάλα των Maasai από την Κένυα. Ο *L. plantarum* ήταν το κύριο γαλακτικό βακτήριο που βρέθηκε και το οποίο μελέτησαν για τις λειτουργικές του ιδιότητες. Αρχικά, το πιο σημαντικό για ένα προβιοτικό στέλεχος είναι η ανοχή σε οξύ και χολικά άλατα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως 12 από τα 18 στελέχη *L. plantarum* που βρέθηκαν, είχαν

ποσοστά επιβίωσης 80% σε pH 2.5, ενώ σε pH 2.0 μόνο 4 στελέχη επιβίωσαν. 7 στελέχη δεν επιβίωσαν καθόλου μετά από 2 ώρες σε pH 2.0. Όσον αφορά την ανοχή σε χολικά άλατα, δοκιμάστηκαν τα 9 στελέχη που επιβίωσαν καλά σε pH 2.5, χρησιμοποιώντας συγκεντρώσεις χολικών αλάτων που κυμαίνονταν από 0.1% έως 0.5% oxgall. Σε 0,3% oxgall, τα 4 από τα 9 στελέχη ήταν ευαίσθητα σε αυτήν την συγκέντρωση, ενώ τα υπόλοιπα είχαν επίπεδο ανάπτυξης από 50% έως 84%, μετά από 18 ώρες επώασης στους 37°C. Επιπλέον, τα στελέχη εξετάστηκαν για την ευαισθησία τους σε 10 αντιβιοτικά. 11 από τα 16 στελέχη *L. plantarum* ήταν ευαίσθητα στην αμικιλίνη, χλωραμφενικόλη, ερυθρομυκίνη, τετρακυκλίνη και κινουπριστίνη. Ενώ, ήταν ανθεκτικά στη βανκομυκίνη, καναμυκίνη, γενταμυκίνη, τριμεθοπρίμη και στρεπτομυκίνη. Η ευαισθησία των στελεχών στα συγκεκριμένα αντιβιοτικά δεν έδειξε ασυνήθιστα αποτελέσματα.

Σε μία διαφορετική έρευνα, οι Jiang et al (2016), απομόνωσαν από το μητρικό γάλα το στέλεχος *L. plantarum* WLPL04 και το μελέτησαν για τις προβιοτικές του ιδιότητες. Γενικά, το ανθρώπινο μητρικό γάλα παρέχει στο νεογνό προστασία από διάφορα παθογόνα και το κυριότερο, είναι πηγή προβιοτικών, όπως τα bifidobacteria και τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν, αρχικά ότι το στέλεχος *L. plantarum* WLPL04 έχει ανταγωνιστική δράση έναντι των gram-θετικών, *L. monocytogenes* CMCC54007, *B. Cereus* ATCC14579 και *Staph. Aureus* CMCC26003 και των gram-αρνητικών, *P. Aruginosa* MCC10104, *Shigella sonnei* ATCC25931, *Ent. Sakazakii* ATCC29544, *Sal. Typhimurium* ATCC1331 και *E. coli* O157:H7. Έπειτα, αξιολογήθηκε η ικανότητα του στελέχους να επιβιώνει σε όξινο περιβάλλον και στο χολικό άλας. Σε pH 4,5, η ανάπτυξη του ήταν σταθερή. Σε pH 3,5 η κατάσταση του ήταν επίσης σταθερή, για έως 24 ώρες. Σε pH 2,5, μετά από 6 ώρες ο πληθυσμός μειώθηκε κατά 2,34 logcfu/mL. Η περιεκτικότητα σε χολικό άλας επηρέασε σε μικρό βαθμό τον πληθυσμό των κυττάρων, όταν το χολικό άλας ήταν 0,15%. Ενώ, ο πληθυσμός μειώθηκε κατά 1,07 logcfu/mL σε ποσοστό χολικού άλατος 0,30 και 0,45%. Μετά από 24 ώρες, οι διαφορές στον πληθυσμό των κυττάρων ήταν σημαντικές στις περιπτώσεις με 0,30 και 0,45% χολικό άλας αντίστοιχα. Σε γενικότερα πλαίσια, ο *L. plantarum* έδειξε ισχυρή αντιμικροβιακή δράση εναντίον ορισμένων παθογόνων, και καλή επιβίωση στο γαστρεντερικό σωλήνα.

### 3.2.2 BOYTYPO

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Maurad&Meriem (2008), απομόνωσαν στελέχη *L. plantarum*, από παραδοσιακό βούτυρο που φτιάχνεται από γάλα καμήλας (Shmen) και αξιολογήθηκε για τις προβιοτικές του ιδιότητες. Αρχικά, η αντοχή στα χολικά άλατα για τα 14 από τα 38 στελέχη *L. plantarum* ήταν υψηλή, με ποσοστό επιβίωσης 75–69%. Στην συνέχεια, τα 14 στελέχη εξετάστηκαν για την αντοχή τους σε όξινο περιβάλλον. Σε pH 2,0, μόνο τα 4 από τα 14 στελέχη επιβίωσαν (71-54%, 2 ώρες επώασης, 44-32%, 4 ώρες επώασης και 28-21%, 6 ώρες επώασης). Βέβαια, μετά από 2, 4 και 6 ώρες επώασης αντίστοιχα, τα ποσοστά επιβίωσης μειώθηκαν. Έπειτα, τα στελέχη *L. plantarum* SH12 και SH24 εξετάστηκαν για την ευαισθησία τους στα αντιβιοτικά. Τα αποτελέσματα έδειξαν ευαισθησία στην πενικιλίνη G, την οξακιλλίνη, την βανκομυκίνη και την κλινδαμυκίνη, ενώ ήταν ανθεκτικά στην τετρακυκλίνη και καναμυκίνη. Τα ποσοστά παραγωγής γαλακτικού οξέος ήταν για τον *L. plantarum* SH12,  $0.921 \pm 0.29$  mmol/L και για τον *L. plantarum* SH24,  $1.075 \pm 0.23$  mmol/l. Τέλος, κατά την λυοφιλίωση (-50°C για 48h) τα ποσοστά επιβίωσης και για τα δύο στελέχη ήταν 86-87%. Σκοπός αυτής της έρευνας ήταν να επιλέξουν τα καταλληλότερα στελέχη (*L. plantarum* SH12 και SH24), ως καλλιέργειες εκκίνησης για ζύμωση του γάλακτος καμήλας.

Σε μια ακόμα έρευνα οι Idoui et al. (2009), μελέτησαν το παραδοσιακό βούτυρο (Dhan), που παρασκευάζεται από το πρόβειο γάλα και απομόνωσαν 26 οξυγαλακτικά βακτήρια, ανάμεσα τους και ο *L. plantarum*. Σκοπός ήταν να αξιολογηθούν οι ιδιότητες των βακτηρίων. Αρχικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα στελέχη *L. plantarum* SB16 και SB2 καθιστούν το αποβουτυρωμένο γάλα όξινο, σε αντίθεση με τα άλλα οξυγαλακτικά βακτήρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο *L. plantarum* και ο *L. curvatus*, που απομονώθηκαν από το βούτυρο Dhan, είναι οι ταχύτεροι παραγωγοί οξέων. Τέλος, η πρωτεολυτική δραστηριότητα των στελεχών *L. plantarum* SB16 και SB2 μετά από επώαση για 24 ώρες έδωσε ενδιάμεσες τιμές (6.0mm και 5.5mm αντίστοιχα), σε σύγκριση με τον *Lc. Lactis* SB11 (7.0mm).

### 3.2.3 ΤΥΠΙ

Η παρουσία του *L. plantarum* έχει αποδειχθεί σε πολλές ποικιλίες τυριών, χρησιμοποιώντας είτε παστεριωμένο γάλα, είτε κατσικίσιο, αγελαδινό ή πρόβειο γάλα, καθώς και σε προϊόντα γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση (Corsetti&Valmorri, 2011). Ο *L. plantarum* έχει απομονωθεί από διάφορα είδη τυριών όπως Pecorino Romano, τσένταρ, βελγικό μαλακό τυρί, Stilton και Gouda,

φέτα, τυρί μοτσαρέλα, πρόβεια τυριά, τυρί Manchego, Μαροκινό μαλακό λευκό τυρί (Jben) και Danbo τυριά (Todorov&Franco, 2010). Ο *L. plantarum* ανήκει στην ομάδα των μεσόφιλων γαλακτοβάκιλλων, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να παραμένουν ζωντανοί μετά την παστερίωση και εισάγονται στο γάλα ή στο τυρόπηγμα σε επίπεδα πληθυσμού που μπορεί να φτάσουν τα  $10^6$ – $10^8$ CFU/g, κατά την διάρκεια της ωρίμανσης. Ο πληθυσμός του *L. plantarum* είναι υψηλότερος στο πρώτο στάδιο ωρίμανσης του τυριού (1 εβδομάδα έως 3-4 μήνες) και μπορεί να φθάσει πάνω από  $10^7$ CFU/g. Στους 6-7 μήνες ο πληθυσμός μειώνεται στα  $10^4$ CFU/g καθώς κυριαρχούν στον μικροβιακό πληθυσμό και άλλα είδη του γένους *Lactobacillus* spp. Ο ρυθμός ανάπτυξης και ο αριθμός του πληθυσμού του, εξαρτώνται από το pH, το αλάτι, την υγρασία του τυροπήγματος και την θερμοκρασία ωρίμανσης (Corsetti&Valmorri, 2011).

Οι Zago et al. (2011) σε πείραμα που πραγματοποίησαν, απομόνωσαν 98 στελέχη *Lactobacillus plantarum* από ιταλικά και αργεντίνικα τυριά, τα οποία αξιολογήθηκαν για τις προβιοτικές τους ιδιότητες. Αρχικά, για να χρησιμοποιηθεί ένας μικροοργανισμός σε προβιοτικές καλλιέργειες πρέπει να επιβιώνει, πρώτα στο στόμα όπου το σάλιο περιέχει λυσοζύμη και ύστερα στο στομάχι που έχει pH1.5–3.0 και περιέχει χολικά άλατα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα στελέχη είχαν υψηλή αντίσταση σε 100mg/L λυσοζύμης και σε προσομοιωμένο γαστρικό υγρό με pH 2.5, η ανοχή στα χολικά άλατα ήταν μέτρια έως χαμηλή. Τα στελέχη Lp790, Lp797, Lp800, Lp803, Lp805 και Lp999 μπόρεσαν να επιβιώσουν καλύτερα στη δίοδο του στομάχου του δωδεκαδάκτυλου, σε pH 2.2 και 0,3%, επιβεβαιώνοντας έτσι την ικανότητα προσαρμογής τους. Επιπλέον, πολλά από τα στελέχη που εξετάστηκαν είχαν υψηλή δράση της β-γαλακτοσιδάσης, η οποία αποτελεί ένα σημαντικό χαρακτηριστικό για στελέχη που θεωρούνται προβιοτικά. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα στελέχη Lp790, Lp813 και Lp998 εμφάνισαν τα περισσότερα προβιοτικά χαρακτηριστικά.

Σε μία έρευνα που πραγματοποίησαν οι Belicova et al. (2013), απομόνωσαν από το σλοβακικό τυρί Bryndza, 125 γαλακτοβάκιλλους και εξετάστηκαν για την προβιοτική τους δράση. Από αυτά 20 στελέχη ταυτοποιήθηκαν ως *L. plantarum*. Αρχικά, σύμφωνα με τα αποτελέσματα όλα τα στελέχη είχαν δράση β-γαλακτοσιδάσης. Τα υψηλότερα επίπεδα β-γαλακτοσιδάσης είχαν τα στελέχη LM11, ZS07, CK06, B01 και ZS11, ενώ το χαμηλότερο είχε το στέλεχος K2. Η δράση της β-γαλακτοσιδάσης είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό για τα προβιοτικά

στελέχη. Επιπλέον, η ικανότητα των στελεχών να έχουν καλή ανοχή σε χολικά άλατα είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για τα προβιοτικά βακτήρια. Στην συγκεκριμένη μελέτη, φαίνεται πως τα στελέχη K10, K21 και ZS07 παρουσίασαν ανάπτυξη πάνω από 50% παρουσία 0,3%. Ακόμα, τα στελέχη K09, K21, ZS11 και ZS15 έδειξαν ευαισθησία σε όλα τα ελεγμένα αντιβιοτικά. Τελικά, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα στελέχη ZS07 και K21 του *L. plantarum* ήταν τα καταλληλότερα για προβιοτική χρήση.

Σε ένα ακόμα πείραμα, οι Xanthopoulos et al. (2001), απομόνωσαν από το τυρί φέτα, κατά την ωρίμανσή του, 32 στελέχη *L. plantarum* και τα οποία τελικά μελέτησαν για τα χαρακτηριστικά τους. Αρχικά, μελετήθηκε η πρωτεολυτική δράση των στελεχών *L. plantarum*, όπου παρατηρήθηκε διαφορετική ικανότητα διάσπασης της καζεΐνης, για τα 32 διαφορετικά στελέχη. Δύο στελέχη από τυρί 30 ημερών, είχαν υψηλή πρωτεολυτική δράση ( $>300 \mu\text{g γλυκερίνης/mL}$ ), 18 στελέχη είχαν χαμηλή πρωτεολυτική δράση ( $100 \mu\text{g γλυκερίνης/mL}$ ), ενώ 7 στελέχη δεν εμφάνισαν πρωτεολυτική δράση μετά από επώαση 3 ημερών, στους  $30^\circ\text{C}$ . Στην συνέχεια, μελετήθηκε η οξινιστική δράση των στελεχών, δηλαδή η ταχύτητα με την οποία τα στελέχη μειώνουν το pH. Παρατηρήθηκαν δύο ομάδες, στην πρώτη, τα στελέχη έδειξαν αργό ρυθμό οξίνισης, καθώς μετά από 6 ώρες επώασης υπήρχε διαφορά στο pH μόλις 0,06 μονάδες. Στην δεύτερη ομάδα, τα στελέχη είχαν μέτριο ρυθμό οξίνισης καθώς στις 6 ώρες επώασης η διαφορά στο pH ήταν μεταξύ 0,08 και 0,19 μονάδες. Τέλος, η ανάπτυξη των στελεχών παρουσία χολικών αλάτων έως και 1%, ήταν ίδια για όλα τα στελέχη. Επίσης, όλα τα στελέχη αναπτύχθηκαν σε pH 4.0 και 5.0, και 19 από τα 32 στελέχη σε pH 3.0.

Οι Jabbari et al. (2017), χρησιμοποίησαν για την έρευνά τους το τυρί Kouzeh (παραδοσιακό τυρί από το Ιράν) και από το οποίο απομόνωσαν 11 στελέχη *L. plantarum* και μελέτησαν τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Τα στελέχη *L. plantarum* φάνηκε να έχουν ανασταλτική δράση έναντι των παθογόνων *S. aureus* ATCC25923, *S. epidermidis* ATCC12228, *S. typhi* ATCC19430 και *E. coli* ATCC25922. Για την ανάλυση της αντιμικροβιακής δράσης των στελεχών εφαρμόστηκε η μέθοδος της διάχυσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως όλα τα στελέχη ήταν ανταγωνιστικά έναντι των τριών πρώτων παθογόνων. Ενώ, κάποια στελέχη *L. plantarum* δεν έδειξαν ανταγωνιστική δράση έναντι του *E. coli*.



**Εικόνα 5.** Απεικόνιση τυριού πεκορίνο

Το όνομα Πεκορίνο αποδίδεται συνήθως σε ιταλικά τυριά που παρασκευάζονται αποκλειστικά από αγνό πρόβειο γάλα και στις περισσότερες περιπτώσεις είναι ΠΟΠ (Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης). Γενικά, αυτός ο τύπος τυριού παράγεται στη μέση και νότια Ιταλία με μια παραδοσιακή διαδικασία, που χαρακτηρίζεται από διαφορετικό χρόνο ωρίμανσης που κυμαίνεται μεταξύ 8 και 12 μηνών. Τα πιο δημοφιλή τυριά Πεκορίνο, όπως το Pecorino Romano, το Fiore Sardo, το Canestrato Pugliese, το Pecorino Abruzzese, παρασκευάζονται συνήθως από ωμό ή παστεριωμένο γάλα που είναι εμβολιασμένο με φυσικές καλλιέργειες. Οι φυσικές καλλιέργειες αποτελούνται κυρίως από γαλακτικά βακτήρια (LAB), όπως *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* και *Lactobacillus helveticus* (Schirone et al., 2012).

Από έρευνα που διεξήχθη απομονώθηκαν εξήντα τρία στελέχη LAB από τυρί Πεκορίνο, τα οποία επέζησαν στην προσομοίωση της πέψης. Το 85% των στελεχών ανήκαν στην ομάδα *L. plantarum*. Τα υπόλοιπα στελέχη ανήκαν στα *Enterococcus hirae*, *Enterococcus durans* και *L. casei*. Σε δείγματα τυριού, παρατηρήθηκε ύπαρξη του *L. plantarum* στο φρέσκο προϊόν (10 και 30 ημέρες μετά την άλμη) και του *L. casei* αργότερα (3 μήνες και ένας χρόνος ωρίμανσης). Άλλες αναφορές για τυριά από πρόβειο γάλα βρήκαν επίσης, τον *L. plantarum* και τον *L. casei* ως κυρίαρχα (Ricciardi et al, 2014).



**Εικόνα 6.** Απεικόνιση τυριού Μοτσαρέλα

Ο *L. plantarum* είναι το κύριο στέλεχος που εμπλέκεται στην παραγωγή τυριού μοτσαρέλα. Στελέχη που απομονώνονται από το «Fior di Latte», ένα αγελαδινό τυρί μοτσαρέλα υψηλής υγρασίας, το οποίο παραδοσιακά παρασκευάζεται στη Νότια Ιταλία, παρουσίασαν μεγάλη βιοποικιλότητα σε επίπεδο είδους, που περιλάμβανε μεσόφιλα (*L. plantarum* και/ή *L. casei* subsp.*casei*) και θερμόφιλα (*L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp.*lactis*, *L. delbrueckii* subsp.*bulgaricus* και *L. fermentum*), στρεπτόκοκκους (*S. thermophilus*) και εντερόκοκκους (*E.sdurans*, *E.faecium*, *E.sfaecalis*) (Todorov & Franco, 2010).

#### 3.2.4 ΚΕΦΙΡ

Το κεφίρ είναι ένα ρόφημα γάλακτος, το οποίο έχει ζυμωθεί και παράγεται από τη δράση βακτηρίων και ζυμομυκήτων που υπάρχουν στους κόκκους κεφίρ. Το κεφίρ χαρακτηρίζεται ως ένα φυσικό προβιοτικό εξαιτίας των μικροοργανισμών και των συστατικών του, τα οποία ύστερα από μελέτες έχουν δείξει ότι έχουν αντιμικροβιακή, αντικαρκινική και ανοσοτροποποιητική δράση (Leite et al., 2013).

Σε έρευνα που έγινε από τους Huang et al., (2013) απομονώθηκε από κόκκους Θιβετιανού κεφίρ το στέλεχος *L.plantarum* Lp27με σκοπό την αναγνώριση των προβιοτικών ιδιοτήτων του και κυρίως στην μείωση της χοληστερόλης. Τα αποτελέσματα της έρευνας, όσον αφορά την αντοχή του στελέχους σε οξύ, έδειξαν ότι σε pH 7.0 και 3.0 αυξήθηκε η βιωσιμότητά του, ενώ σε pH 2.0 και 1.0 δεν επιβίωσε για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η αντοχή του στελέχους σε χολικά άλατα ήταν αρκετά καλή σε 0,3% oxgall που θεωρείται η βέλτιστη συγκέντρωση χολής. Επιπλέον, ο *L. plantarum* Lp27 μείωσε αποτελεσματικά τα επίπεδα χοληστερόλης *in vitro* και *in vivo* στις δοκιμές που έγιναν σε αρουραίους.

Σε άλλη έρευνα που διεξήχθη από τους Kakisu et al. (2013) απομονώθηκε από τους κόκκους κεφίρ το στέλεχος *L.plantarum* CIDCA83114 με σκοπό να μελετηθεί η δράση του έναντι ειδών *Shigella* που προκαλούν ασθένειες. Από τα αποτελέσματα της έρευνας, φάνηκε πως το στέλεχος *L. plantarum* CIDCA 83114 εκδήλωσε ισχυρή αντιμικροβιακή δράση κατά της *Shigella*. Τόσο τα κυτταρικά τοιχώματα του στελέχους, όσο και τα βακτηριακά κύτταρα προστάτευσαν στον ίδιο βαθμό τις κυτταρικές μονοστιβάδες, με την πιθανότητα μιας πρωτεΐνης ή ενός πεπτιδίου να συμμετέχει σε αυτό.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το είδος *L. plantarum* χρησιμοποιείται σε πληθώρα εφαρμογών στη βιομηχανία τροφίμων. Έχει απομονωθεί από διαφορετικά υποστρώματα τροφίμων όπως κρέας, ψάρι, φρούτα, λαχανικά, γάλα και προϊόντα δημητριακών και χρησιμοποιείται ως καλλιέργεια εκκίνησης σε διάφορες διαδικασίες ζύμωσης τροφίμων, συμβάλλοντας αισθητά στην ανάπτυξη ξεχωριστών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Επιπλέον, ο *L. plantarum* είναι σε θέση να παράγει αντιμικροβιακές ενώσεις, συμβάλλοντας στην ασφάλεια του τελικού προϊόντος και στην επέκταση του χρόνου διάρκειας ζωής τους. Αναφορικά με τα γαλακτοκομικά προϊόντα, φαίνεται ότι το συγκεκριμένο είδος βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων, σε πλήθος προϊόντων όπως το γιαούρτι, το κεφίρ, διάφορα είδη τυριού, το παγωτό και το βούτυρο. Επιπλέον, σε πολλές από τις έρευνες που προαναφέρθηκαν φαίνεται πως υπάρχουν διάφορα στελέχη του είδους που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με σκοπό στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων με προβιοτικές ιδιότητες. Από την άλλη παρατηρήθηκε σε πολλές έρευνες όπου προστέθηκε κάποιο στέλεχος του είδους να υποβαθμίζει την γεύση, την υφή, το χρώμα ή κάποιο άλλο οργανοληπτικό χαρακτηριστικό του τροφίμου, με αποτέλεσμα ο καταναλωτής συχνά δεν το επιλέγει παρόλα τα πλεονεκτήματα που προσφέρει ο *L. plantarum* στην υγεία. Περαιτέρω μελέτες θα πρέπει να διερευνήσουν και να επεκτείνουν τη γνώση σχετικά με την ανάπτυξη γαλακτοκομικών προϊόντων με προβιοτικά βακτηριακά στελέχη, ενώ τα αποτελέσματα είναι σημαντικό να επιβεβαιωθούν και από κλινικές μελέτες.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ξενόγλωσση

- Abdelazez A., Heba A., ZhuZ.-T., Fang-Fang J., Sami R., Zhang L. J., Abdel Rahman Mohammad Al Tawaha, Meng X.-C. (2018), Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review, DOI: 10.22587/aeb.2018.12.1.4
- Antonsson, M., Molin, G., &Ardö, Y. (2003). *Lactobacillus* strains isolated from Danbo cheese as adjunct cultures in a cheese model system. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 159-169. doi:10.1016/s0168-1605(02)00536-6
- Behare, P., Kumar H. &Mandal S. (2016). *Encyclopedia of Food and Health || Yogurt: Yogurt Based Products.*, 625–631., doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00767-4
- Belicová, A., Mikulášová, M., &Dušínský, R. (2013). Probiotic potential and safety properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak Bryndza cheese. *BioMed research international*, 2013.
- Bosch M., Rodriguez M., Garcia F., Fernandez E., M.C. Fuentes, Cune J. (2011) Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* CECT 7315 and CECT 7316 isolated from faeces of healthy children. *Letters in applied Microbiology*/Volume 54, Issue 3/ p. 240-246 <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03199.x>
- Cannon, J. P., Lee, T. A., Bolanos, J. T., & Danziger, L. H. (2005). Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24, 31-40.J. P.
- Cebeci, A., &Gürakan, C. (2003). Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food microbiology*, 20(5), 511-518.AysunCebeci and CandanGurakan (2003) Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology* 20 (2003) 511-518 doi:10.1016/S0740-0020(02)00174-0
- Cencic A. &Chingwaru W. (2010). The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. *Nutrients*, 2(6), 611–625. doi:10.3390/nu2060611
- Changkun Li, Jihong S, Lai-yu K., Jicheng W., Yan D.,HaijingYu,Qiangchuan Hou, Heping Z., Yongfu Chen (2017). Influence of *Lactobacillus plantarum* on

- yogurt fermentation properties and subsequent changes during postfermentation storage. J. Dairy Sci. 100:2512-2525.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11864>
- Chávarri, M., Marañón, I., & Villarán, M. C. (2012). Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. In Probiotics. IntechOpen. DOI: 10.5772/50046
- Corsetti A. & M. Gobbetti (2011). *Encyclopedia of Dairy Sciences || Lactic Acid Bacteria | Lactobacillus spp.: Lactobacillus plantarum.*, 111–118.  
doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00263-6
- Dan T., Chen H., Li T., Tian J., Ren W., Zhang H., και Sun T. (2019). Influence of *Lactobacillus plantarum* P-8 on fermented milk flavor and storage stability. Front. Microbiol. 9:3133, doi: 10.3389/fmicd.2018.03133
- Day R., Harper A., Woods R., Davies O., Heaney L. (2019). Probiotics: current landscape and future horizons. Future Science OA, 5(4), FSO391–. doi:10.4155/fsoa-2019-0004
- Devi SM and Halami PM (2019) Genetic variation of pln loci among probiotic *Lactobacillus plantarum* group strains with antioxidant and cholesterol-lowering ability. Probiotics Antimicrob. Proteins, 11: 11–22.
- Di Criscio, T. Fratianni, A., Mignogna, R., Cinquanta, L., Coppola, R., Sorrentino, E., & Panfili, G. (2010). Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. Journal of Dairy Science, 93(10), 4555– 4564.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3355>
- Diep, D. B., Johnsborg, O., Risøen, P. A., & Nes, I. F. (2001). Evidence for dual functionality of the operon plnABCD in the regulation of bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum*. Molecular microbiology, 41(3), 633-644. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02533.x>
- El Hage R., Hernandez-Sanabria E. Van de Wiele T. (2017). Emerging Trends in “Smart Probiotics”: Functional Consideration for the Development of Novel Health and Industrial Applications. Frontiers in Microbiology, 8, 1889–. doi:10.3389/fmicb.2017.01889
- Goff, H. D., & Hartel, R. W. (2013). Ice cream. Springer Science & Business Media.
- Hammam, A. R., & Ahmed, M. S. (2019). Technological aspects, health benefits, and sensory properties of probiotic cheese. SN Applied Sciences, 1, 1-9.

- Hegab O., Abdel-Latif E., Zaki H. & Moawad A. (2021). Fundamental role of *Lactobacillus plantarum* and inulin in improving safety and quality of Karish cheese, 11(3): 356–363., doi: 10.5455/OVJ.2021.v11.i3.43
- Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G., Merenstein D., Pot B., Morelli L., Canani R. B., Flint H., Salminen S., Calder P., Sanders M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514. doi:10.1038/nrgastro.2014.66
- Hoda S. EL-Sayed, Heba H. Salama καί Samah M. EL-Sayed (2014-2015). Production of Synbiotic Ice Cream. *International Journal of ChemTech Research*, pp 138-147.
- Huang Y., Wu F., Wang X., Sui Y., Yang L., Wang J. (2013) Characterization of *Lactobacillus plantarum* Lp27 isolated from Tibetan kefir grains: A potential bacterium with cholesterol – lowering effects. *J. Dairy Sci.* 96:2816-2825 <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6371>
- Ibrahim I.N., Kamaruding N.A., Ismail N. & Shaharuddin S. (2022). Value addition to ice cream by fortification with okara and probiotic. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, e16253. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16253>
- Jabbari, V., Khiabani, M. S., Mokarram, R. R., Hassanzadeh, A. M., Ahmadi, E., Gharenaghadeh, S., ... & Kafil, H. S. (2017). *Lactobacillus plantarum* as a probiotic potential from kouzeh cheese (traditional Iranian cheese) and its antimicrobial activity. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9, 189-193. DOI 10.1007/s12602-017-9255-0
- Jiang, M., Zhang, F., Wan, C., Xiong, Y., Shah, N. P., Wei, H., & Tao, X. (2016). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* WLPL04 isolated from human breast milk. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 1736-1746.
- Kakisu E., Bolla P., Abraham A., Urreza P., Antoni G. (2013) *Lactobacillus plantarum* isolated from kefir: Protection of cultured Hep-2 cells against *Shigella* invasion. *International Dairy Journal* 33 22-26. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.06.004>
- Kingamkono R., Sjogren E., Svanberg U. (1999) Enteropathogenic bacteria in faecal swabs of young children fed on lactic acid-fermented cereal gruels. *Epidemiol. Infect* (1999), 122, 23-32. <https://doi.org/10.1017/S0950268898001800>

- Lee, N. K., Kim, S. Y., Han, K. J., Eom, S. J., & Paik, H. D. (2014). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with anti-allergic effects from kimchi for yogurt starters. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1), 130-134. N-K. Lee, S-Y. Kim, K. Jun Han, S. Jim Eom, H-D. Paik (2014). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with anti-allergic effects from kimchi for yogurt starters. *LWT – Food Science and Technology* 58 (2014) 130-134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.028>
- Leite A., Miguel M., Peixoto R., Rosado A., Silva J., Paschoalin V. (2013) Macrobiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology* 44, 2, 341-349 (2013). ISSN 1678-4405
- Liu, S. Q. (2002). Malolactic fermentation in wine—beyond deacidification. *Journal of applied microbiology*, 92(4), 589-601. S.-Q. Liu (2002) Malolactic fermentation in wine – beyond deacidification. *Journal of Applied Microbiology* <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01589.x>
- Lynch, C. M., Muir, D. D., Banks, J. M., McSweeney, P. L. H., & Fox, P. F. (1999). Influence of adjunct cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus plantarum* on Cheddar cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 82(8), 1618-1628. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75390-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75390-7)
- Maaik de Vries, Vaughan E., Kleerebezem M., Willem M. de Vos (2006). *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract, 16(9), 0–1028. doi:10.1016/j.idairyj.2005.09.003
- Manojlović, V., Nedović, V. A., Kailasapathy, K., & Zuidam, N. J. (2010). Encapsulation of probiotics for use in food products. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 269-302). Springer, New York, NY.
- Matejčeková, Z., Liptáková, D., Spodniaková, S., & Valík, Ľ. (2016). Characterization of the growth of in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca*, 9(2), 104-108. Matejcekova Z. et al., (2016). Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca*, Vol. 9, No. 2, 2016, pp. 104-108, DOI: 10.1515/acs-2016-0018

- Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., Guigas, C., Franz, C., & Holzapfel, W. H. (2008). Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Maasai traditional fermented milk products in Kenya. *Current Microbiology*, 56, 315-321. DOI 10.1007/s00284-007-9084-6
- Maurad K., Meriem K. (2008) Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains from traditional butter made from camel milk in arid regions (Sahara) of Algeria. Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences, DOI:10.3989/gya.2008.v59.i3.511
- Kumar, A. M., & Murugalatha, N. (2012). Isolation of *Lactobacillus plantarum* from cow milk and screening for the presence of sugar alcohol producing gene. *J Microbiol Antimicrob*, 4(1), 16-22. doi:10.5897/jma11.083
- Murua, A.; Todorov, S.D.; Vieira, A.D.S.; Martinez, R.C.R.; Cencič, A.; Franco, B.D.G.M. (2013). Isolation and identification of bacteriocinogenic strain of *Lactobacillus plantarum* with potential beneficial properties from donkey milk. *Journal of Applied Microbiology*, 114(6), 1793–1809. doi:10.1111/jam.12190
- Naruszewicz M., Johansson M., Zapolska-Downar D., Bukowska H. (2002) Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. *Am J Clin Nutr* 76:1249-55 <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.6.1249>
- Oelshlaeger T.A. (2010). Mechanisms of probiotic actions – A review. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010;300:57-62.
- Öztürk, H. İ., Demirci, T., & Ak, N. (2018). Production of functional probiotic ice creams with white and dark blue fruits of *Myrtus communis*: The comparison of the prebiotic potentials on *Lactobacillus casei* 431 and functional characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 90(43), 339– 345. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.049>
- Papadopoulou, O. S., Argyri, A. A., Varzakis, E. E., Tassou, C. C., & Chorianopoulos, N. G. (2018). Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. *Food Microbiology*, 74, 21-33. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.005>
- Patel R. & DuPont H. L. (2015). New Approaches for Bacteriotherapy: Prebiotics, New-Generation Probiotics, and Synbiotics. *Clinical Infectious Diseases*, 60(suppl 2), S108–S121. doi:10.1093/cid/civ177

- Popović, N., Brdarić, E., Đokić, J., Dinić, M., Veljović, K., Golić, N., & Terzić-Vidojević, A. (2020). Yogurt produced by novel natural starter cultures improves gut epithelial barrier in vitro. *Microorganisms*, 8(10), 1586. doi:10.3390/microorganisms8101586
- Ricciardi, A., Blaiotta, G., Di Cerbo, A., Succi, M., & Aponte, M. (2014). Behaviour of lactic acid bacteria populations in Pecorino di Carmasciano cheese samples submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract: evaluation by means of a polyphasic approach. *International Journal of Food Microbiology*, 179, 64-71. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.03.014
- Sabet-Sarvestni N., Eskandari MH, Hosseini SMH, Niakousari M., Ihashemi Gahrue H., Khalesi M. (2021) Production of synbiotic ice cream using *Lactobacillus casei*/*Lactobacillus plantarum* and fructooligosaccharides. *J Food Process Preserv.* 45:e15423. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15423>
- Sanders M. E. How do we know when something called “probiotic” is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. *Functional Food Rev.* 1, 3–12 (2009).
- Schirone M., Tofalo R., Visciano P., Corsetti A. Suzzi Giovanna (2012). Biogenic Amines in Italian Pecorino Cheese. *Frontiers in Microbiology*, 3, –. doi:10.3389/fmicb.2012.00171
- Seddik H. A., Bendali F., Frédérique G., Fliss I., Spano G., Drider D. (2017). *Lactobacillus plantarum* and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(2), 111–122. doi:10.1007/s12602-017-9264-z
- Shafiei Y. (2018). Role of Materials Science in Food Bioengineering || Probiotic and Synbiotic Yogurt Production Using Free or Alginate/Resistant Starch Microencapsulated *Lactobacillus plantarum*. 301–328. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811448-3.00009-7>
- Siti, R. O., & Siti, N. O. (2018). Effect of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* on the rheological and sensorial properties of synbiotic ice cream. *Annals Food Science and Technology*, 19(3), 506-514. <https://doi.org/10.24941/ijcr.32999.11.2018>
- Soumitra N, Jibalok S., Monisa R. και Bibhas D. (2020) In vitro screening of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented milk product. *Food Quality and Safety*, 2020, 4, 213-223. Doi: 10.1093/fqsafe/fyaa026

- Suzzi G. & Corsetti A. (2020). Food Microbiology: The Past and the New Challenges for the Next 10 Years. *Frontiers in Microbiology*, 11, 237–. doi:10.3389/fmicb.2020.00237
- Syaputri, Y., & Iwahashi, H. (2020). Characteristics of heterologous plantaricin from *Lactobacillus plantarum* and its future in food preservation. *Reviews in Agricultural Science*, 8, 124-137. Yolani Syaputri and Hitoshi Iwahashi (2020) Characteristics of Heterologous Plantaricin from *Lactobacillus plantarum* and its future in Food Preservation. *Reviews in Agricultural Science*. [https://doi.org/10.7831/ras.8.0\\_124](https://doi.org/10.7831/ras.8.0_124)
- Idoui, J. Boudjerda, E. Leghouchi and N. E. Karam (2009). Lactic acid bacteria from “Sheep’s Dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: Isolation, identification and major technological traits. DOI: 10.3989/gya.085408
- Todorov S. (2008) Bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* AMA-K isolated from Amasi, a Zimbabwean fermented milk product and study of the adsorption of bacteriocin AMA-K TO *Listeria* sp., *Braz J Microbiol.*, 39(1): 178–187
- Todorov, S. D., & Franco, B. D. G. D. M. (2010). *Lactobacillus plantarum*: Characterization of the species and application in food production. *Food Reviews International*, 26(3), 205-229. doi:10.1080/87559129.2010.484113
- Tur J. & Bibiloni M. (2016). *Encyclopedia of Food and Health || Functional Foods.*, 157–161. doi:10.106/b978-0-12-384947-2.00340-8
- Xanthopoulos, V., Hatzikamari, M., Adamidis, T., Tsakalidou, E., Tzanetakis, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2000). Heterogeneity of *Lactobacillus plantarum* isolates from Feta cheese throughout ripening. *Journal of Applied Microbiology*, 88(6), 1056-1064. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01056.x>
- Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., ... & Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033-1040. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009>
- Zhang S. S., Z. S. Xu, L. H. Qin και J. Kong (2020). Low sugar yogurt making by the co-cultivation of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 with yogurt starter cultures. *J. Dairy Sci.* 103:3045-3054. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17347>

Zhang, J., Zhao, W., Guo, X., Guo, T., Zheng, Y., Wang, Y., ... & Yang, Z. (2017). Survival and effect of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* YW11 on the physicochemical properties of ice cream. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(3). DOI: 10.1515/pjfn-2017-0002

Zhao X., Liang Q., Academic Editors: Hilton D., Phil K. και Celia C.G. Silva (2022). EPS-Producing *Lactobacillus plantarum* MC5 as a Compound Starter Improves Rheology, Texture, and Antioxidant Activity of Yogurt during Storage. *Foods* (2022), 11, 1660. <https://doi.org/10.3390/foods11111660>

#### Ελληνόγλωσση

(ΕΚ 1924/2006), [https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-8-2017-004201\\_EN.html](https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-8-2017-004201_EN.html)

Κουτελιδάκης Ε. (2019), Λειτουργικά Τρόφιμα, Η σημασία τους στη διατροφή, την υγεία και την ποιότητα ζωής, Θεσσαλονίκη, 2η έκδοση, εκδόσεις ΖΗΤΗ

#### Ιστοσελίδες

Εικόνα 1 <https://www.testpap.com/provioletika-ti-einai-kai-pos-na-dialexo-ta-katallilagia-emenai/>

Εικόνα 2 <https://onourheals.com/how-to-make-sauerkraut/>

Εικόνα 3 <https://www.matthewclark.co.uk/latest-news-blog/blog/what-is-malolactic-fermentation/>

Εικόνα 4 <https://what-when-how.com/food/dairy-foods/>

Εικόνα 5 <https://news.italianfood.net/2022/01/18/pecorino-romano-pdos-new-product-specification-unveiled/>

Εικόνα 6 <https://yourcookingpartner.wordpress.com/2017/01/01/mozzarella-%CE%B1%CF%82-%CF%83%CF%85%CF%83%CF%84%CE%B7%CE%B8%CE%BF%CF%8D%CE%BC%CE%B5/>