

# «Σχεδιασμός και ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων με καλλιέργειες αγρίου τύπου»



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΡΑΚΗΣ

DEMOCRITUS  
UNIVERSITY  
OF THRACE

Πράπα Ιωάννα, Μοριακή Βιολόγος & Γενετίστρια, PhD  
Διδάσκουσα στα πλαίσια του προγράμματος «Απόκτηση ακαδημαϊκής εμπειρίας σε νέους επιστήμονες κατόχους διδακτορικού»

[iprapa@mbg.duth.gr](mailto:iprapa@mbg.duth.gr)  
[ioannaprap@gmail.com](mailto:ioannaprap@gmail.com)

17 Ιανουαρίου 2025

Διάλεξη στα πλαίσια του ΠΜΣ "ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ"  
ΧΕΙΜ. ΕΞΑΜ WEEK 5



# Προβιοτικά



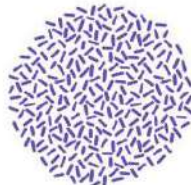
## PROBIOTICS



LACTOBACILLUS



LACTOCOCCUS



PROPIONIBACTERIUM



STREPTOCOCCUS  
THERMOPHILUS



BIFIDOBACTERIUM



BULGARICUS

## Definition

According to the widely recognized [FAO/WHO definition \(2001\)](#), revised by Hill et al. (2014), probiotics are defined as “Live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host”.

When combined with the specifications outlined by the FAO/WHO Working Group for the Evaluation of Probiotics in Food (2002), the key aspects of this definition include:

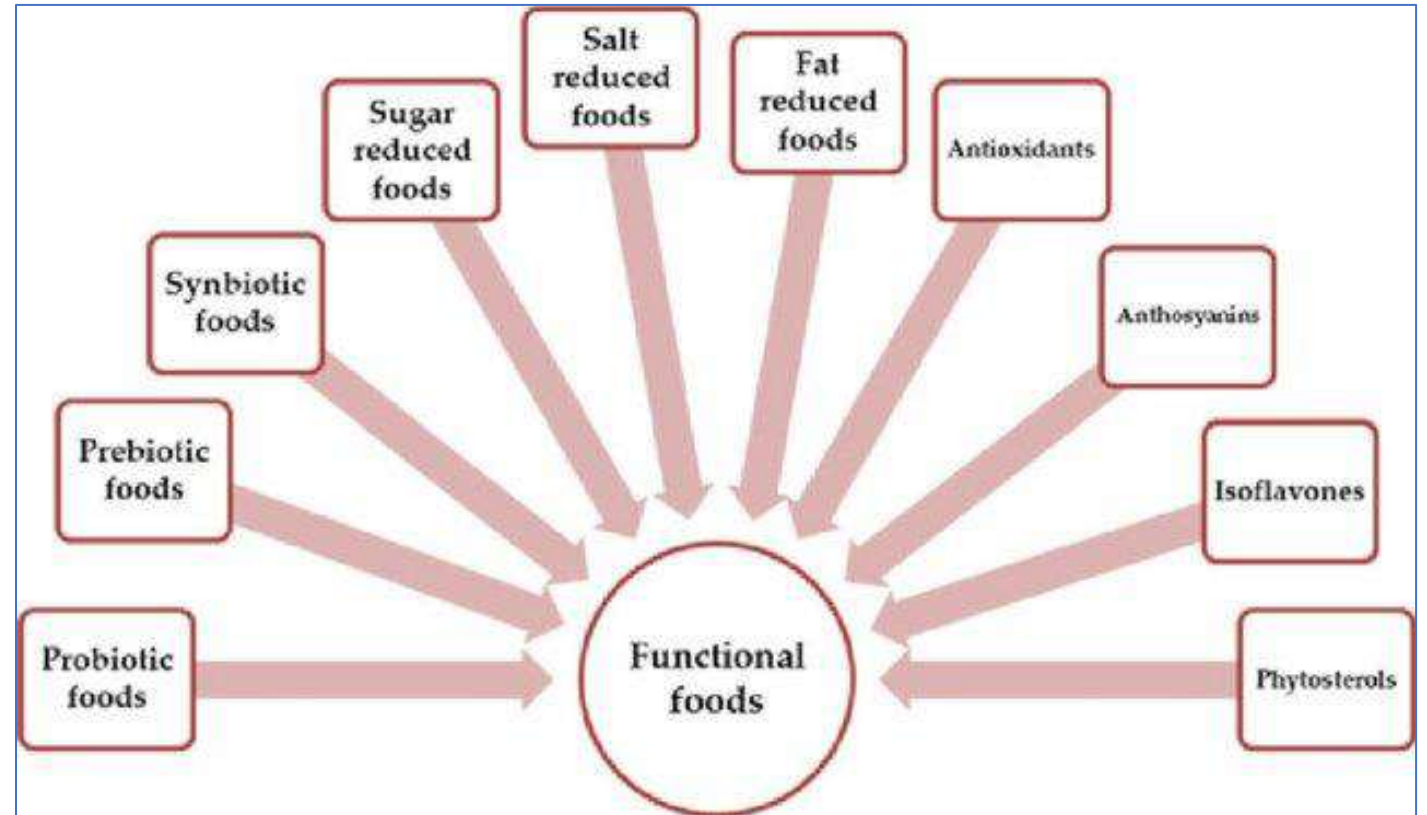
- A probiotic must be alive when administered
- A probiotic must be scientifically substantiated in regards to its health benefit in the target host
- A probiotic must be a taxonomically defined microorganism or combination of microorganisms (genus, species and strain level)
- A probiotic must be safe for its intended use

While slight changes occur in scientific papers according to the aims of the authors, the most recent and accepted definition states that probiotic microorganisms are “living microorganisms, which upon ingestion in adequate amounts exert health benefits beyond inherent general nutrition” (From FAO working group 2002).

# Λειτουργικά τρόφιμα

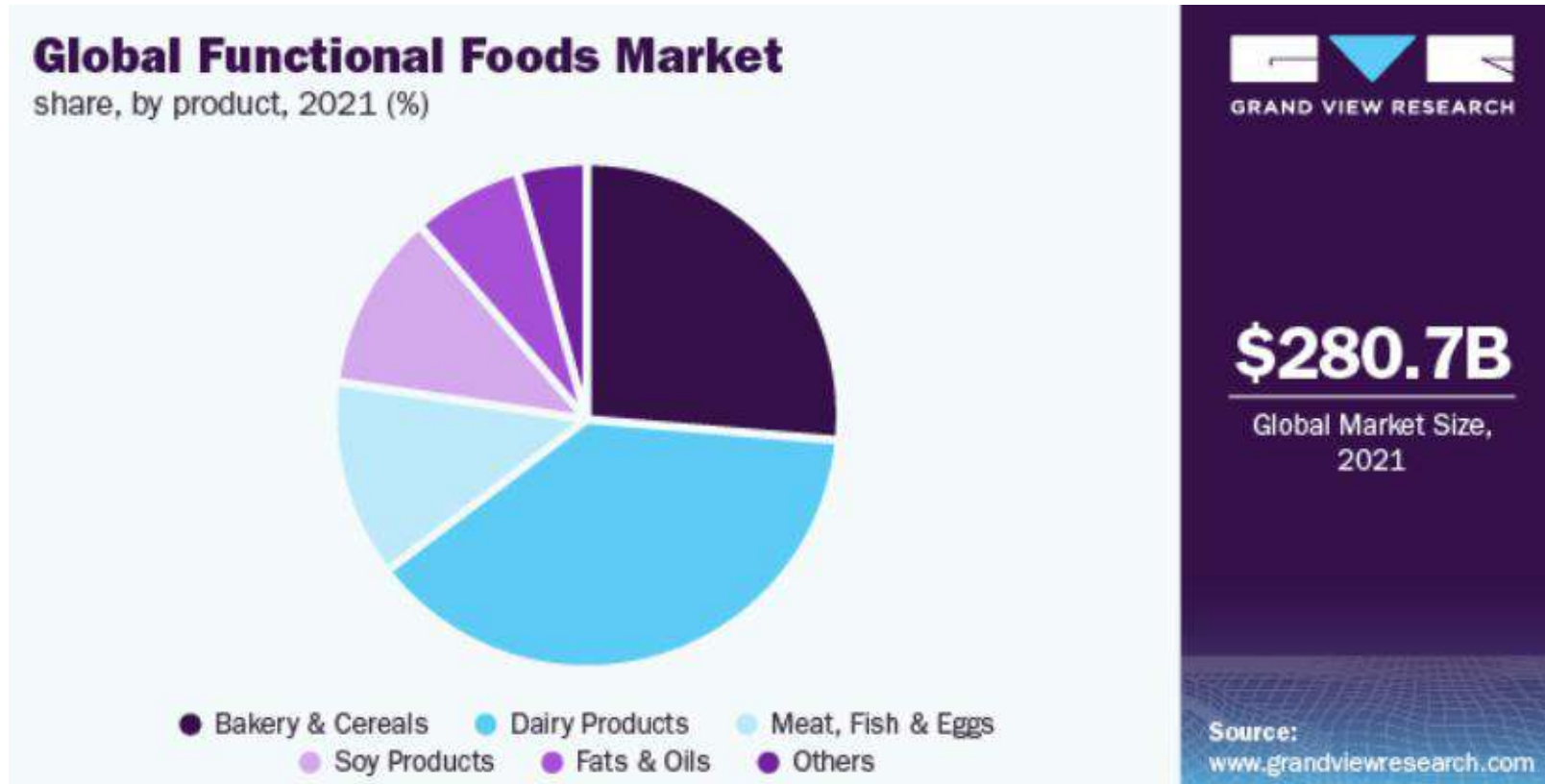
Τρόφιμα τα οποία, πέραν της επαρκούς διατροφικής αξίας, παρέχουν ευεργετική επίδραση στις πολλαπλές λειτουργίες του σώματος με τρόπο που σχετίζεται είτε με βελτιωμένη κατάσταση της υγείας και της ευεξίας είτε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης ασθένειας

- *European Food Safety Association, EFSA*



Zahoor & Allai, 2020; DOI: [10.1007/978-981-15-4716-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4716-4_9)

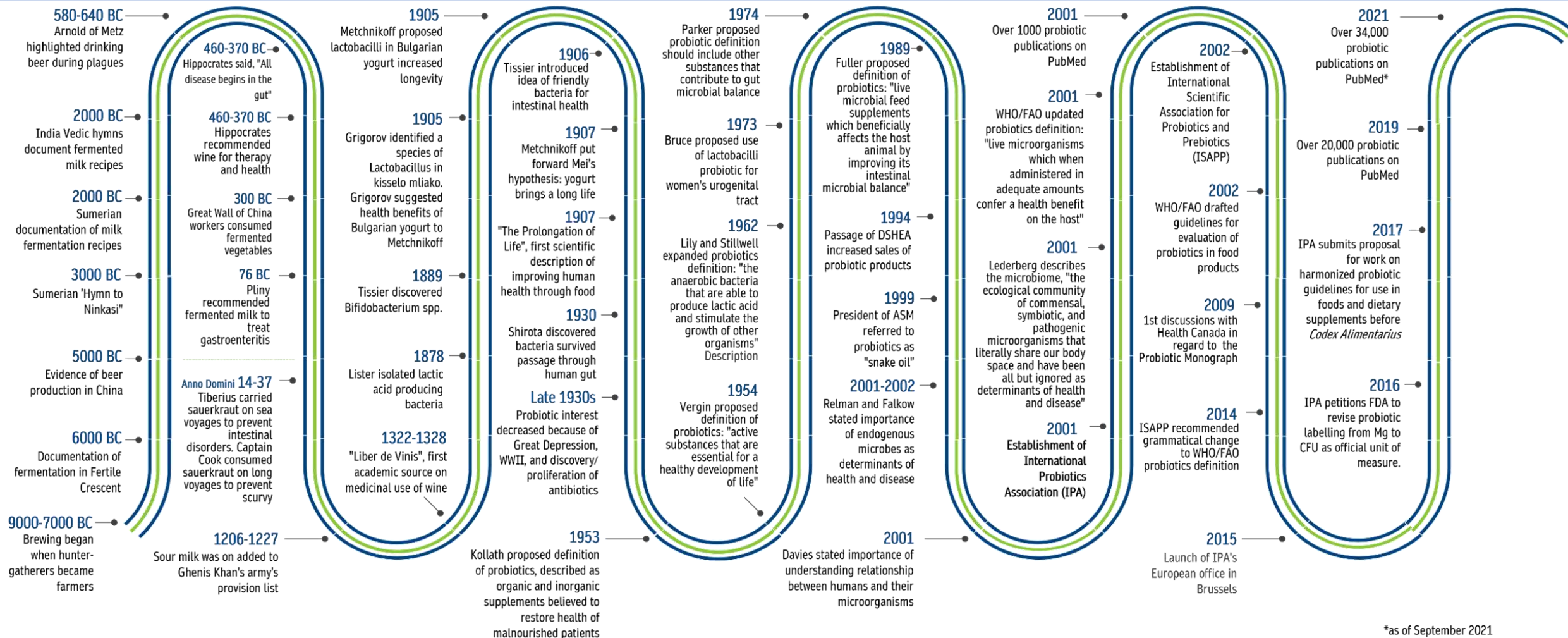
# Λειτουργικά τρόφιμα



<https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-functional-foods-market>

- ✓ 280.7 δισεκατομμύρια \$ (2021)
- ✓ 586.1 δισεκατομμύρια \$ έως το 2030
- ✓ ετήσιος ρυθμός ανάπτυξης 8.5%

# Προβιοτικά-ιστορική αναδρομή



\*as of September 2021

# Προβιοτικά-Labeling



## 5 ESSENTIALS FOR A QUALITY PROBIOTIC LABEL

The Global Voice of Probiotics®



### 1. DOSAGE

It is important to follow dosage instructions as directed on the probiotic label. If a claim pertaining to individual strains or blend of strains contained in the product is made, the manufacturer should maintain evidence that the amount provided is consistent with the scientific evidence.

### 2. QUANTITY

Colony Forming Unit (CFU) is the scientifically accepted unit of measure for labeling the number of live probiotics in a product. Products should declare the total count of the blend (single & multi-strain) in CFUs. You may also see milligrams (mg) for the probiotic ingredient which doesn't correspond to the activity of the formula.



### 3. STRAIN SPECIFICITY

Probiotics have different characteristics, qualities and actions that are unique to the specific strain or combinations. The label should identify the genus, species and strain for each microorganism in the product. I.e. *Lactobacillus acidophilus* IPA001 Individual dietary ingredients within a proprietary blend should be listed in descending order by CFUs<sup>1</sup>.

### 4. EXPIRATION DATE

The expiration date should indicate how long the probiotic product will contain the claimed levels of bacteria (CFU) when stored as directed. This is different than the date of manufacture which refers to the date the product was produced. Products should contain 100% of the quantity of probiotics declared on the label at end of shelf life and not at time of manufacture.



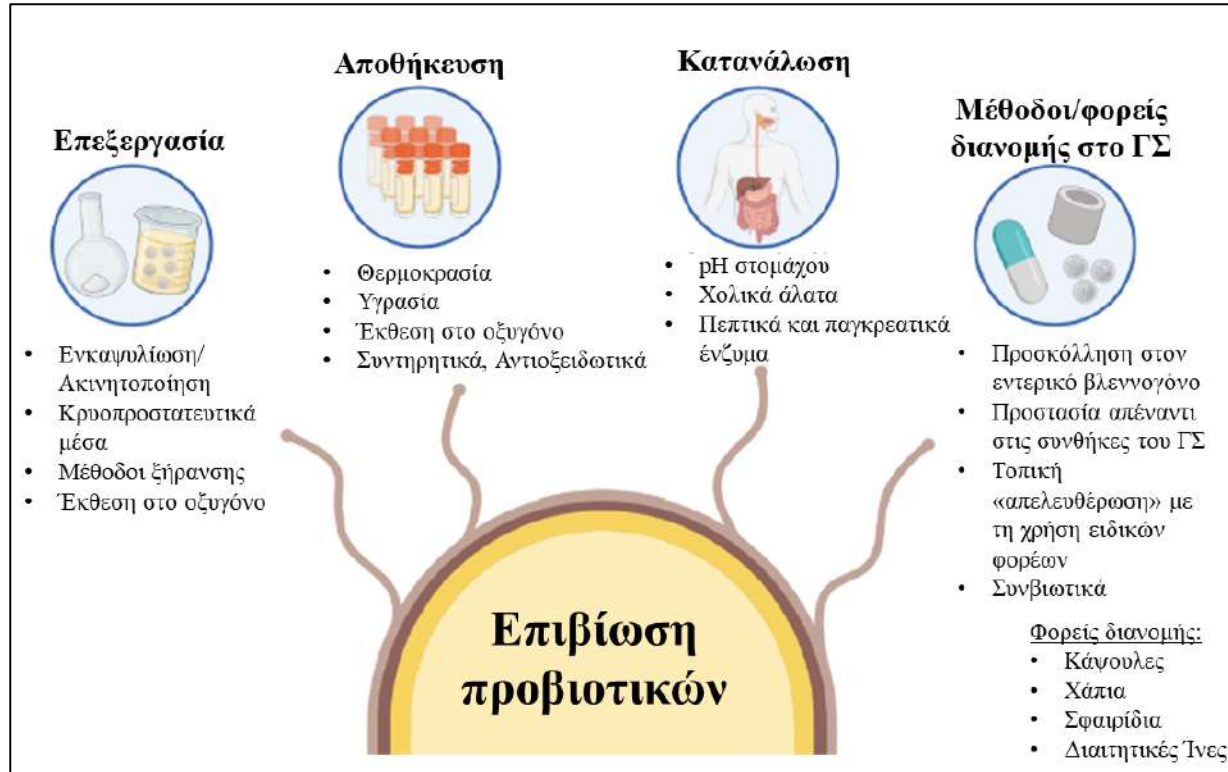
### 5. STORAGE

Probiotic bacteria are living microorganisms and their numbers can drop during storage. It is important to read the label for proper storage instructions. Storing probiotics correctly will help ensure viability until the expiration date. Probiotics are generally sensitive to changes in temperature and humidity. The impact is dependent on the probiotic strains, the formulation matrix, the dosage form and the packaging.

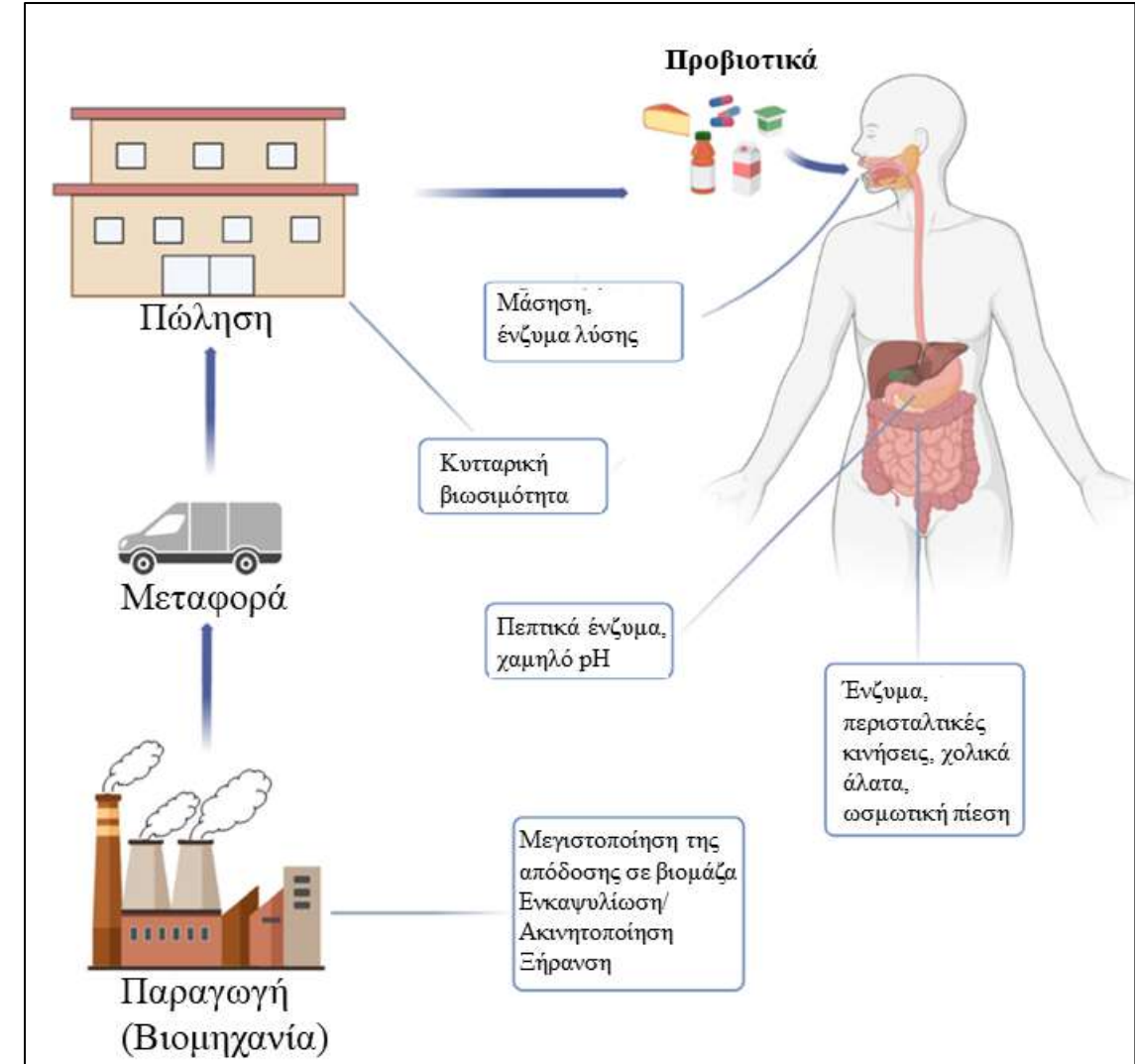
# Χαρακτηριστικά & Δράσεις



# Παράγοντες που επιδρούν στην επιβίωση

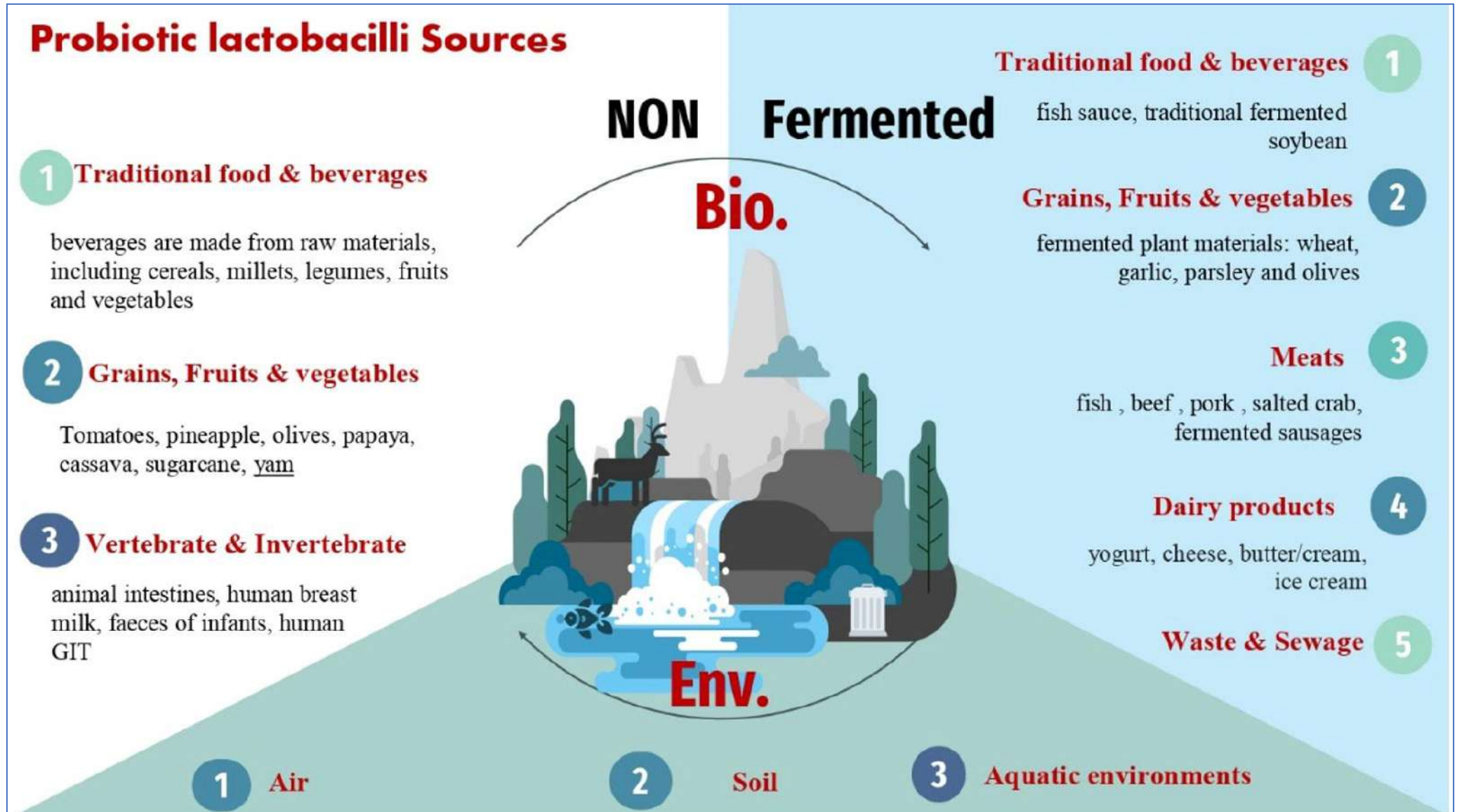


Torp et al., 2022; <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.034>



Medonca et al., 2023; <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010095>

# Απομόνωση νέων στελεχών



# Κριτήρια επιλογής

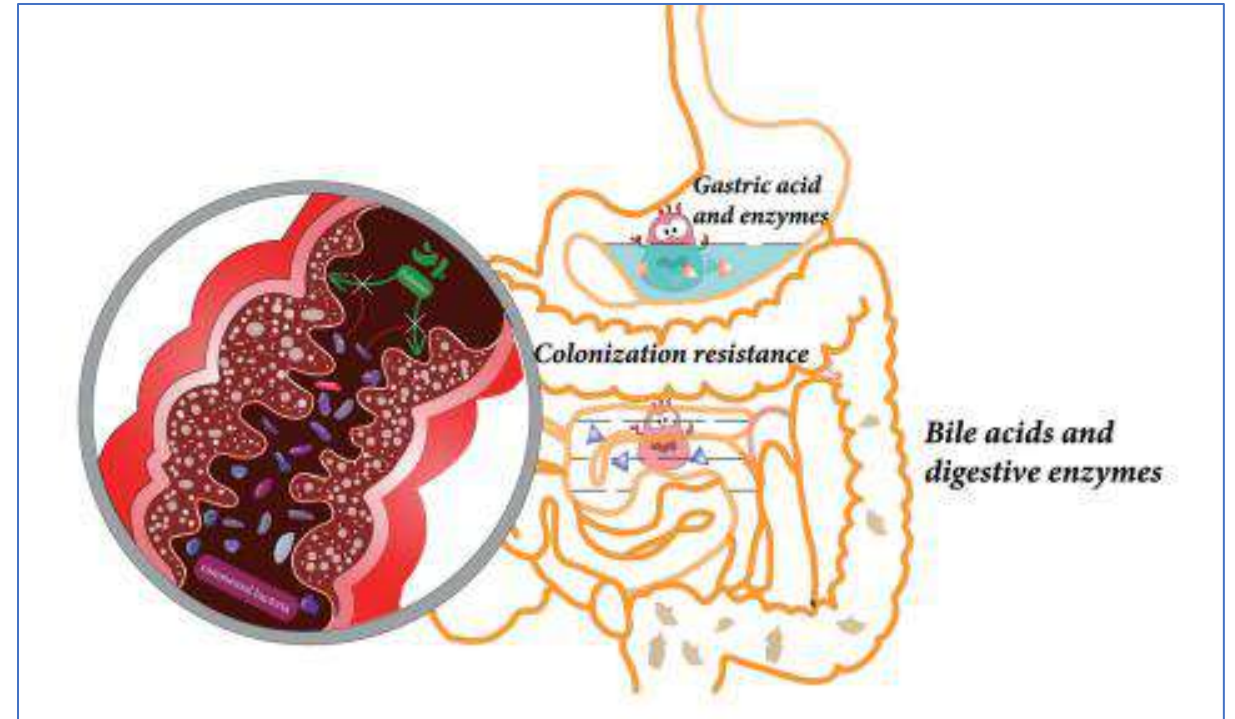
Ένας προβιοτικός μικροοργανισμός **πρέπει** να :

- 1) είναι ζωντανός τη στιγμή της κατανάλωσης
- 2) διαθέτει επιστημονικά τεκμηριωμένο όφελος στην υγεία του ξενιστή
- 3) έχει ταξινομηθεί σε επίπεδο γένους, είδους και στελέχους
- 4) είναι ασφαλής για την προβλεπόμενη χρήση του

# Κριτήρια επιλογής- 1

Ένας προβιοτικός  
μικροοργανισμός πρέπει να  
είναι ζωντανός τη στιγμή της  
κατανάλωσης

- Ικανότητα επιβίωσης στην παρουσία πεπτικών ενζύμων, χολικών αλάτων και όξινων συνθηκών
- Επιβίωση κατά την αποθήκευση (τρόφιμα/χάπια)

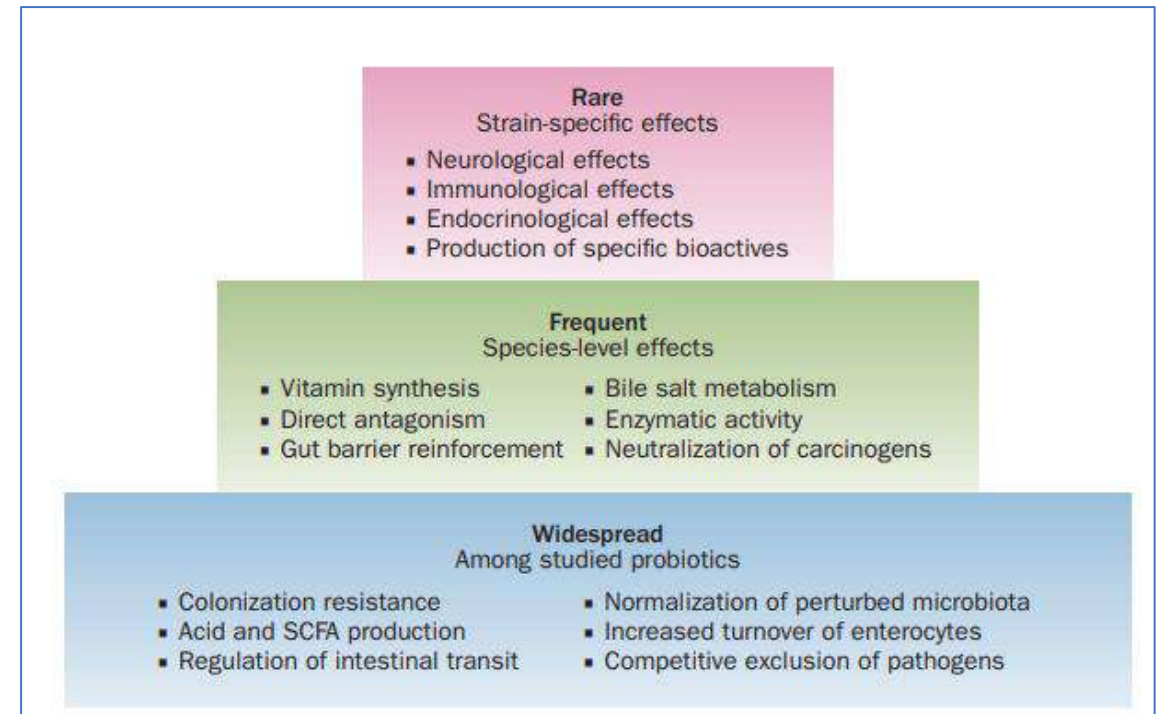


Han et al., 2021; <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722>

# Κριτήρια επιλογής- 2

Ένας προβιοτικός μικροοργανισμός πρέπει να διαθέτει επιστημονικά τεκμηριωμένο όφελος στην υγεία του ξενιστή

- Ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος
- Άμυνα έναντι παθογόνων
- Ικανότητα μείωσης επιπέδων χοληστερόλης/γλυκόζης
- Ομοιόσταση του εντερικού μικροβιώματος

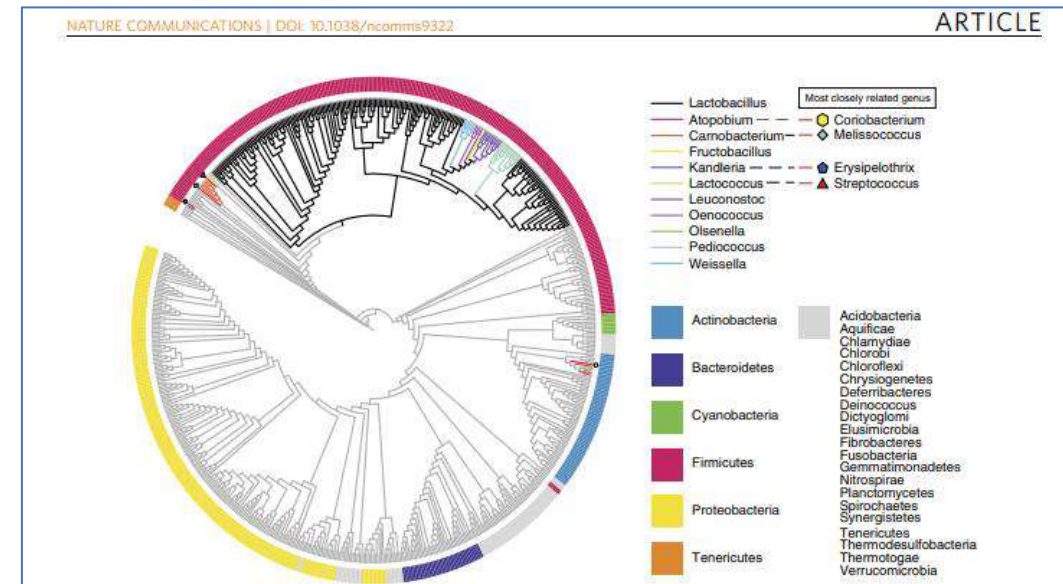
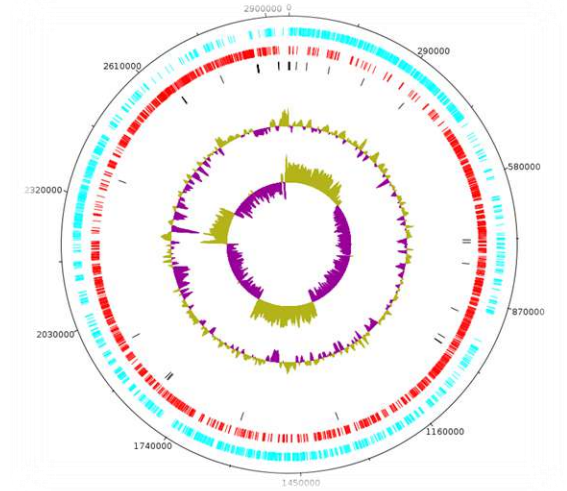


Hill et al., 2014; <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>

# Κριτήρια επιλογής- 3

Ένας προβιοτικός μικροοργανισμός πρέπει να έχει ταξινομηθεί σε επίπεδο γένους, είδους και στελέχους

Μοριακές τεχνικές Επόμενης Γενιάς (Next generation) επιτρέπουν τον πλήρη χαρακτηρισμό του μικροοργανισμού μέσω ανάγνωσης ολόκληρου του γονιδιώματος



Sun et al., 2015; <https://doi.org/10.1038/ncomms9322>

# Κριτήρια επιλογής- 4

**Ένας προβιοτικός  
μικροοργανισμός πρέπει να είναι  
ασφαλής για την προβλεπόμενη  
χρήση του**

- Απουσία αιμολυτικής δράσης
- Ευαισθησία στα αντιβιοτικά
- Να θεωρείται γενικά ασφαλής (Generally recognized as safe, GRAS)

## SCIENTIFIC OPINION<sup>1</sup>

**Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of  
human and veterinary importance<sup>2</sup>**

**EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed  
(FEEDAP)<sup>3,4</sup>**

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

Endorsed for public consultation on 1 February 2012

## *In vitro* αξιολόγηση ασφάλειας & προβιοτικών ιδιοτήτων

### **Κριτήρια ασφαλείας:**

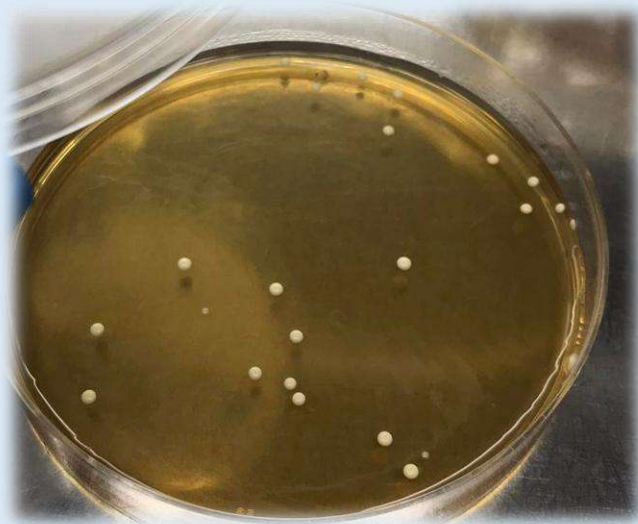
- ❖ Έλεγχος για αιμολυτική δράση
- ❖ Έλεγχος ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) αντιβιοτικών (EFSA-European Food Safety Authority,2012)

### **Λειτουργικά κριτήρια:**

- ❖ Ικανότητα μείωσης επιπέδων χοληστερόλης
- ❖ Έκκριση υδρολάσης χολικών αλάτων
- ❖ Αναστολή του ενζύμου της α-γλυκοσιδάσης
- ❖ Ανταγωνιστική και αντιμικροβιακή δράση έναντι τροφιμογενών παθογόνων
- ❖ Υδροφοβικότητα
- ❖ Αυτοσυσσωμάτωση και συσσωμάτωση με παθογόνους μικροοργανισμούς
- ❖ Δυναμικό προσκόλλησης στην κυτταρική σειρά Caco-2
- ❖ Αντοχή σε χαμηλό pH
- ❖ Αντοχή σε χολικά άλατα
- ❖ Αντοχή σε συγκεντρώσεις NaCl
- ❖ *In vitro* οξεοαντοχή (static)

# Results

| Source                | n. of strains |
|-----------------------|---------------|
| Human stool           | 6             |
| Olive brine           | 7             |
| Olive fruit           | 26            |
| Dried raisins         | 4             |
| Dried figs            | 10            |
| Bresaola-type sausage | 2             |
| Cabbage               | 1             |
| Feta cheese           | 1             |



| Species                              | n. of strains |
|--------------------------------------|---------------|
| <i>Lacticaseibacillus paracasei</i>  | 8             |
| <i>Lactiplantibacillus pentosus</i>  | 10            |
| <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> | 24            |
| <i>Latilactobacillus sakei</i>       | 2             |
| <i>Levilactobacillus brevis</i>      | 3             |
| <i>Pediococcus acidilactici</i>      | 10            |

# Results



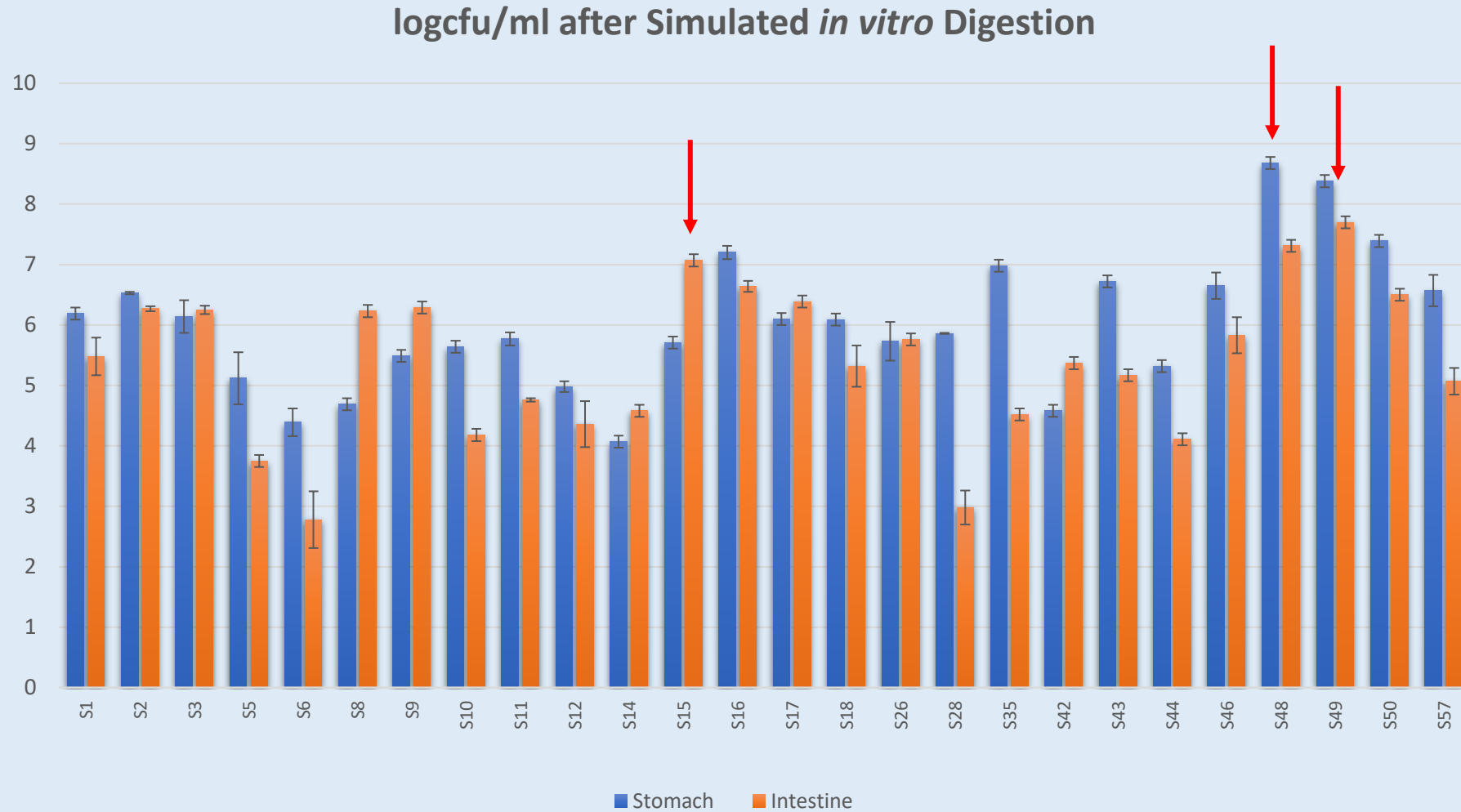
|     | Ampicillin | Clindamycin | Chloramphenicol | Erythromycin | Streptomycin | Tetracycline | Vancomycin |
|-----|------------|-------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|------------|
| S1  | S          | S           | I               | I            | R            | R            | R          |
| S2  | S          | S           | S               | S            | R            | R            | R          |
| S3  | S          | S           | S               | S            | R            | R            | R          |
| S7  | S          | S           | S               | S            | R            | R            | R          |
| S8  | S          | S           | S               | S            | -            | R            | R          |
| S9  | S          | S           | I               | I            | R            | R            | R          |
| S10 | S          | S           | S               | S            | S            | S            | R          |
| S11 | S          | S           | S               | S            | S            | I            | R          |
| S12 | S          | S           | I               | S            | S            | I            | R          |
| S14 | S          | R           | S               | S            | S            | R            | R          |
| S15 | S          | S           | I               | S            | -            | R            | R          |
| S16 | S          | S           | I               | I            | R            | R            | R          |
| S17 | S          | S           | I               | I            | R            | R            | R          |
| S18 | I          | S           | I               | I            | -            | R            | R          |
| S19 | S          | S           | S               | S            | R            | I            | R          |
| S20 | S          | S           | S               | S            | R            | R            | R          |
| S44 | S          | S           | S               | I            | I            | I            | R          |
| S45 | S          | S           | S               | S            | S            | S            | R          |
| S46 | S          | I           | S               | S            | I            | I            | R          |
| S47 | S          | S           | S               | S            | I            | I            | R          |
| S48 | S          | S           | S               | S            | S            | S            | R          |
| S49 | S          | I           | I               | I            | R            | R            | R          |
| S50 | S          | S           | S               | S            | R            | R            | R          |
| S52 | S          | S           | S               | S            | R            | R            | R          |
| S58 | R          | S           | S               | S            | -            | -            | -          |

# Results

|     | Ampicillin     | Kanamycin        | Gentamycin      | Streptomycin | Tetracycline    | Erythromycin | Clindamycin    | Chloramphenicol |
|-----|----------------|------------------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|----------------|-----------------|
| S3  | 2              | 256 <sup>R</sup> | 16              | 64           | 32 <sup>R</sup> | 1            | 0.25           | 8 <sup>R</sup>  |
| S18 | 2              | 128 <sup>R</sup> | 32 <sup>R</sup> | 64           | 32 <sup>R</sup> | 1            | 0.5            | 8 <sup>R</sup>  |
| S26 | >16            | -                | 8               | -            | 16              | -            | 1              | -               |
| S28 | 8 <sup>R</sup> | 32               | 2               | N.R.         | 32              | 1            | 8 <sup>R</sup> | 8               |
| S29 | -              | 32               | 8               | -            | -               | 1            | -              | -               |
| S35 | 1              | 64               | 8               | 16           | 1               | 0.5          | 0.25           | 4               |
| S39 | 8              | 128              | 8               | 32           | -               | -            | 0.5            | -               |

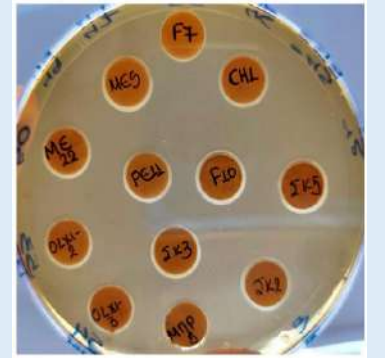
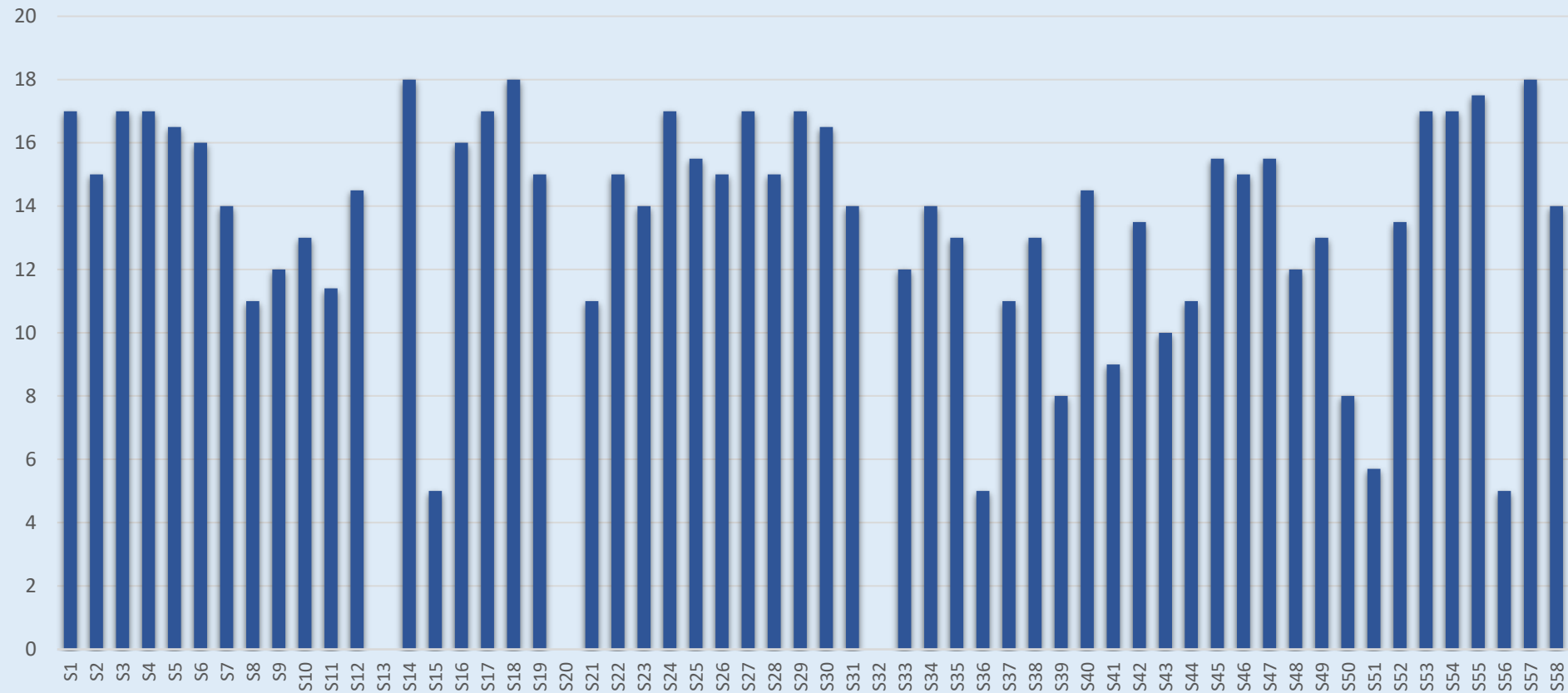


# Results

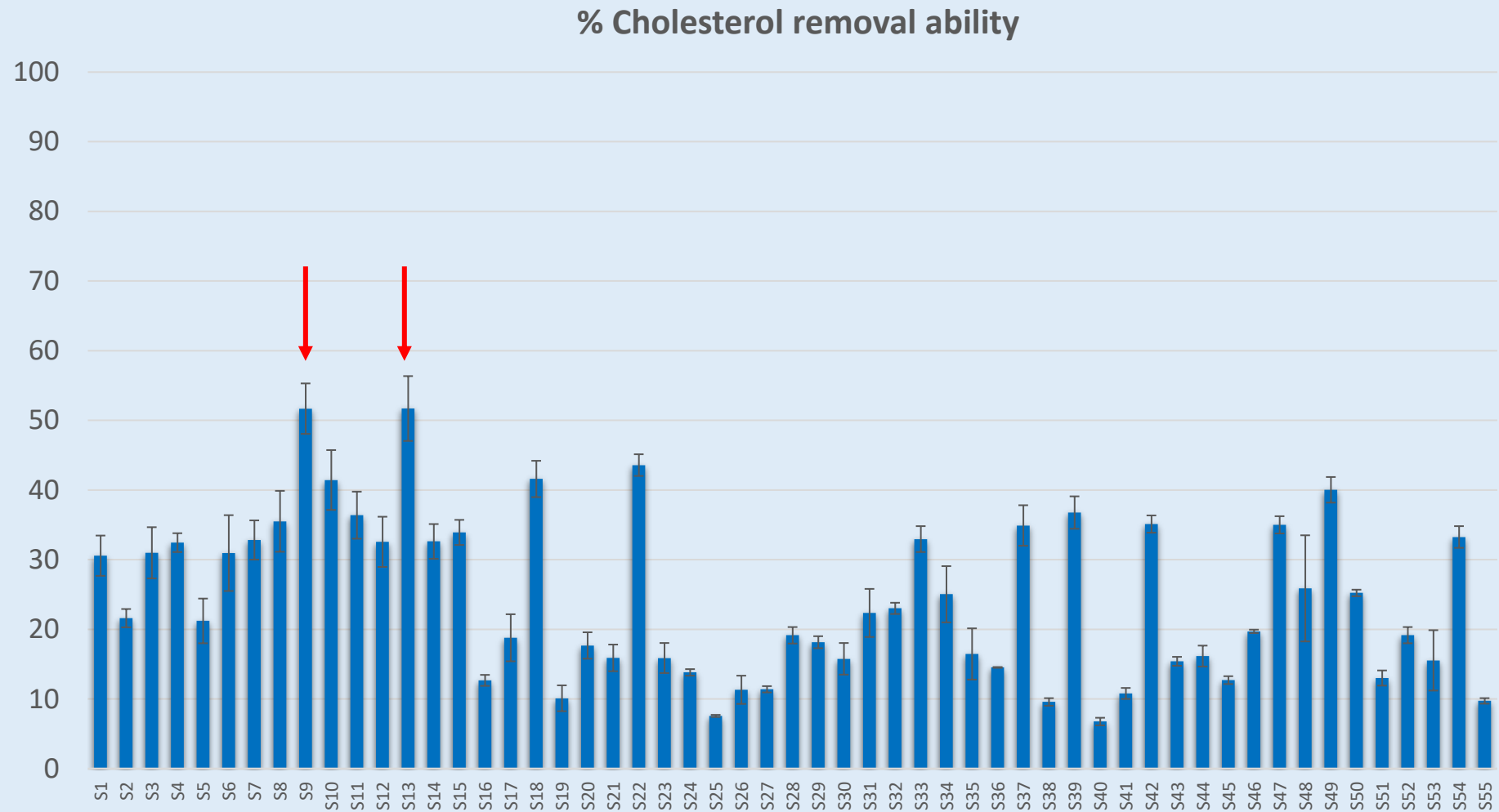


# Results

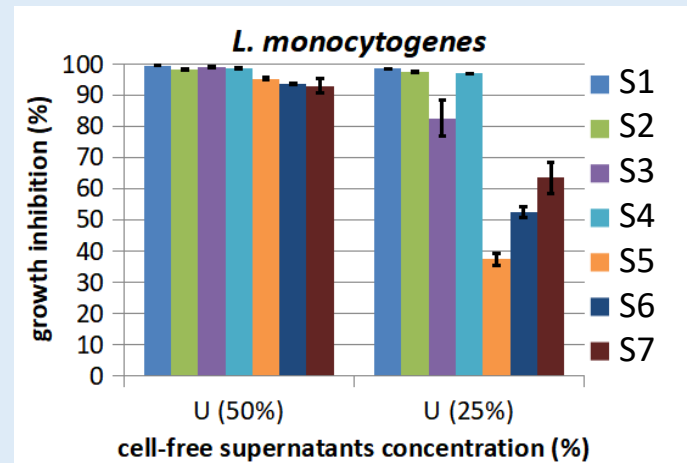
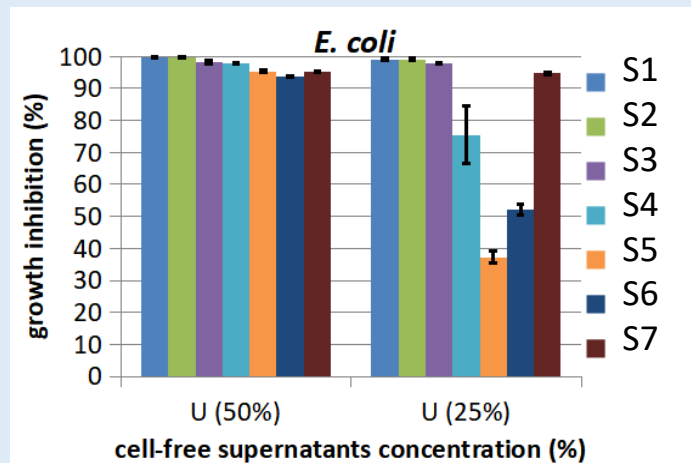
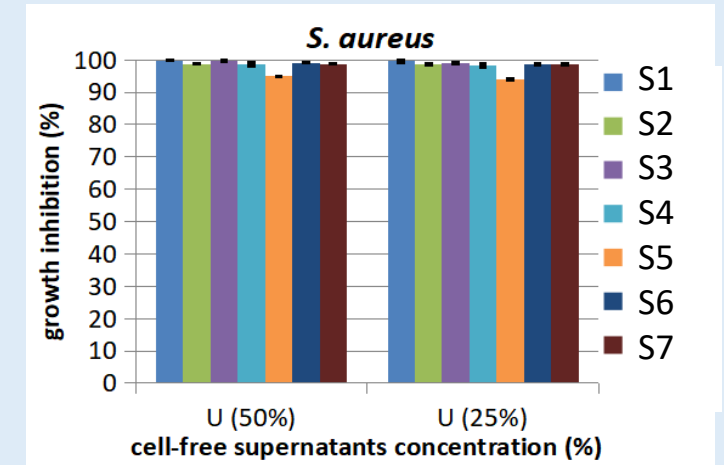
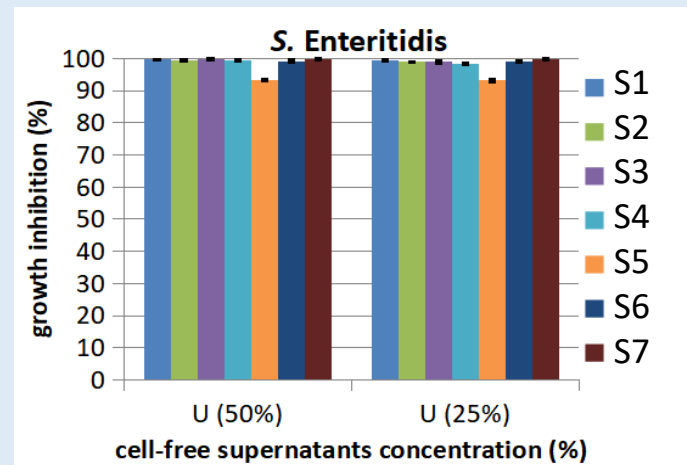
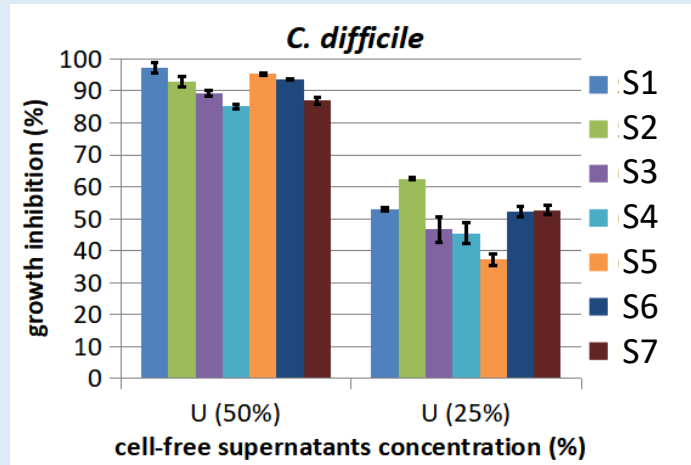
Bile Salt Hydrolase Activity (zones in mm)



# Results

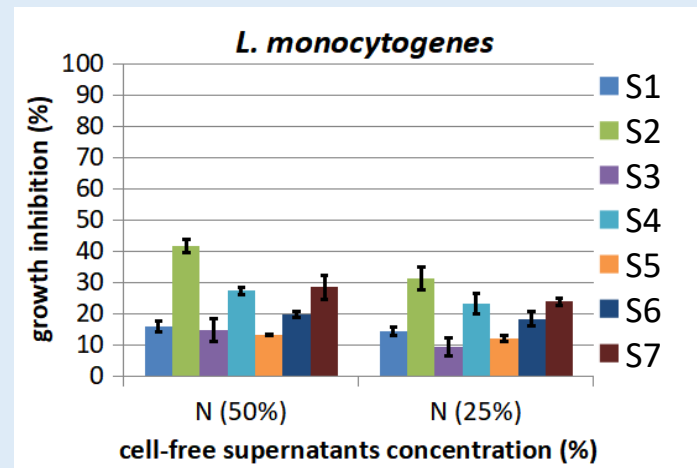
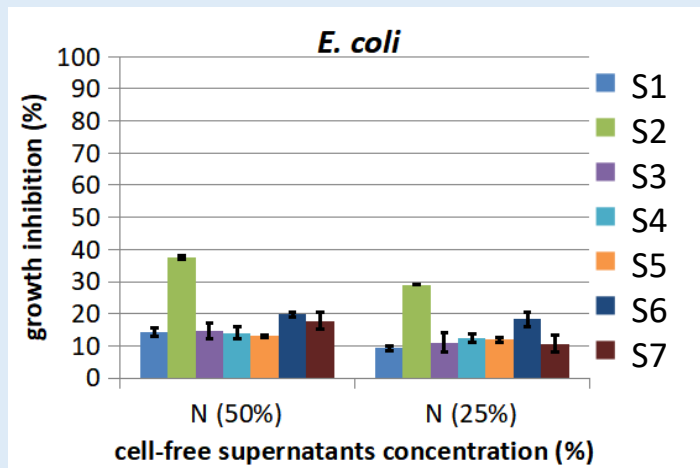
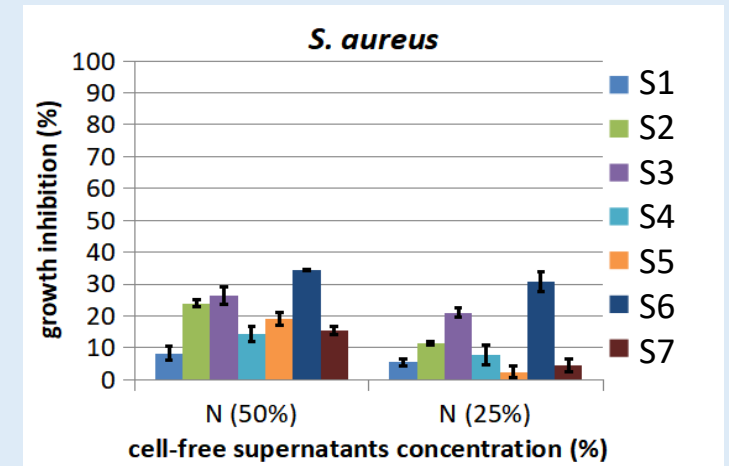
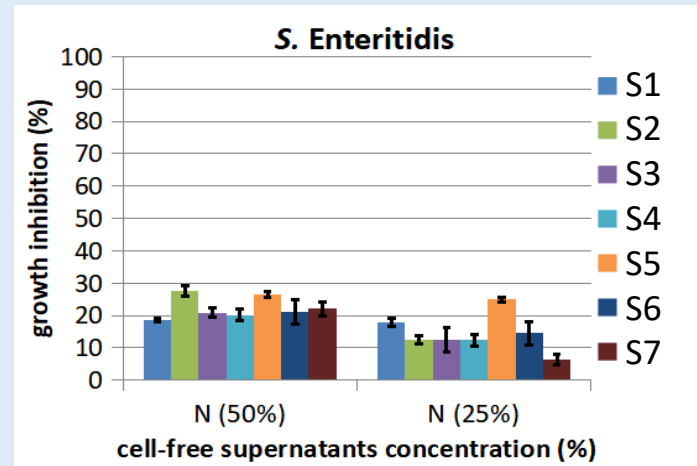
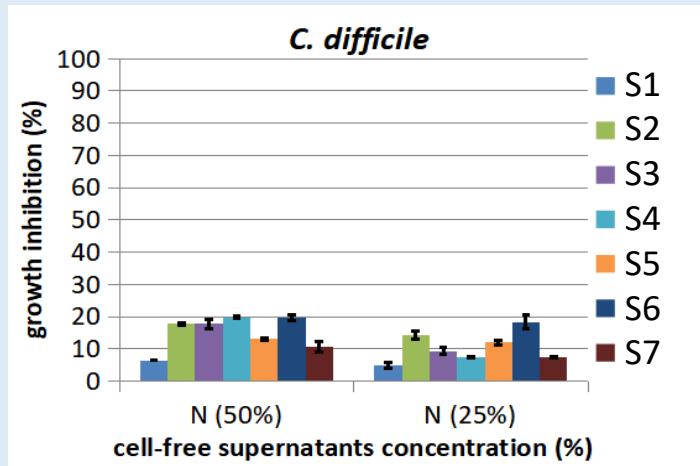


# Results



Growth inhibition activity of untreated cell-free supernatants (CFSs) of the novel wild-type strains against food-borne pathogens.  
U: untreated supernatant.

# Results



Growth inhibition activity of neutralized cell-free supernatants (CFSs) of the novel wild-type strains against food-borne pathogens.

N: neutralized supernatant.

# Συμπεράσματα

1. 57 lactic acid bacteria belonging to *Lactobacillaceae* family were isolated
2. Safety criteria were assessed (hemolysis and antibiotic resistance)
3. High survival (>7 logcfu/ml) was recorded after static *in vitro* digestion
4. Cholesterol removal activity up to 50% was recorded for specific strains
5. Strains could be used as functional cultures for food ingredients



Article

## Novel Wild-Type *Pediococcus* and *Lactiplantibacillus* Strains as Probiotic Candidates to Manage Obesity-Associated Insulin Resistance

Paraskevi Somalou <sup>1,†</sup>, Eleftheria Ieronymaki <sup>2,†</sup>, Kyriaki Feidaki <sup>3,4</sup>, Ioanna Prapa <sup>1</sup>, Electra Stylianopoulou <sup>1</sup>, Katerina Spyridopoulou <sup>1</sup>, George Skavdis <sup>1</sup>, Maria E. Grigoriou <sup>1</sup>, Panayiotis Panas <sup>5</sup>, Anagnostis Argiriou <sup>3,4</sup>, Christos Tsatsanis <sup>2,6</sup> and Yiannis Kourkoutas <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece; swmalouparaskevi@gmail.com (P.S.); iprapa@mbg.duth.gr (I.P.); electrastyl@gmail.com (E.S.); aikspiridopoulou@gmail.com (K.S.); gskavdis@mbg.duth.gr (G.S.); mgrigor@mbg.duth.gr (M.E.G.)
  - <sup>2</sup> Laboratory of Clinical Chemistry, Department of Laboratory Medicine, Medical School, University of Crete, 71003 Crete, Greece; eleftheriaier@hotmail.com (E.I.); tsatsani@uoc.gr (C.T.)
  - <sup>3</sup> Institute of Applied Sciences, Centre for Research and Technology, 57001 Thessaloniki, Greece; riafeidaki@gmail.com (K.F.); argiriou@certh.gr (A.A.)
  - <sup>4</sup> Department of Food Science and Nutrition, University of the Aegean, 81400 Lemnos, Greece
  - <sup>5</sup> QLC, 26442 Patras, Greece; panas@qlc.gr
  - <sup>6</sup> Institute for Molecular Biology and Biotechnology, FORTH, 71100 Heraklion, Greece
- \* Correspondence: ikourkou@mbg.duth.gr; Tel.: +30-25510-30633
- † These authors contributed equally to this work.

**Abstract:** As the food and pharmaceutical industry is continuously seeking new probiotic strains with unique health properties, the aim of the present study was to determine the impact of short-term dietary intervention with novel wild-type strains, isolated from various sources, on high-fat diet (HFD)-induced insulin resistance. Initially, the strains were evaluated in vitro for their ability to survive in simulated gastrointestinal (GI) conditions, for adhesion to Caco-2 cells, for bile salt hydrolase secretion, for cholesterol-lowering and cellular cholesterol-binding ability, and for growth inhibition of food-borne pathogens. In addition, safety criteria were assessed, including hemolytic activity and susceptibility to antibiotics. The in vivo test on insulin resistance showed that mice receiving the HFD supplemented with *Pediococcus acidilactici* SK (isolated from human feces) or *P. acidilactici* OLS3-1 strain (isolated from olive fruit) exhibited significantly improved insulin resistance compared to HFD-fed mice or to the normal diet (ND)-fed group.

**Keywords:** probiotics; *Pediococcus*; *Lactiplantibacillus*; obesity; insulin resistance; type2 diabetes; high-fat diet



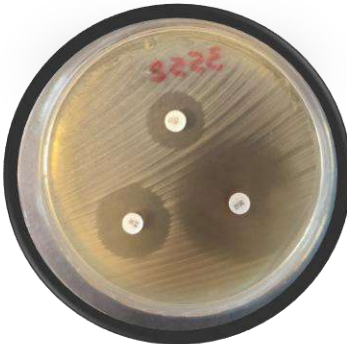
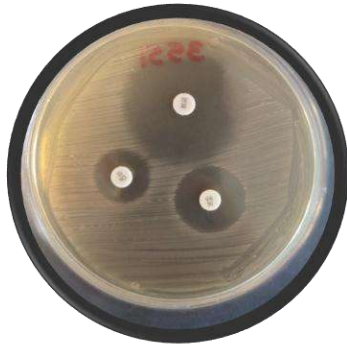
**Citation:** Somalou, P.; Ieronymaki, E.; Feidaki, K.; Prapa, I.; Stylianopoulou, E.; Spyridopoulou, K.; Skavdis, G.; Grigoriou, M.E.; Panas, P.; Argiriou, A.; et al. Novel Wild-Type *Pediococcus* and *Lactiplantibacillus* Strains as Probiotic Candidates to Manage Obesity-Associated Insulin Resistance. *Microorganisms* **2024**, *12*, 231. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020231>

# Τράπεζα προβιοτικών στελεχών

| Κωδικός | Πηγή απομόνωσης               | Αποτέλεσμα ταυτοποίησης                        |
|---------|-------------------------------|------------------------------------------------|
| 1327    | Κατσικίσιο γάλα ΠΑΜΘ          | <i>Lacticaseibacillus paracasei</i>            |
| 1422    | Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ             | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>           |
| 4570    | Παντζάρι                      | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>           |
| 4572    | Παντζάρι                      | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>           |
| 4573    | Παντζάρι                      | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>           |
| 4574    | Παντζάρι                      | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>           |
| 2C      | Ελιές (καρπός)                | <i>Lactiplantibacillus plantarum/pentosus</i>  |
| 2C2     | Ελιές (καρπός)                | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 1C      | Ελιές (καρπός)                | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 3C      | Ελιές (καρπός)                | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 4C      | Ελιές (καρπός)                | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 4       | Τυρί τύπου φέτα               | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 1423    | Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ             | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 1433    | Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ             | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 1434    | Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ             | <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>            |
| 1332    | Κατσικίσιο γάλα Κρήτης        | <i>Lactococcus lactis</i>                      |
| 5810    | Μανιτάρια λευκά               | <i>Lactococcus lactis</i>                      |
| 5811    | Μανιτάρια λευκά               | <i>Lactococcus lactis</i>                      |
| 5812    | Μανιτάρια λευκά               | <i>Lactococcus lactis</i>                      |
| 1321    | Κατσικίσιο γάλα ΠΑΜΘ          | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> |
| 1331    | Κατσικίσιο γάλα Κρήτης        | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> |
| 3551    | Ξηρό κατσικίσιο τυρί Κρήτης   | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> |
| 3552    | Ξηρό κατσικίσιο τυρί Κρήτης   | <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> |
| 3554    | Φρέσκο κατσικίσιο τυρί Κρήτης | <i>Pediococcus pentosaceus</i>                 |

# Antibiotic susceptibility

|      | Αμπικυλλίνη | Χλωραμφαινικόλη | Κλινδαμυκίνη | Ερυθρομυκίνη | Γενταμυκίνη | Καναμυκίνη | Στρεπτομυκίνη | Τετρακυκλίνη | Βανκομυκίνη |
|------|-------------|-----------------|--------------|--------------|-------------|------------|---------------|--------------|-------------|
|      | AM          | C               | DA           | E            | CN          | K          | S             | T            | VA          |
| 1327 | R           | S               | S            | S            | R           | R          | R             | S            | R           |
| 1422 | S           | S               | MS           | S            | S           | R          | R             | S            | R           |
| 1423 | R           | S               | S            | S            | R           | R          | R             | S            | R           |
| 1433 | R           | S               | S            | S            | R           | R          | S             | S            | R           |
| 1434 | R           | S               | S            | S            | R           | R          | R             | S            | R           |
| 3554 | R           | S               | S            | S            | R           | R          | R             | S            | R           |
| 4570 | MS          | S               | MS           | S            | R           | R          | MS            | MS           | R           |
| 4572 | S           | S               | S            | S            | R           | R          | R             | MS           | R           |
| 4573 | S           | S               | S            | S            | S           | R          | S             | MS           | R           |
| 4574 | S           | S               | S            | S            | S           | R          | R             | MS           | R           |
| 1321 | MS          | S               | S            | S            | S           | MS         | R             | S            | S           |
| 1331 | MS          | S               | S            | S            | S           | R          | MS            | S            | S           |
| 1332 | S           | S               | S            | S            | S           | R          | S             | S            | S           |
| 3551 | MS          | S               | S            | S            | S           | MS         | MS            | S            | S           |
| 3552 | S           | S               | S            | S            | S           | R          | R             | S            | S           |
| 5810 | S           | S               | S            | S            | S           | MS         | MS            | S            | S           |
| 5811 | MS          | S               | S            | S            | S           | MS         | MS            | S            | S           |
| 5812 | S           | S               | S            | S            | S           | S          | S             | S            | S           |
| 1C   | R           | S               | S            | S            | S           | R          | MS            | S            | R           |
| 3C   | MS          | S               | S            | S            | S           | R          | MS            | S            | R           |
| 4C   | R           | S               | S            | S            | R           | R          | MS            | S            | R           |
| 4    | R           | S               | S            | S            | R           | R          | MS            | S            | R           |
| 2C   | MS          | S               | S            | S            | S           | R          | R             | S            | R           |
| 2C2  | R           | S               | S            | S            | R           | R          | MS            | S            | R           |



# pH tolerance

## lactococci

| Strain | 1321    |         | 1331    |         | 1332    |         | 3551    |         | 3552    |         | 5810    |         | 5811    |         | 5812    |         |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| pH     | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       |
| 0h     | 8.5±0.1 |         | 8.3±0.1 |         | 8.6±0.1 |         | 8.0±0.1 |         | 8.3±0.1 |         | 7.9±0.1 |         | 8.1±0.1 |         | 8.1±0.1 |         |
| 2h     | 2.9±0.1 | 4.6±0.1 | N/D     | 3.7±0.1 | 2.7±0.1 | 3.9±0.1 | N/D     | 5.3±0.1 | 3.0±0.1 | 4.9±0.1 | 2.9±0.1 | 4.6±0.1 | 2.9±0.1 | 7.0±0.1 | 3.2±0.1 | 5.1±0.1 |
| 3h     | N/D     | 2.9±0.1 | N/D     | 2.8±0.1 | N/D     | 3.0±0.1 | N/D     | 4.2±0.1 | N/D     | 4.3±0.1 | 1.7±0.1 | 4.5±0.1 | 2.4±0.1 | 4.5±0.1 | 2.5±0.1 | 3.8±0.1 |

## lactobacilli

| Strain | 1327    |         | 1422    |         | 1423    |         | 1433    |         | 1434    |         | 3554    |         | 4570    |         | 4572    |         |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| pH     | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       |
| 0h     | 8.2±0.1 |         | 8.6±0.1 |         | 8.6±0.1 |         | 8.1±0.1 |         | 8.3±0.1 |         | 8.1±0.1 |         | 8.3±0.1 |         | 8.2±0.1 |         |
| 2h     | N/D     | 4.0±0.1 | 2.0±0.1 | 6.5±0.1 | N/D     | 3.9±0.1 | N/D     | 3.4±0.1 | N/D     | 5.5±0.1 | N/D     | 4.8±0.1 | 3.1±0.1 | 5.8±0.1 | 1.9±0.1 | 5.7±0.1 |
| 3h     | N/D     | 1.8±0.1 | N/D     | 6.2±0.1 | N/D     | 3.1±0.1 | N/D     | 3.1±0.1 | N/D     | 3.1±0.1 | N/D     | 3.0±0.1 | N/D     | 4.7±0.1 | N/D     | 5.5±0.1 |

| Strain | 4573    |         | 4574    |         | 1C      |         | 3C      |         | 4C      |         | 4       |         | 2C      |         | 2C2     |         |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| pH     | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       | 2       | 3       |
| 0h     | 8.4±0.1 |         | 8.3±0.1 |         | 7.5±0.1 |         | 5.8±0.1 |         | 7.9±0.1 |         | 8.0±0.1 |         | 7.7±0.1 |         | 7.7±0.1 |         |
| 2h     | 2.3±0.1 | 4.5±0.1 | 3.2±0.1 | 4.3±0.1 | 2.6±0.1 | 4.3±0.1 | N/D     | 3.5±0.1 | N/D     | 2.7±0.1 | N/D     | 3.4±0.1 | N/D     | 2.5±0.1 | N/D     | 3.9±0.1 |
| 3h     | N/D     | 4.0±0.1 | N/D     | 3.3±0.1 | N/D     | 3.2±0.1 | N/D     | 2.6±0.1 | N/D     | N/D     | N/D     | 2.8±0.1 | N/D     | 1.6±0.1 | N/D     | 2.6±0.1 |

# Bile salts tolerance

## lactococci

| Strain        | 1321    |     | 1331    |     | 1332    |     | 3551    |     | 3552    |     | 5810    |     | 5811    |     | 5812    |     |
|---------------|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|
| Bile salt (%) | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 |
| 0h            | 7.4±0.1 |     | 7.1±0.1 |     | 7.4±0.1 |     | 7.0±0.1 |     | 7.2±0.1 |     | 7.1±0.1 |     | 7.1±0.1 |     | 7.2±0.1 |     |
| 2h            | N/D     | N/D | N/D     | N/D | 2.7±0.1 | N/D |         | N/D | N/D     | N/D | 2.1±0.1 | N/D | 2.5±0.1 | N/D | 2.5±0.1 | N/D |
| 4h            | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | 1.5±0.1 | N/D | 1.5±0.1 | N/D | N/D     | N/D |

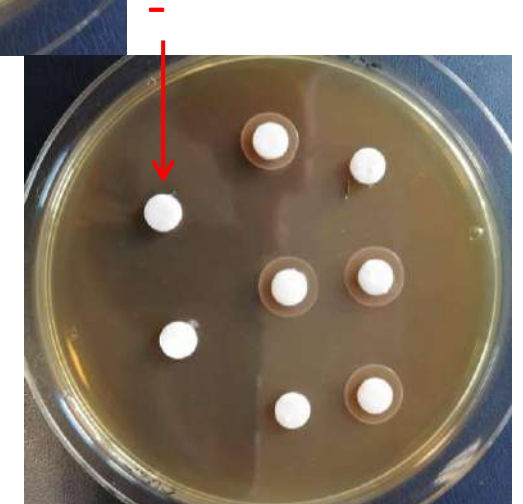
## lactobacilli

| Strain        | 1327    |     | 1422    |         | 1423    |     | 1433    |     | 1434    |     | 3554    |         | 4570    |         | 4572    |         |
|---------------|---------|-----|---------|---------|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Bile salt (%) | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5     | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5     | 0.3     | 0.5     | 0.3     | 0.5     |
| 0h            | 7.3±0.1 |     | 7.5±0.1 |         | 7.0±0.1 |     | 7.0±0.1 |     | 7.1±0.1 |     | 7.2±0.1 |         | 7.5±0.1 |         | 7.5±0.1 |         |
| 2h            | N/D     | N/D | 5.5±0.1 | 4.9±0.1 | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | 4.6±0.1 | 2.4±0.1 | 6.3±0.1 | 4.9±0.1 | 2.7±0.1 | 2.3±0.1 |
| 4h            | N/D     | N/D | 5.2±0.1 | 4.6±0.1 | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D     | 5.0±0.1 | 4.7±0.1 | 2.3±0.1 | 1.9±0.1 |

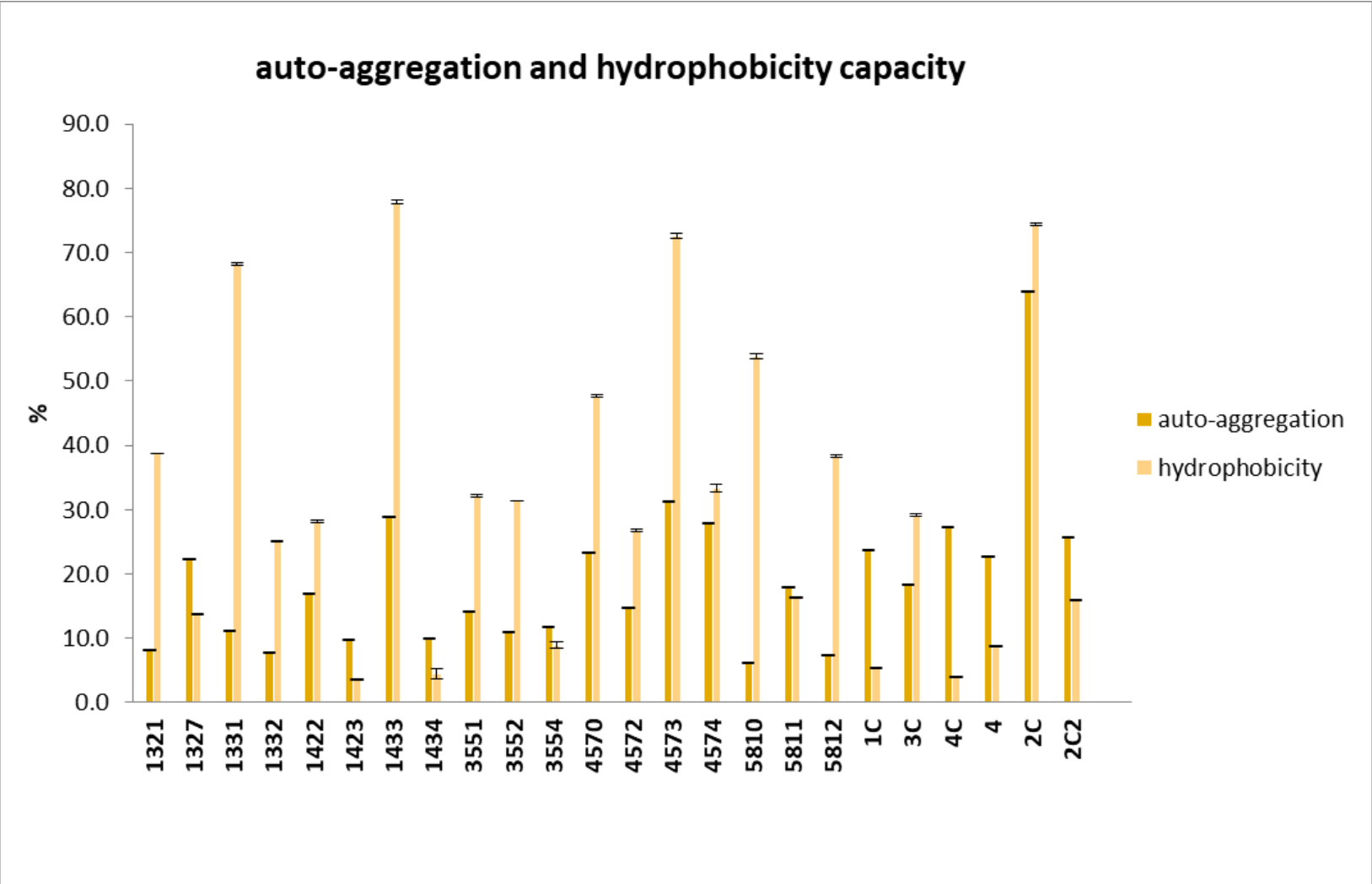
| Strain        | 4573    |         | 4574    |     | 1C      |     | 3C      |     | 4C      |     | 4       |     | 2C      |     | 2C2     |     |
|---------------|---------|---------|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|
| Bile salt (%) | 0.3     | 0.5     | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 | 0.3     | 0.5 |
| 0h            | 7.4±0.1 |         | 7.4±0.1 |     | 7.4±0.1 |     | 7.1±0.1 |     | 8.2±0.1 |     | 7.6±0.1 |     | 6.9±0.1 |     | 7.2±0.1 |     |
| 2h            | 3.7±0.1 | 3.6±0.1 | 2.9±0.1 | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | 2.2±0.1 | N/D | 2.3±0.1 | N/D |
| 4h            | 3.5±0.1 | 3.3±0.1 | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D | N/D     | N/D |

# Έκκριση υδρολύσης χολικών αλάτων

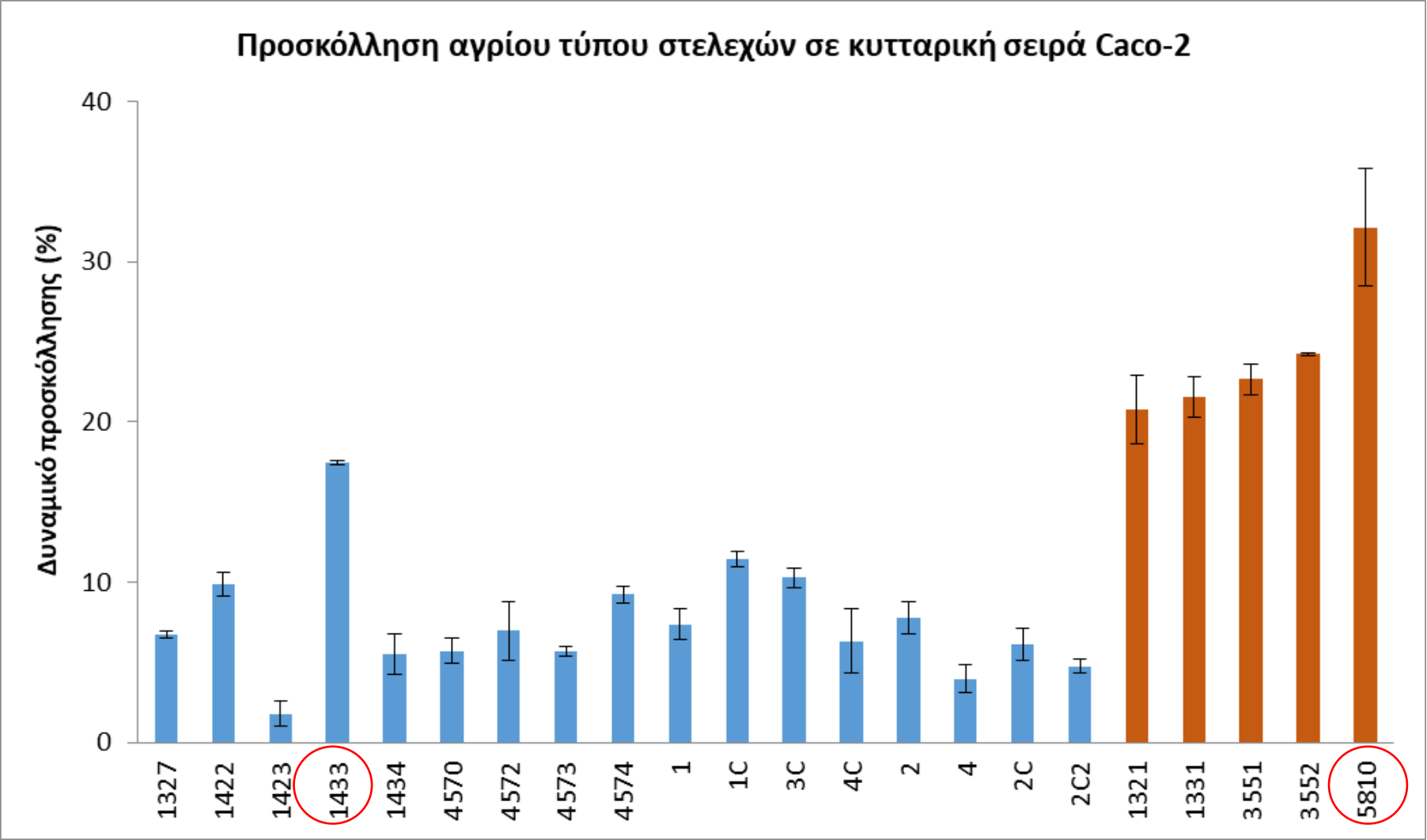
| Κωδικός | Είδος                                 | Υδρολύση (+/-) |
|---------|---------------------------------------|----------------|
| 1327    | <i>L. paracasei</i>                   | +              |
| 1422    | <i>L. plantarum</i>                   | +              |
| 1423    | <i>L. rhamnosus</i>                   | +              |
| 1433    | <i>L. rhamnosus</i>                   | +              |
| 1434    | <i>L. rhamnosus</i>                   | +              |
| 3554    | <i>P. pentosaceus</i>                 | -              |
| 4570    | <i>L. plantarum</i>                   | +              |
| 4572    | <i>L. plantarum</i>                   | +              |
| 4573    | <i>L. plantarum</i>                   | +              |
| 4574    | <i>L. plantarum</i>                   | +              |
| 1321    | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | +              |
| 1331    | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | -              |
| 1332    | <i>L. lactis</i>                      | -              |
| 3551    | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | -              |
| 3552    | <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> | -              |
| 5810    | <i>L. cremoris</i>                    | +              |
| 5811    | <i>L. lactis</i>                      | +              |
| 5812    | <i>L. lactis</i>                      | +              |
| 1C      | <i>L. rhamnosus</i>                   | -              |
| 3C      | <i>L. rhamnosus</i>                   | -              |
| 4C      | <i>L. rhamnosus</i>                   | -              |
| 4       | <i>L. rhamnosus</i>                   | -              |
| 2C      | <i>L. plantarum</i> /pentosus         | +              |
| 2C2     | <i>L. rhamnosus</i>                   | -              |
| control | <i>L. rhamnosus</i> GG                | +              |



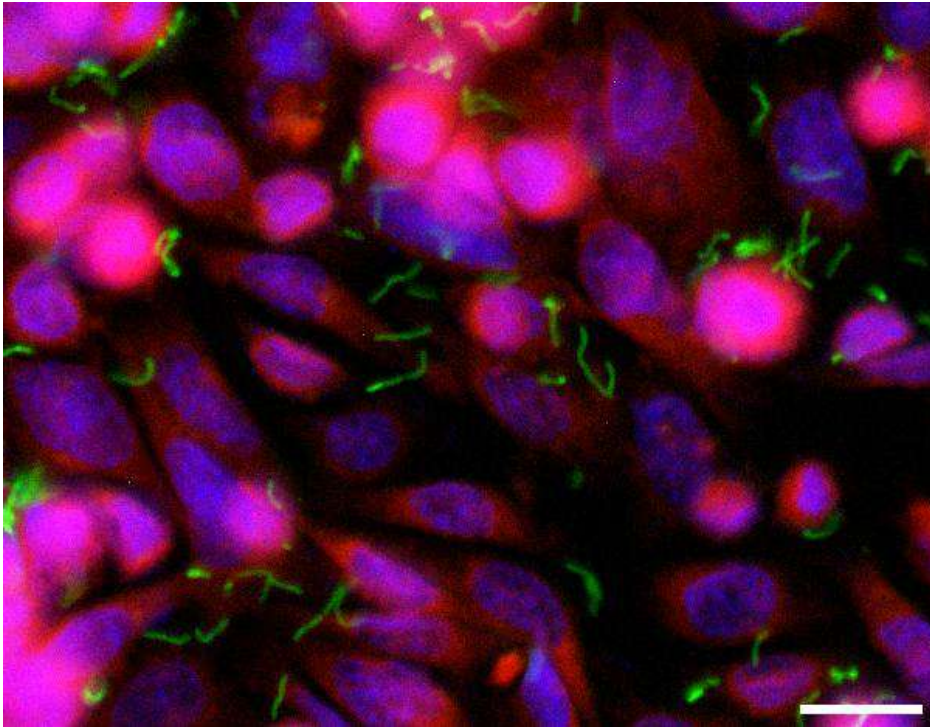
# Αυτό-συσσωμάτωση & Υδροφοβικότητα



# Προσκόλληση σε κυτταρική σειρά Caco-2

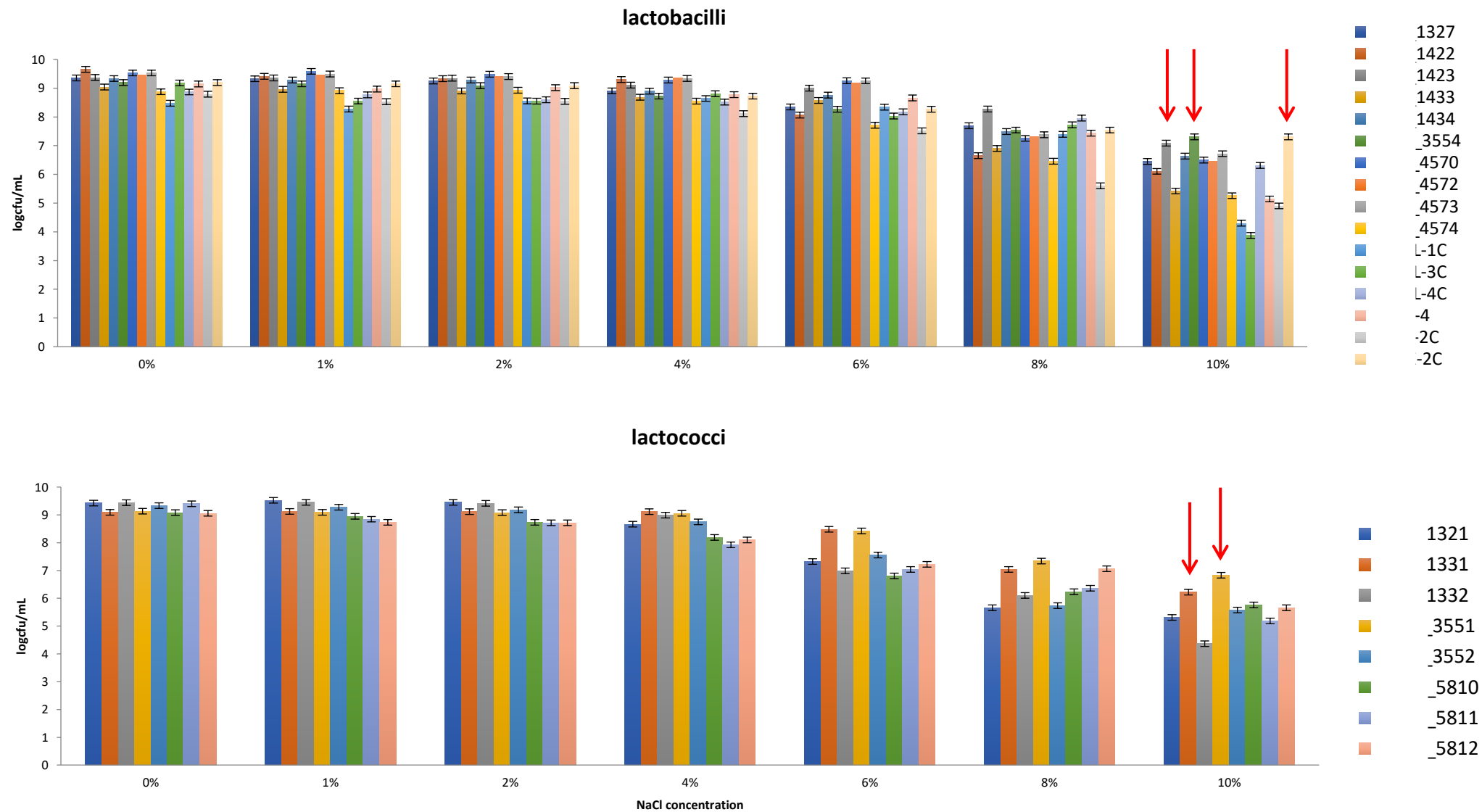


# Προσκόλληση

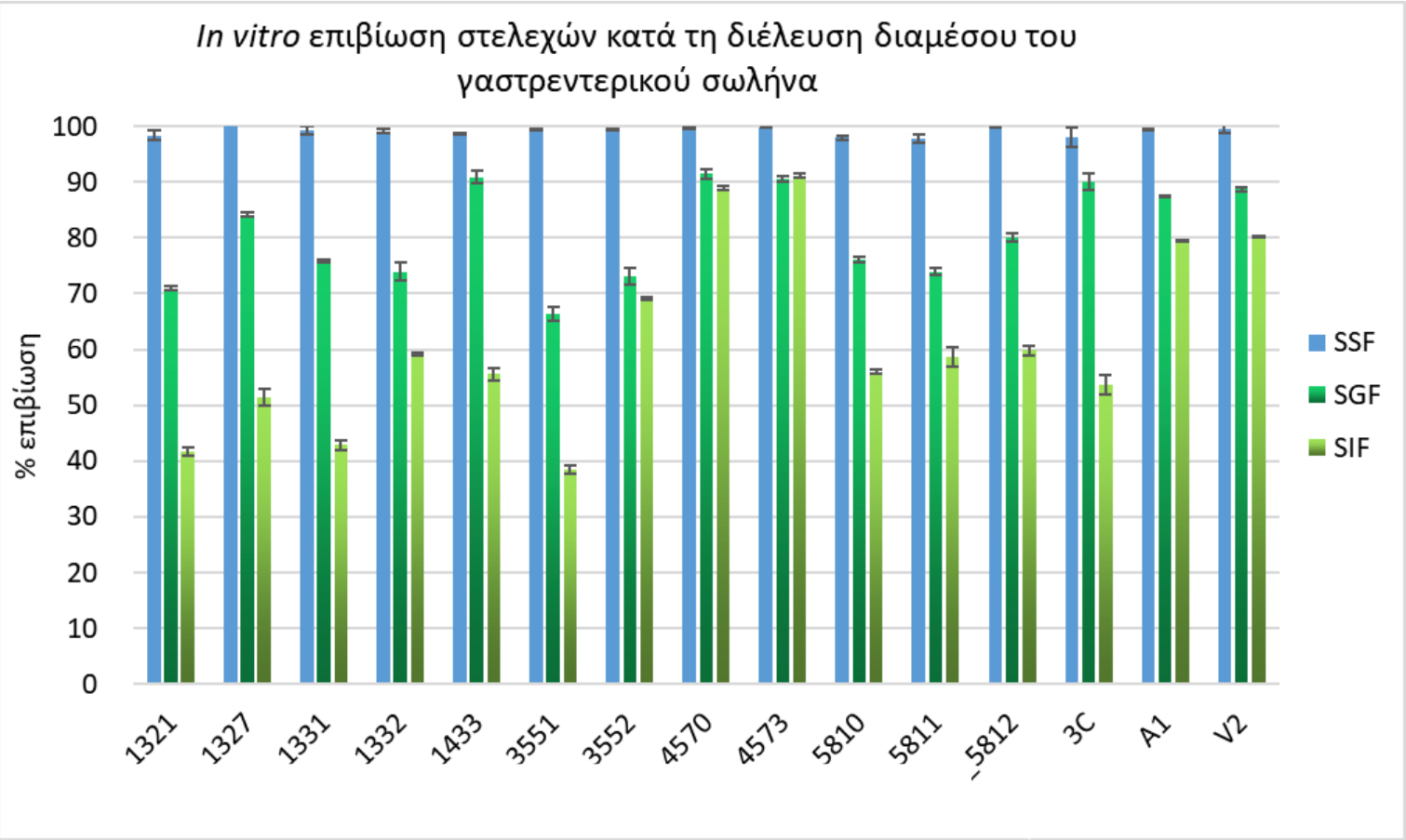


Fluorescently-labeled live *Lactobacilli* to differentiated Caco-2 cells after 2h of incubation at 37 °C in a humidified atmosphere of 5 % CO<sub>2</sub>. Bacterial cells were stained with FITC (green), Caco-2 cells were stained with Hoechst 33258 (blue, nucleus) and mitotracker (red, mitochondria). Scale bar: 100μm

# NaCl tolerance



# Static *in vitro* digestion

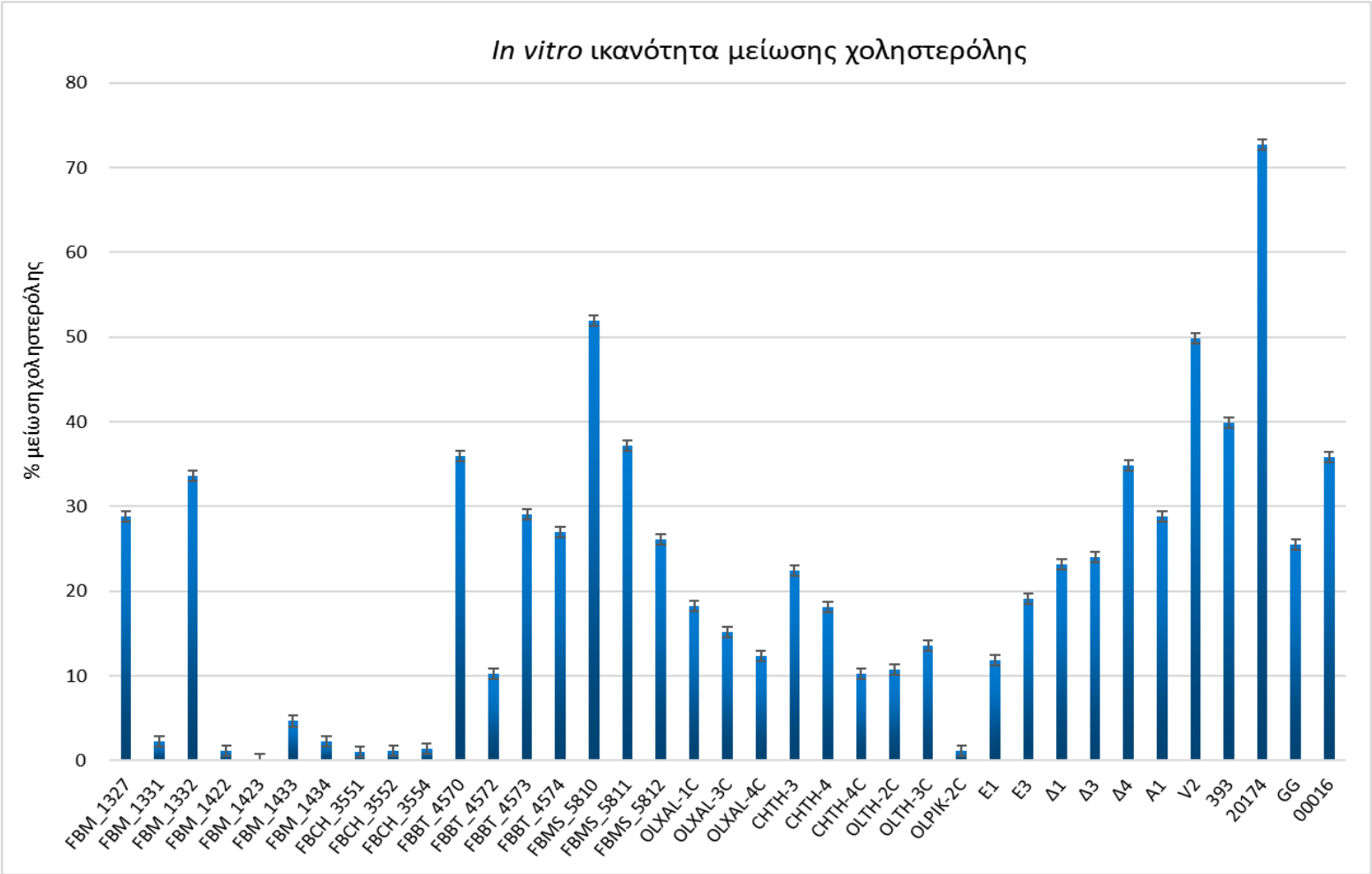


**SSF:** Διάλυμα προσομοίωσης στοματικής κοιλότητας

**SGF:** Διάλυμα προσομοίωσης στομάχου

**SIF:** Διάλυμα προσομοίωσης λεπτού εντέρου

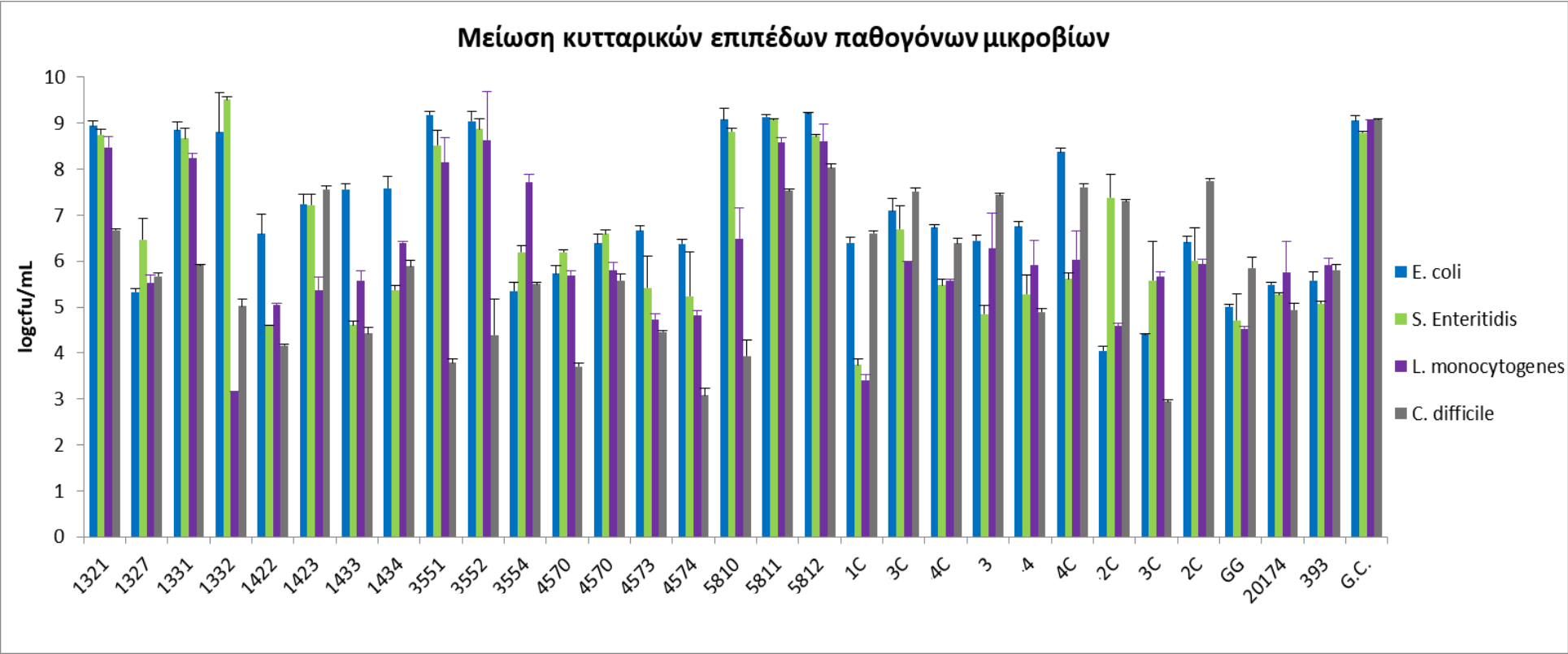
# Υποχοληστερολαιμική δράση



# Αντι-διαβητική δράση

| Αγρίου τύπου στέλεχος                | Ποσοστό αναστολής α-γλυκοσιδάσης (%) |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>L. lactis</i> 1321                | 11.80 ± 3.82                         |
| <i>Lc. paracasei</i> 1327            | 26.39 ± 4.14                         |
| <i>L. lactis</i> 1331                | 16.72 ± 2.57                         |
| <i>L. lactis</i> 1332                | 14.13 ± 3.05                         |
| <i>Lp. plantarum</i> 1422            | 18.44 ± 2.87                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 1423            | 10.44 ± 0.51                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 1433            | 9.89 ± 1.86                          |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 1434            | 2.96 ± 0.14                          |
| <i>L. lactis</i> 3551                | 19.40 ± 1.04                         |
| <i>L. lactis</i> 3552                | 14.74 ± 1.27                         |
| <i>P. pentosaceus</i> 3554           | 10.46 ± 1.77                         |
| <i>Lp. plantarum</i> 4570            | 14.45 ± 3.22                         |
| <i>Lp. plantarum</i> 4572            | 16.30 ± 0.55                         |
| <i>Lp. plantarum</i> 4573            | 0.58 ± 0.28                          |
| <i>Lp. plantarum</i> 4574            | 11.89 ± 0.95                         |
| <i>L. cremoris</i> 5810              | 13.22 ± 0.11                         |
| <i>L. lactis</i> 5811                | 14.28 ± 1.87                         |
| <i>L. lactis</i> 5812                | 22.62 ± 2.15                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 1C              | 16.76 ± 0.60                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 3C              | 18.18 ± 1.50                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 4C              | 15.93 ± 2.17                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 3               | 11.52 ± 1.79                         |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 4               | 1.69 ± 1.85                          |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 4C              | 8.29 ± 2.14                          |
| <i>Lc. rhamnosus</i> 2C              | 3.49 ± 0.86                          |
| <i>Lp. plantarum/ pentosus</i> 3C    | 5.02 ± 2.57                          |
| <i>Lp. plantarum/ pentosus</i> 2C2   | 6.16 ± 3.67                          |
| <i>Lc. rhamnosus</i> GG (ATCC 53103) | 38.96 ± 2.52                         |

# Ανταγωνισμός παθογόνων



Welcome to the online database of novel wild type strains - FOODBIOMES.



Register Login

Database of novel wild type strains - FOODBIOMES



| number | Strain code | Genus | Species    | Source | Partner                          | 16s sequencing | Whole Genome sequencing | Gram | catalase/oxidase activity | hemolysis | antibiotics res. zone | MIC antibiotics test | pH tolerance | bile salt tolerance | hydrophobicity | auto-aggregation | BSH production | in vitro digestion | CaCO2 adhesion | a-glucosidase inhibition | in vitro cholesterol lowering activity | cholesterol adhesion | cholesterol trials in rodents | in vivo clinical trials |
|--------|-------------|-------|------------|--------|----------------------------------|----------------|-------------------------|------|---------------------------|-----------|-----------------------|----------------------|--------------|---------------------|----------------|------------------|----------------|--------------------|----------------|--------------------------|----------------------------------------|----------------------|-------------------------------|-------------------------|
| 1      | FBM_1321-   | -     | Goat milk  | DUTH   | Lactococcus lactis subsp. lactis | yes            | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            | yes                | yes            | yes                      | yes                                    |                      |                               |                         |
| 2      | FBM_1327-   | -     | Goat milk  | DUTH   | Lactocaseibacillus paracasei     | yes            | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            | yes                | yes            | yes                      | yes                                    |                      |                               |                         |
| 3      | FBM_1331-   | -     | Goat milk  | DUTH   | Lactococcus lactis subsp. lactis | yes            | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            | yes                | yes            | yes                      | yes                                    |                      |                               |                         |
| 4      | FBM_1332-   | -     | Goat milk  | DUTH   | Lactococcus lactis subsp. lactis |                | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            |                    | yes            |                          |                                        |                      |                               |                         |
| 5      | FBM_1422-   | -     | Sheep milk | DUTH   | Lactiplantibacillus plantarum    |                | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            | yes                | yes            | yes                      |                                        |                      |                               |                         |
| 6      | FBM_1423-   | -     | Sheep milk | DUTH   | Lactocaseibacillus rhamnosus     | yes            | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            | yes                | yes            | yes                      |                                        |                      |                               |                         |
| 7      | FBM_1433-   | -     | Sheep milk | DUTH   | Lactocaseibacillus rhamnosus     | yes            | yes                     | yes  | yes                       | yes       | yes                   | yes                  | yes          | yes                 | yes            | yes              | yes            | yes                | yes            | yes                      | yes                                    |                      |                               |                         |

Copyright © 2022, All Rights reserved



<https://foodbiomes.ksarm.gr/>

Δημιουργία Τράπεζας καλλιεργειών και βάσης δεδομένων μικροβιακών στελεχών



## Article

# New Wild-Type *Lactacaseibacillus rhamnosus* Strains as Candidates to Manage Type 1 Diabetes

Grigorios Nelios <sup>1</sup>, Valentini Santarmaki <sup>1</sup>, Chrysoula Pavlatou <sup>1</sup> , Dimitra Dimitrellou <sup>2</sup> and Yiannis Kourkoutas <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Laboratory of Applied Microbiology and Biotechnology, Department of Molecular Biology & Genetics, Democritus University of Thrace, 68100 Alexandroupolis, Greece; gregnelios@hotmail.com (G.N.); vsantar@mbg.duth.gr (V.S.); cpavlatou@mbg.duth.gr (C.P.)
- <sup>2</sup> Department of Food Science and Technology, Ionian University, 28100 Argostoli, Greece; dimitrellou@gmail.com
- \* Correspondence: ikourkou@mbg.duth.gr; Tel.: +30-25-5103-0633

**Abstract:** The incidence of type 1 diabetes (T1D) has been dramatically increased in developed countries, and beyond the genetic impact, environmental factors, including diet, seem to play an important role in the onset and development of the disease. In this vein, five *Lactacaseibacillus rhamnosus*, isolated from traditional fermented Greek products, were screened for potential probiotic properties, aiming at maintaining gut homeostasis and antidiabetic capability to alleviate T1D symptoms. *L. rhamnosus* cell-free supernatants induced strong growth inhibitory activity against common food spoilage and foodborne pathogenic microorganisms, associated with several diseases, including T1D, and were also able to inhibit  $\alpha$ -glucosidase activity (up to 44.87%), a promising property for alternatives to the antidiabetic drugs. In addition, survival rates up to 36.76% were recorded during the application of the static in vitro digestion model. The strains had no hemolytic activity and were sensitive to common antibiotics suggested by the European Food and Safety Association, apart from chloramphenicol. However, it is highly unlikely that the resistance has been acquired. In conclusion, our results suggest a great health-promoting potential of the newly isolated wild-type *L. rhamnosus* strains, but further confirmation of their efficiency in experimental animal models is considered an essential next research step.

**Keywords:** *Lactacaseibacillus rhamnosus*; type 1 diabetes; probiotics; foodborne pathogens;  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity



**Citation:** Nelios, G.; Santarmaki, V.; Pavlatou, C.; Dimitrellou, D.; Kourkoutas, Y. New Wild-Type *Lactacaseibacillus rhamnosus* Strains as Candidates to Manage Type 1 Diabetes. *Microorganisms* **2022**, *10*, 272. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020272>

Academic Editor: Cinzia Lucia Randazzo

## RESEARCH



## Novel Probiotic Candidates in Artisanal Feta-Type Kefalonian Cheese: Unveiling a Still-Undisclosed Biodiversity

Iliada K. Lappa <sup>1</sup> · Aikaterini Natsia <sup>1</sup> · Dimitra Alimpoumpa <sup>1</sup> · Electra Stylianopoulou <sup>2</sup> · Ioanna Prapa <sup>2</sup> · Konstantinos Tegopoulos <sup>2</sup> · Chrysoula Pavlatou <sup>2</sup> · George Skavdis <sup>2</sup> · Aikaterini Papadaki <sup>1</sup> · Nikolaos Kopsahelis <sup>1</sup>

Accepted: 27 February 2024  
 © The Author(s) 2024

## Abstract

Autochthonous dairy lactic acid bacteria (LAB) isolates encompass a natural source of starter, adjunct, or probiotic candidates. In this context, traditionally manufactured, using exclusively animal rennet, Feta-type cheeses were collected from five farms located in different regions of Kefalonia island (Greece). The primary objective of this study was to isolate and characterize novel LAB, thereby exploring the unmapped microbial communities of Kefalonian Feta-type cheese and identifying new potential probiotics. The initial screening, included a preliminary gastrointestinal (GI) tolerance assessment (acidic conditions and bile salts), followed by their safety evaluation (hemolytic activity and antibiotic susceptibility). Based on the preliminary screening, selected strains underwent molecular identification and were further investigated for their probiotic attributes (lysozyme and phenol resistance, antimicrobial traits, antidiabetic aspects, cholesterol reduction and adhesion, adhesion to Caco-2 cells, and milk acidification potential). The results showed that 49, out of the 93 retrieved isolates, exhibited resistance to GI conditions, whereas 18 met the safety criteria. The molecular identification revealed strains belonging to the species *Lactiplantibacillus plantarum*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactacaseibacillus rhamnosus*, and *Lactacaseibacillus paracasei*. The selected rod-shaped 14 isolates displayed a potential probiotic character. The best-performing isolates concerning cholesterol assimilation and adhesion,  $\alpha$ -glucosidase inhibition, and epithelial adherence were *Lpb. plantarum* F89, F162, and F254 and *Lcb. paracasei* F214 and F216, whereas *Lcb. paracasei* F70 showed potential as a defined strain starter. The present study explores for the first time the biodiversity of traditionally fermented microbial communities in Kefalonian Feta-type cheese, revealing novel potential probiotic strains that can contribute to the development of innovative functional food products.

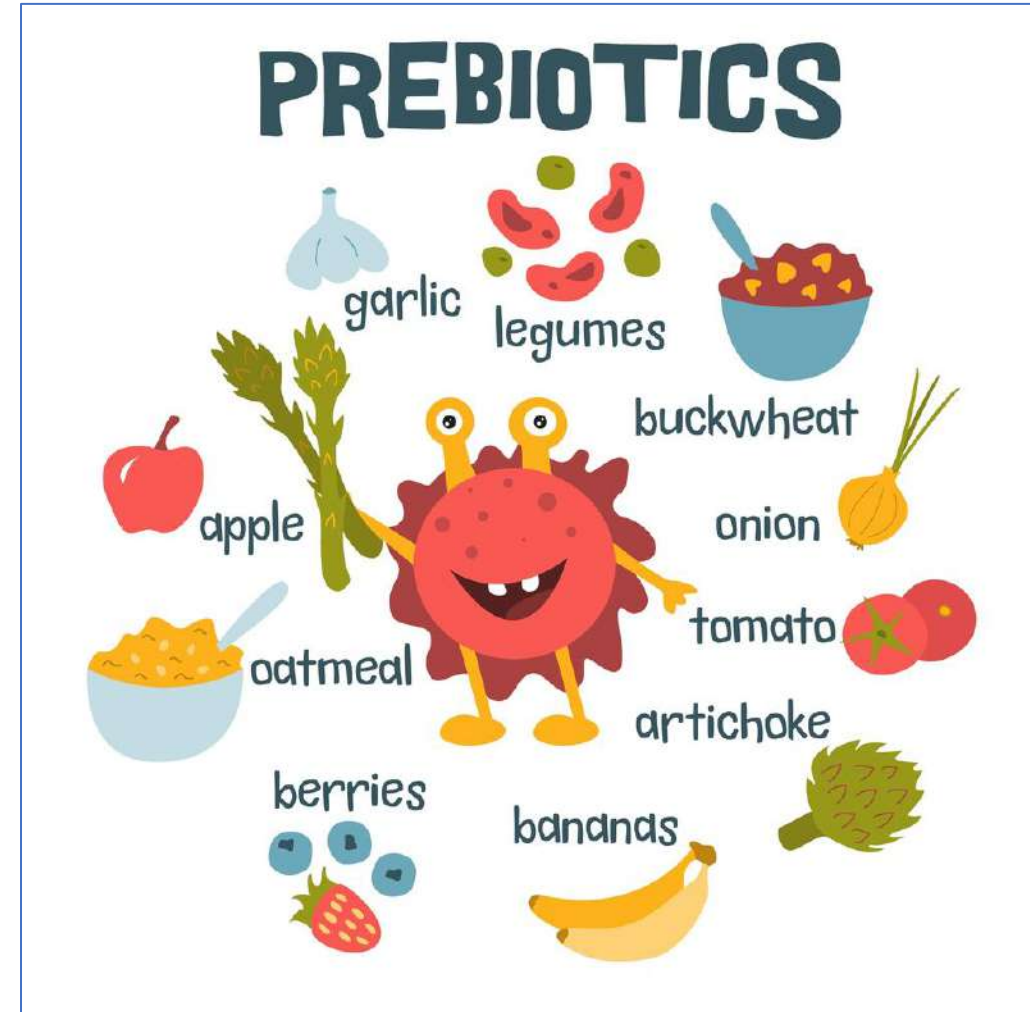
**Keywords:** Autochthonous isolates · Lactic acid bacteria · Probiotic properties · White brine cheese · Functional · Sustainable food systems

# Πρεβιοτικά

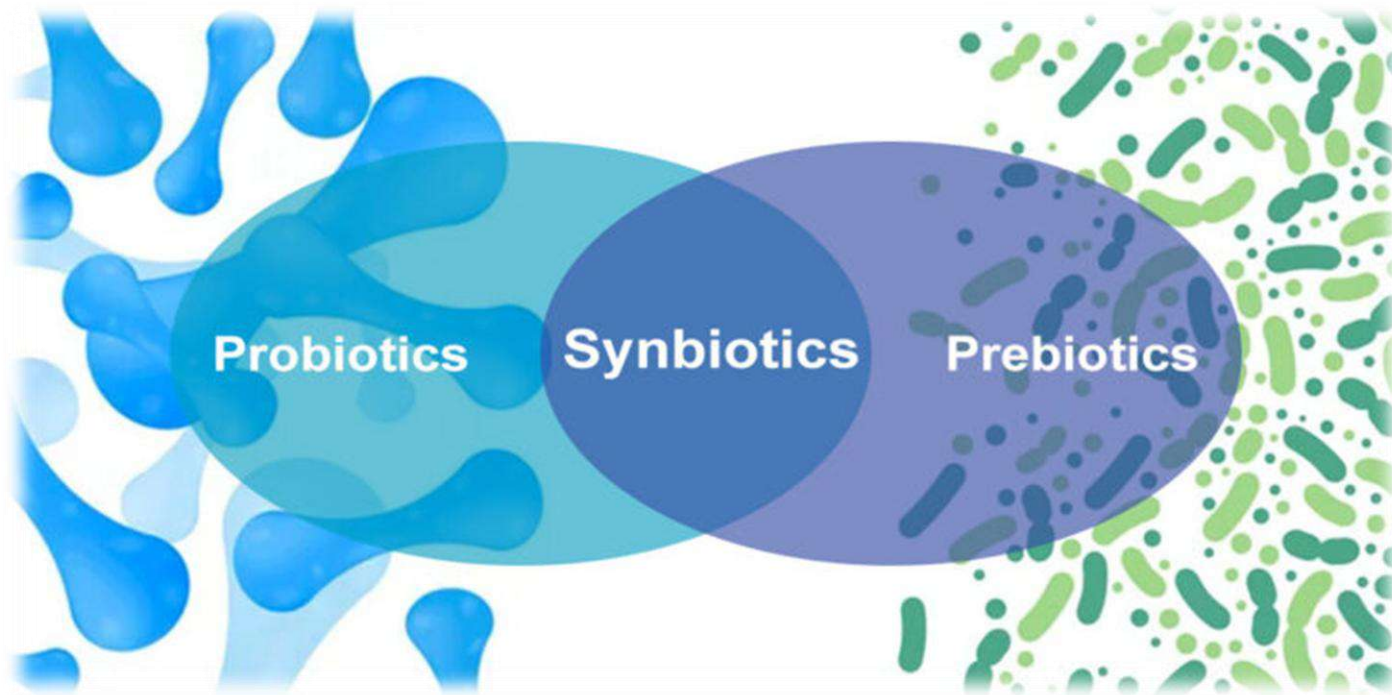
→ Ένα πρεβιοτικό είναι

ένα επιλεκτικά ζυμωμένο τρόφιμο που προκαλεί αλλαγές στη σύνθεση ή/και τη δραστηριότητα της εντερικής μικροχλωρίδας που ωφελούν τον ξενιστή

→ Η «τροφή» των προβιοτικών



# Λειτουργικά τρόφιμα-Συμβιωτικά

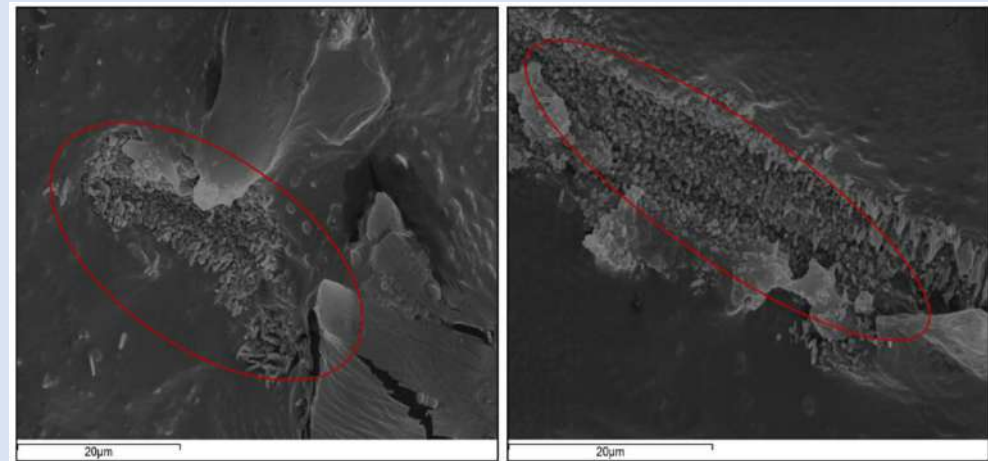
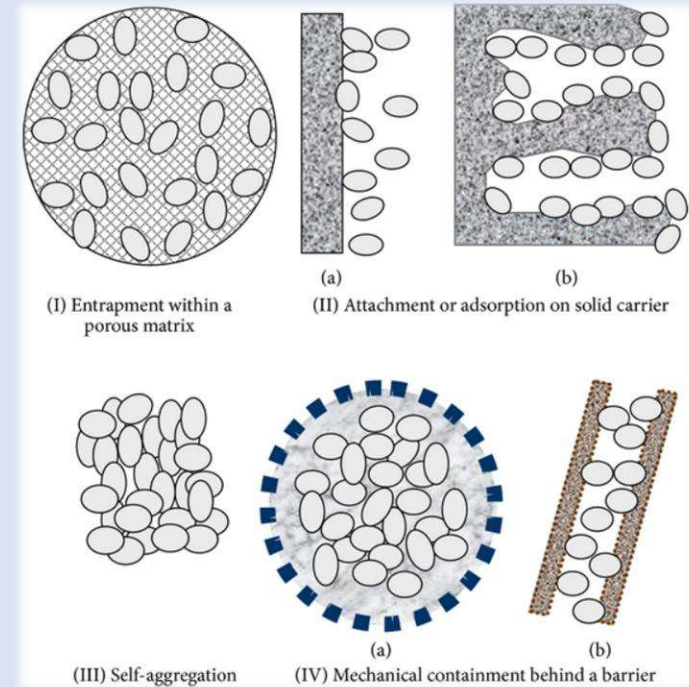


→ προϊόντα που συνδυάζουν **προβιοτικά** και **πρεβιοτικά** με στόχο να παρέχουν συνδυασμένα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου, ιδιαίτερα όσον αφορά τη λειτουργία του εντέρου και τη μικροβιακή ισορροπία

# Ακινητοποίηση προβιοτικών κυττάρων

## Πλεονεκτήματα

- Ελεγχόμενη και συνεχής μεταφορά κυττάρων στο εντερικό επιθήλιο.
- Προστασία έναντι των φυσικοχημικών μεταβολών κατά την αποθήκευση.
- Υψηλά επίπεδα κυτταρικής συγκέντρωσης ( $>9 \log \text{ CFU/g}$ ).
- Μειωμένο ρίσκο μικροβιακής επιμόλυνσης.
- Προστασία έναντι των οξέων του στομάχου.



# Μελέτη επίδρασης των λειτουργικών συστατικών στο μικροβίωμα των ποντικών



Εμβολιασμός θρεπτικού  
μέσου με ανεπτυγμένη  
καλλιέργεια *L. cremoris*



Φυγοκέντρηση  
καλλιέργειας και  
συλλογή  
κυτταρικής  
βιομάζας

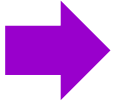


Παραγωγή ξηρής  
(λυοφιλωμένης)  
βιομάζας κυττάρων



Μονάδα ζωικών  
μοντέλων

# Παραγωγή ξηρών ακινητοποιημένων προβιοτικών καλλιεργείων σε ημι-πilotική κλίμακα



Εμβολιασμός θρεπτικού  
μέσου με ανεπτυγμένη  
καλλιέργεια *L. cremoris*



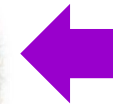
Φυγοκέντρηση  
καλλιέργειας και  
συλλογή  
κυτταρικής  
βιομάζας



Ακινητοποίηση  
κυττάρων *L.*  
*cremoris* σε  
νιφάδες βρώμης



Ημερήσια δόση:  $3\text{g}/2 \times 10^9 \text{ cfu}$



Ξήρανση  
ακινητοποιημένων  
κυττάρων *L. cremoris*  
(λυοφιλίωση)

# Παραγωγή ξηρών ακινητοποιημένων προβιοτικών καλλιεργείων σε ημι-πilotική κλίμακα

Εμβολιασμός θρεπτικού  
μέσου με ανεπτυγμένη  
καλλιέργεια *L. cremoris*



Φυγοκέντρηση  
καλλιέργειας και  
συλλογή  
κυτταρικής  
βιομάζας



Ακινητοποίηση  
κυττάρων *L.  
cremoris* σε  
σκόνη μπανάνας



Ημερήσια δόση:  $5\text{g}/2 \times 10^9 \text{ cfu}$



Ξήρανση  
ακινητοποιημένων  
κυττάρων *L. cremoris*  
(λυοφιλίωση)

# Ξηρές ακινητοποιημένες προβιοτικές καλλιέργειες

## Φορείς ακινητοποίησης



Νιφάδες  
βρώμης



Αλεύρι πράσινης  
μπανάνας



Ηλιόσπορος



B- γλυκάνες



Πρωτεΐνη  
τυρογάλακτος



Φουντούκι



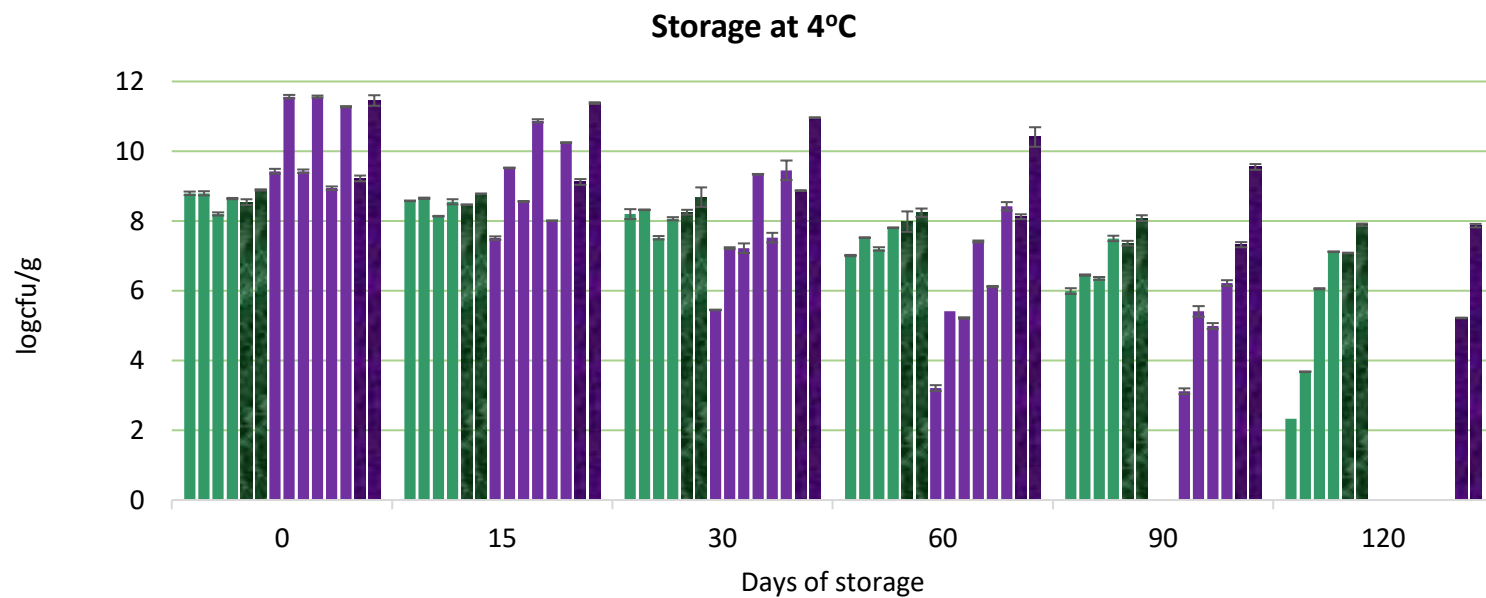
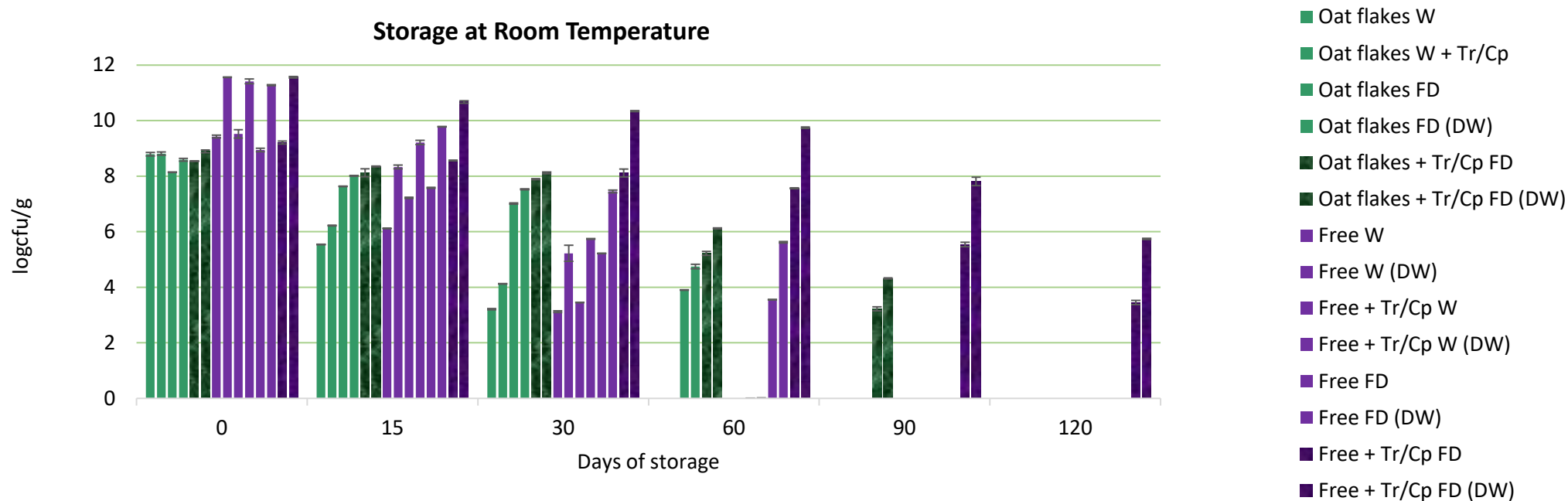
Ακίνητοποίηση  
κυττάρων *L. cremoris*



Ξήρανση  
ακινητοποιημένων  
κυττάρων *L. cremoris*  
(λυσφιλίωση)



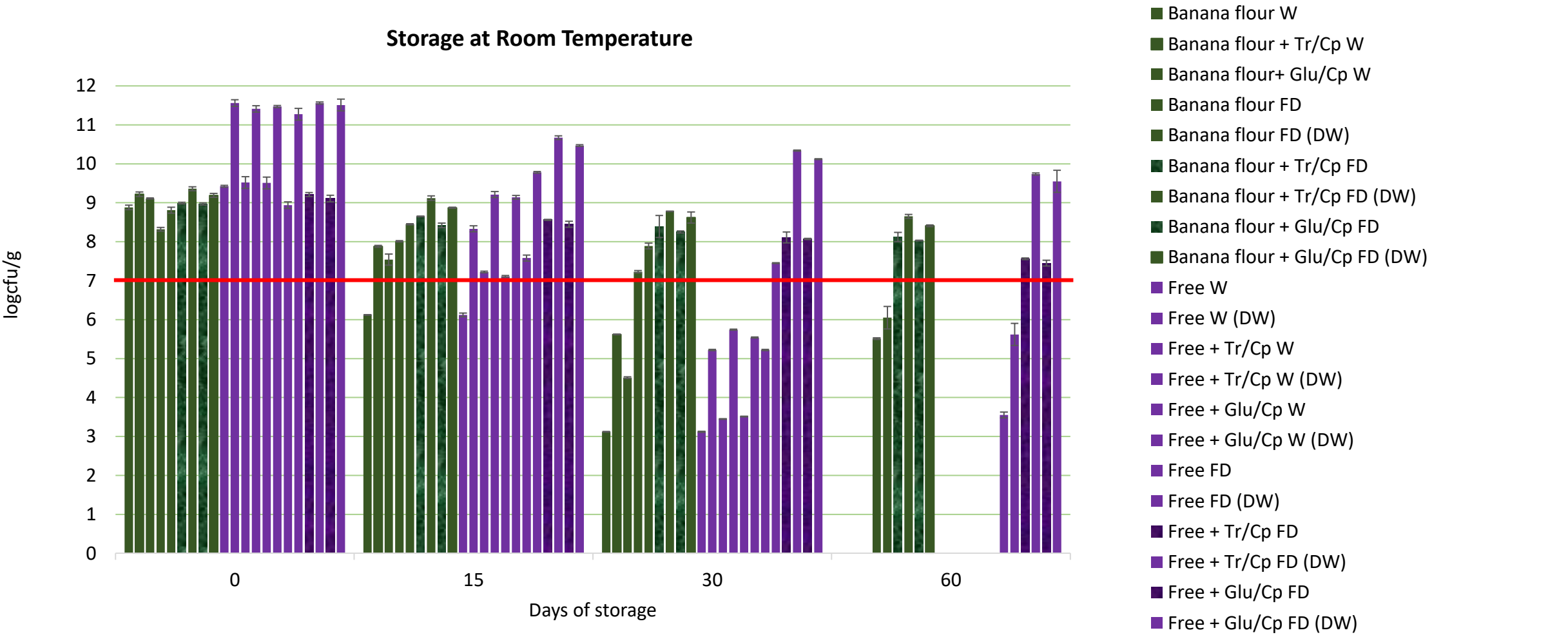
Ανεπτυγμένη  
καλλιέργεια *L. cremoris*



Μελέτη της βιωσιμότητας  
ξηρών ακινητοποιημένων  
κυττάρων *L. cremoris* σε  
νιφάδες βρώμης κατά την  
αποθήκευση

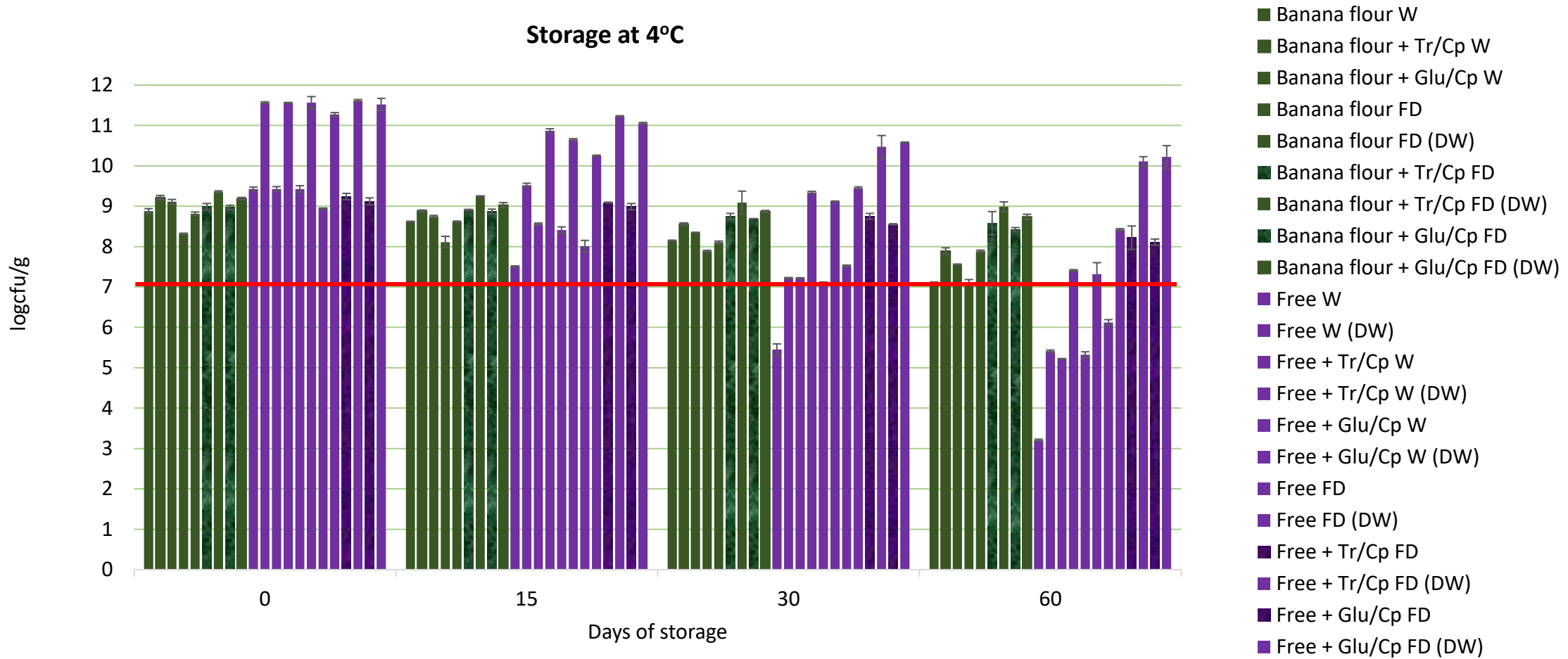
*Tr/Cp: 10% Trehalose as  
cryoprotectant*

# Μελέτη της βιωσιμότητας ξηρών ακινητοποιημένων κυττάρων *L. cremoris* σε σκόνη μπανάνας κατά την αποθήκευση (RT)



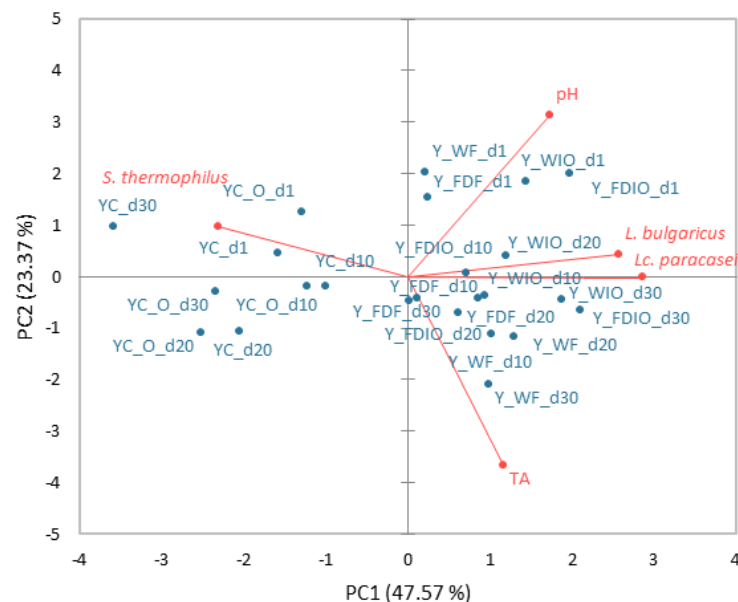
Tr/Cp: 10% Trehalose ,  
Glu/Cp: 10% Glucose as cryoprotectants

# Μελέτη της βιωσιμότητας ξηρών ακινητοποιημένων κυττάρων *L. cremoris* σε σκόνη μπανάνας κατά την αποθήκευση (4°C)

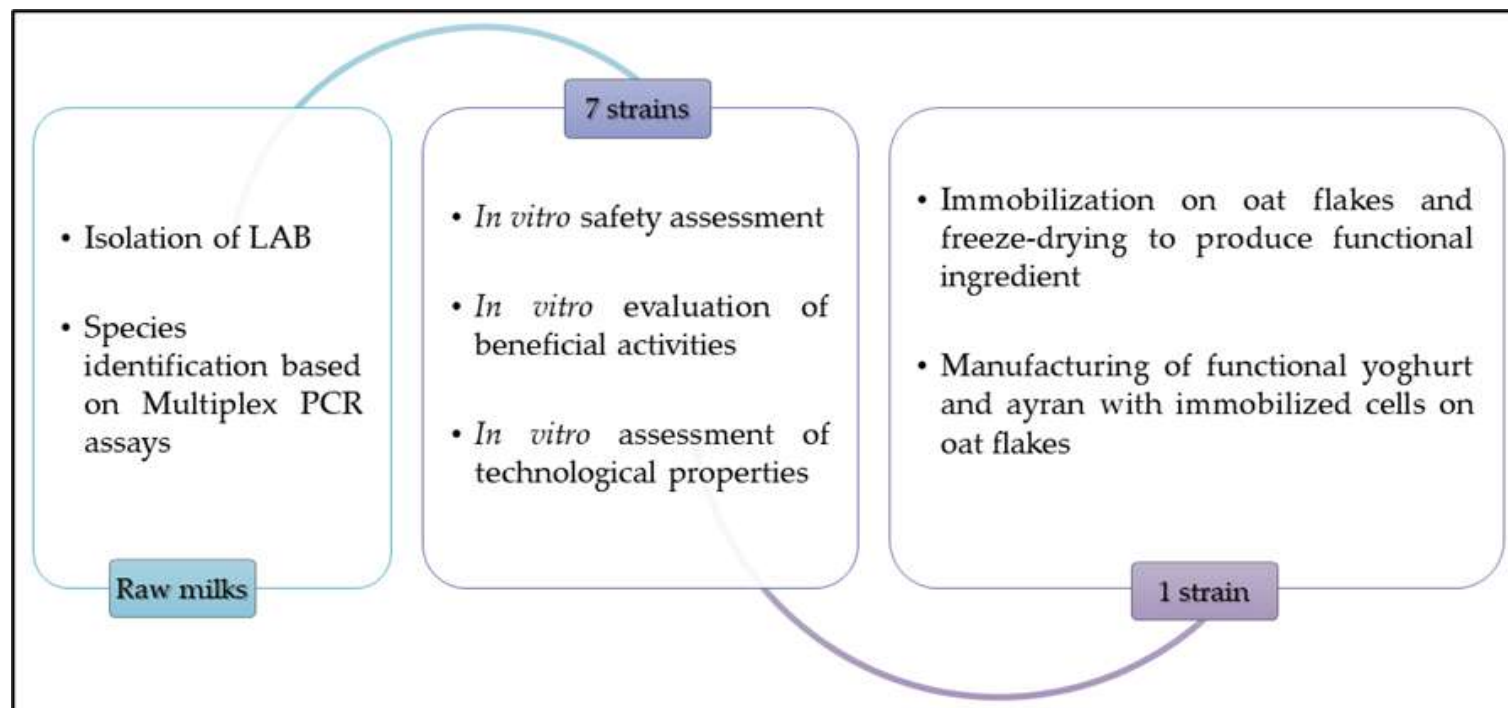
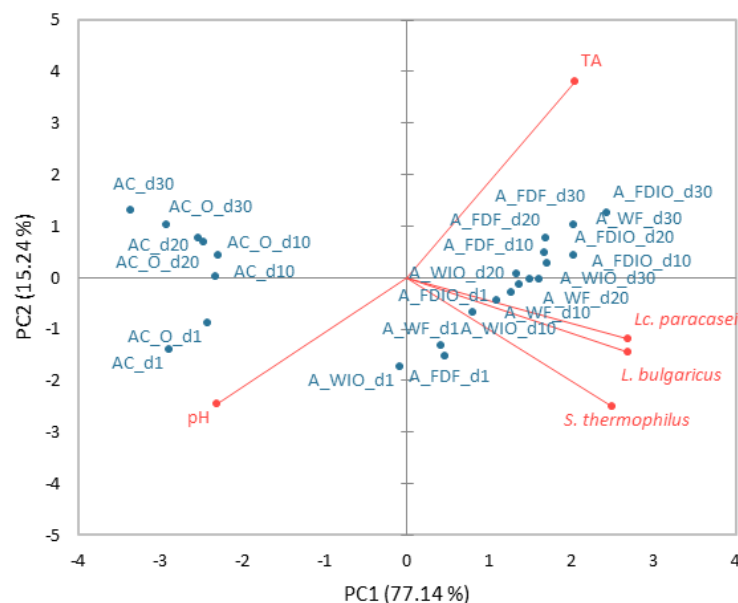


*Tr/Cp: 10% Trehalose ,*  
*Glu/Cp: 10% Glucose as cryoprotectants*

**Yoghurt Biplot**



**Ayran Biplot**



fermentation



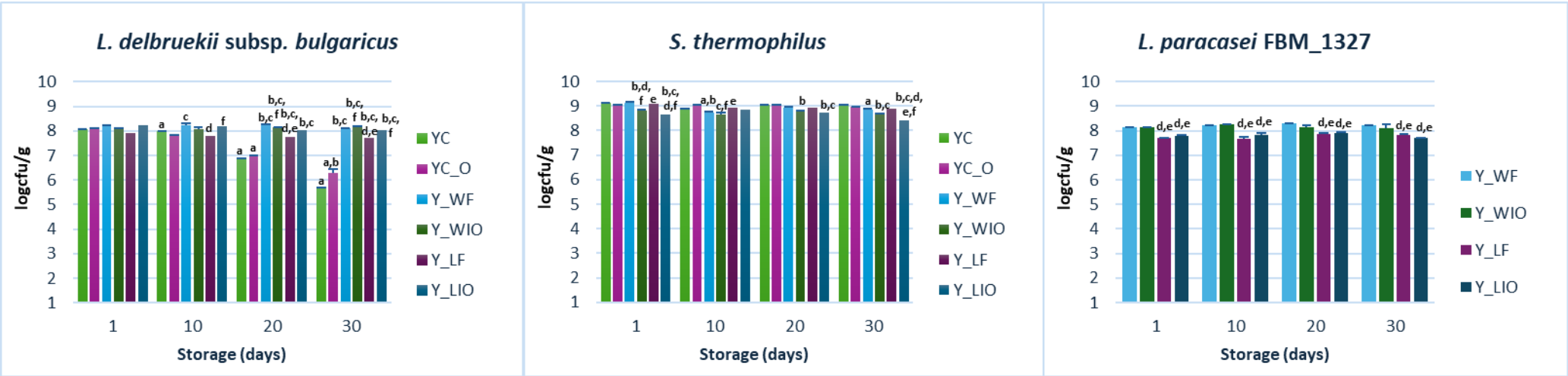
Article

# A Novel Wild-Type *Lacticaseibacillus paracasei* Strain Suitable for the Production of Functional Yoghurt and Ayran Products

Ioanna Prapa <sup>1</sup>, Chrysoula Pavlatou <sup>1</sup>, Vasiliki Kompoura <sup>1</sup>, Anastasios Nikolaou <sup>1</sup>, Electra Stylianopoulou <sup>2</sup>, George Skavdis <sup>3</sup>, Maria E. Grigoriou <sup>2</sup> and Yiannis Kourkoutas <sup>1,\*</sup>

<https://doi.org/10.3390/fermentation11010037>

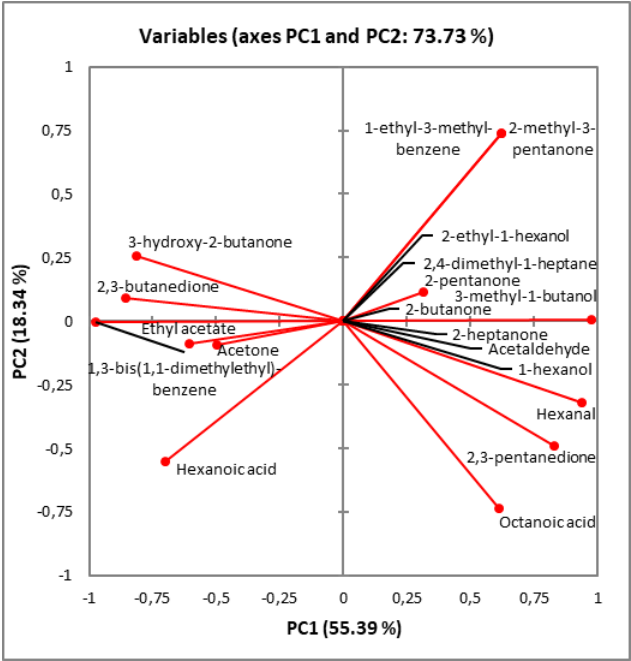
# Γιαούρτι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. paracasei* σε νιφάδες βρώμης



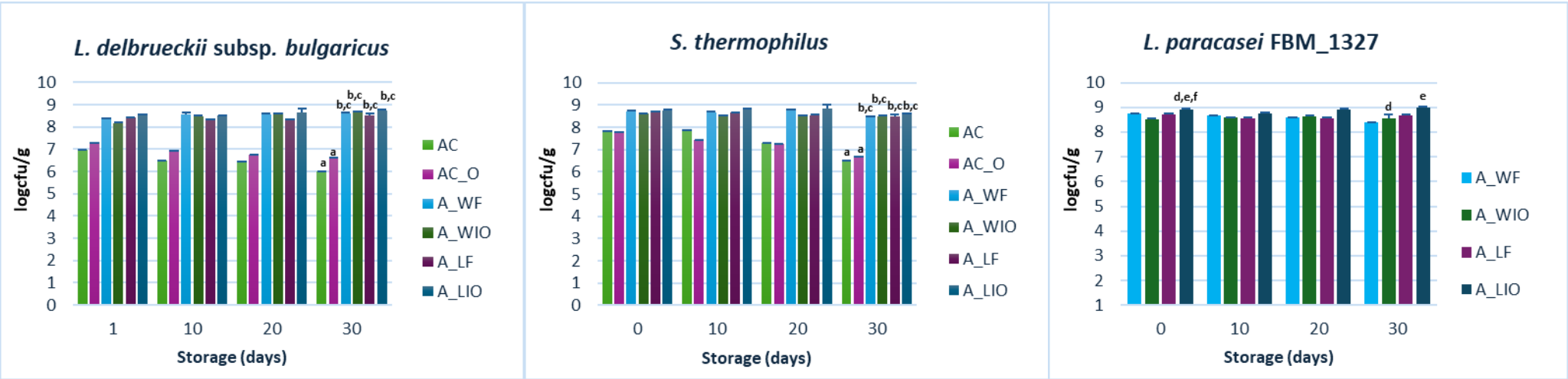
| Parameter              | Storage time (days) | YC          | YC_O                     | Y_WF                         | Y_WIO                        | Y_LF                         | Y_LIO                          |
|------------------------|---------------------|-------------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| pH                     | 1                   | 4.32 ± 0.03 | 4.38 ± 0.02              | 4.48 ± 0.04 <sup>b</sup>     | 4.49 ± 0.01 <sup>b,c</sup>   | 4.57 ± 0.01 <sup>b</sup>     | 4.60 ± 0.01 <sup>b,c,d</sup>   |
|                        | 10                  | 4.31 ± 0.02 | 4.35 ± 0.01              | 4.29 ± 0.01 <sup>a</sup>     | 4.33 ± 0.02 <sup>a</sup>     | 4.30 ± 0.02 <sup>a</sup>     | 4.36 ± 0.01 <sup>a</sup>       |
|                        | 20                  | 4.30 ± 0.02 | 4.27 ± 0.02              | 4.41 ± 0.02 <sup>a,c</sup>   | 4.46 ± 0.02 <sup>a,b,c</sup> | 4.44 ± 0.03 <sup>b,c</sup>   | 4.28 ± 0.05 <sup>a,d,e,f</sup> |
|                        | 30                  | 4.31 ± 0.02 | 4.34 ± 0.01              | 4.30 ± 0.01 <sup>a</sup>     | 4.30 ± 0.06 <sup>b,c,d</sup> | 4.46 ± 0.01 <sup>a,e</sup>   | 4.41 ± 0.04 <sup>a</sup>       |
| Titratable acidity (%) | 1                   | 0.68 ± 0.06 | 0.59 ± 0.06              | 0.59 ± 0.06                  | 0.69 ± 0.01                  | 0.68 ± 0.06                  | 0.66 ± 0.06                    |
|                        | 10                  | 0.73 ± 0.01 | 0.83 ± 0.03              | 0.86 ± 0.06 <sup>a</sup>     | 0.82 ± 0.01                  | 0.72 ± 0.01                  | 0.75 ± 0.08                    |
|                        | 20                  | 0.90 ± 0.13 | 0.86 ± 0.06 <sup>a</sup> | 1.09 ± 0.01 <sup>a</sup>     | 0.99 ± 0.13 <sup>a,d</sup>   | 0.78 ± 0.08                  | 0.77 ± 0.07 <sup>d</sup>       |
|                        | 30                  | 0.50 ± 0.06 | 0.77 ± 0.06 <sup>b</sup> | 1.10 ± 0.08 <sup>a,b,c</sup> | 0.77 ± 0.06 <sup>b</sup>     | 0.95 ± 0.06 <sup>a,b,d</sup> | 0.87 ± 0.08 <sup>b</sup>       |

# Γιαούρτι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. paracasei* σε νιφάδες βρώμης

| Yoghurt fermented milk products      |                          |             |             |             |             |             |
|--------------------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Sensory characteristic               | Description              | YC          | YC_O        | Y_LF        | Y_LIO       | Commercial  |
| Appearance                           | Smoothness               | 4.23 ± 0.73 | 4.00 ± 1.00 | 3.92 ± 1.04 | 4.00 ± 1.08 | 2.77 ± 1.17 |
|                                      | Bubbles                  | 1.15 ± 0.38 | 1.31 ± 0.63 | 1.15 ± 0.38 | 1.31 ± 0.63 | 1.31 ± 0.48 |
|                                      | Syneresis                | 3.31 ± 1.18 | 2.31 ± 1.03 | 2.54 ± 1.20 | 2.85 ± 1.21 | 1.15 ± 0.28 |
| Aroma                                | Milk-like                | 1.93 ± 1.11 | 1.53 ± 0.69 | 1.16 ± 0.87 | 2.00 ± 0.88 | -           |
|                                      | Neutral                  | -           | -           | -           | -           | 1.62 ± 0.77 |
| Texture (in the spoon)               | Cohesion                 | 2.69 ± 0.85 | 3.38 ± 0.87 | 3.00 ± 0.91 | 2.92 ± 0.76 | 4.38 ± 0.65 |
|                                      | Syneresis                | 3.00 ± 1.35 | 2.15 ± 0.90 | 2.15 ± 0.80 | 3.08 ± 1.04 | 2.15 ± 1.68 |
|                                      | Stickiness               | 2.00 ± 1.00 | 3.15 ± 1.07 | 2.54 ± 1.05 | 2.08 ± 0.64 | 4.62 ± 0.65 |
|                                      | Residues                 | 1.92 ± 1.19 | 2.92 ± 1.12 | 2.00 ± 1.15 | 2.62 ± 1.04 | 2.77 ± 1.64 |
| Texture (when tasted)                | Cohesion                 | 3.00 ± 1.47 | 3.00 ± 0.91 | 3.15 ± 1.14 | 2.85 ± 1.41 | 4.38 ± 0.65 |
|                                      | Syneresis                | 2.08 ± 0.95 | 2.54 ± 1.20 | 2.08 ± 0.86 | 2.31 ± 1.11 | 3.23 ± 1.24 |
|                                      | Stickiness               | 1.77 ± 0.93 | 2.46 ± 0.97 | 1.62 ± 0.77 | 1.54 ± 0.66 | 3.15 ± 1.41 |
|                                      | Existence of solid parts | 1.00 ± 0.00 | 3.31 ± 1.03 | 1.15 ± 0.55 | 2.69 ± 1.03 | 1.00 ± 0.00 |
|                                      | Grains                   | 1.00 ± 0.00 | 2.54 ± 1.20 | 1.00 ± 0.00 | 2.08 ± 1.19 | 1.00 ± 0.00 |
| Flavour                              | Sour                     | 2.08 ± 1.24 | 2.15 ± 0.85 | 2.46 ± 0.78 | -           | 2.23 ± 1.08 |
|                                      | Sweet                    | -           | -           | -           | 1.23 ± 0.77 | -           |
| Aftertaste (% of positive responses) |                          | 71.43%      | 100%        | 71.43%      | 71.43%      | 100%        |
| Overall evaluation                   |                          | 3.46 ± 1.27 | 3.31 ± 1.44 | 3.00 ± 1.00 | 2.92 ± 1.26 | 4.23 ± 1.01 |



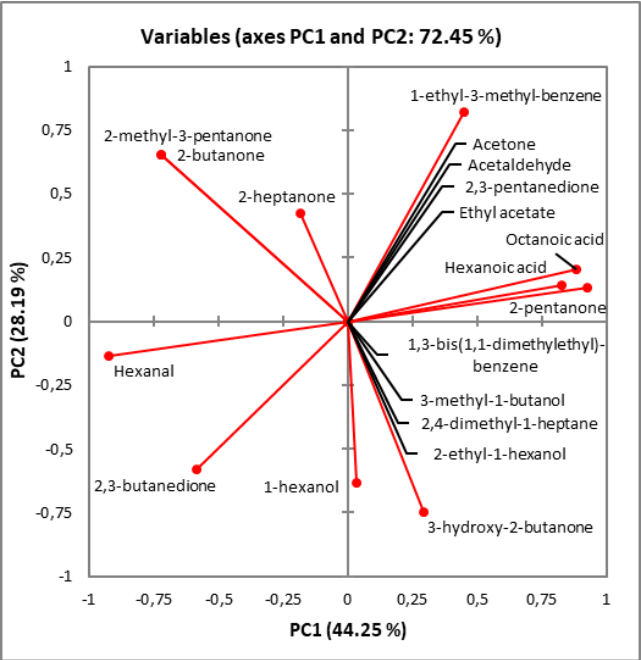
Αριάνι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. paracasei* σε νιφάδες βρώμης



| Parameter              | Storage time (days) | AC          | AC_O        | A_WF                           | A_WIO                          | A_LF                         | A_LIO                        |
|------------------------|---------------------|-------------|-------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| pH                     | 1                   | 4.19 ± 0.05 | 4.21 ± 0.03 | 4.14 ± 0.02                    | 4.14 ± 0.02                    | 4.04 ± 0.03                  | 4.14 ± 0.02                  |
|                        | 10                  | 4.13 ± 0.00 | 4.15 ± 0.03 | 3.96 ± 0.00                    | 3.96 ± 0.00                    | 3.92 ± 0.03                  | 3.96 ± 0.00                  |
|                        | 20                  | 4.11 ± 0.00 | 4.16 ± 0.01 | 3.89 ± 0.04                    | 3.89 ± 0.04                    | 3.86 ± 0.01                  | 3.89 ± 0.04                  |
|                        | 30                  | 4.11 ± 0.01 | 4.12 ± 0.01 | 3.82 ± 0.04 <sup>a,b,c</sup>   | 3.82 ± 0.04 <sup>a,b,c</sup>   | 3.76 ± 0.04 <sup>a,b,c</sup> | 3.82 ± 0.04 <sup>a,b,c</sup> |
| Titratable acidity (%) | 1                   | 0.59 ± 0.07 | 0.88 ± 0.04 | 1.20 ± 0.07                    | 0.96 ± 0.03                    | 0.97 ± 0.07                  | 1.62 ± 0.03                  |
|                        | 10                  | 1.08 ± 0.03 | 1.21 ± 0.00 | 1.47 ± 0.04                    | 1.17 ± 0.09                    | 1.47 ± 0.04                  | 1.69 ± 0.04                  |
|                        | 20                  | 1.20 ± 0.07 | 1.26 ± 0.00 | 1.45 ± 0.04                    | 1.28 ± 0.03                    | 1.66 ± 0.06                  | 1.69 ± 0.01                  |
|                        | 30                  | 1.15 ± 0.01 | 1.17 ± 0.09 | 1.49 ± 0.01 <sup>a,b,c,d</sup> | 1.29 ± 0.04 <sup>a,b,c,e</sup> | 1.64 ± 0.00 <sup>a</sup>     | 1.90 ± 0.04 <sup>a</sup>     |

# Αριάνι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. paracasei* σε νιφάδες βρώμης

| Ayrar fermented milk products |                          |            |            |            |                          |                           |
|-------------------------------|--------------------------|------------|------------|------------|--------------------------|---------------------------|
| Sensory characteristic        | Description              | C          | AC         | AC_O       | A_LF                     | A_LIO                     |
| Appearance                    | Watery                   | 2.4 ± 0.8  | 3.5 ± 1.1  | -          | 1.8 ± 0.8                | -                         |
|                               | Creamy                   | 1.4 ± 0.9  | -          | 1.45 ± 0.8 | 2.0 ± 1.5                | 1.9 ± 1.0                 |
|                               | Existence of solid parts | -          | -          | 3.5 ± 1.10 | -                        | 3.7 ± 1.3                 |
| Colour                        | White                    | 3.4 ± 1.19 | 3.7 ± 1.03 | 3.6 ± 0.8  | 3.2 ± 0.9                | -                         |
|                               | Off-white                | -          | -          | 2.3 ± 1.1  | -                        | 3.5 ± 0.6                 |
|                               | Light yellow             | 1.2 ± 0.52 | 1.1 ± 0.5  | 3.2 ± 0.7  | 2.5 ± 0.55               | 1.7 ± 1.1                 |
| Aroma                         | Creamy                   | 3.5 ± 0.9  | 2.3 ± 0.9  | 1.5 ± 0.9  | 2.2 ± 0.8                | 1.5 ± 0.8                 |
|                               | Cereal-like              | -          | -          | 2.9 ± 0.9  | -                        | 3.4 ± 0.9 <sup>b</sup>    |
| Texture                       | Watery                   | 2.3 ± 0.4  | 3.9 ± 0.8  | 2.8 ± 1.1  | 1.4 ± 0.8                | -                         |
|                               | Creamy                   | 3.0 ± 0.8  | -          | -          | 2.7 ± 0.7 <sup>a,b</sup> | 3.7 ± 0.80 <sup>a,b</sup> |
|                               | Existence of solid parts | -          | -          | 3.1 ± 0.7  | -                        | 3.6 ± 0.7                 |
| Flavour                       | Sour                     | 2.7 ± 0.7  | 2.5 ± 0.9  | 2.4 ± 0.8  | 2.1 ± 0.7                | 2.6 ± 0.5                 |
|                               | Sweet-and-sour           | -          | 1.0 ± 0.2  | 2.5 ± 0.8  | 2.8 ± 0.7 <sup>a,b</sup> | 3.7 ± 0.8 <sup>a,b</sup>  |
|                               | Salty                    | 1.3 ± 0.8  | 1.2 ± 0.8  | -          | 1.3 ± 0.9                | 2.0 ± 0.3                 |
| Overall evaluation            |                          | 3.8 ± 0.9  | 2.7 ± 0.9  | 3.1 ± 0.9  | 3.4 ± 0.7                | 3.8 ± 1.0                 |



# Φυτικά εκχυλίσματα

- Βιολογικές δράσεις: αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδης, αντικαρκινική
- Τα τελευταία χρόνια, γίνεται προσπάθεια για δραστική μείωση ή και εξάλειψη των χημικών συντηρητικών στα τρόφιμα και την υιοθέτηση εναλλακτικών και φυσικών μορφών συντήρησης (π.χ. χρήση βιοσυντηρητικών)
- Πρόσφατα, έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων και της βιομηχανίας τροφίμων ως πιθανοί ενισχυτές ανάπτυξης ευεργετικών μικροοργανισμών (πρεβιοτικά), καθώς η προσθήκη τους στη βέλτιστη συγκέντρωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη λειτουργική ρύθμιση του μικροβιώματος των τροφίμων.



# Πρεβιοτική δράση φυτικών εκχυλισμάτων

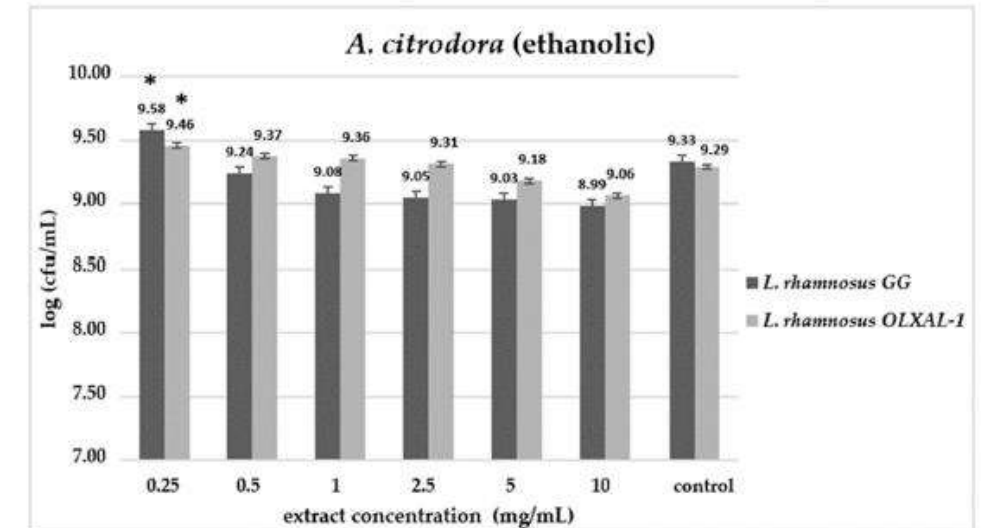
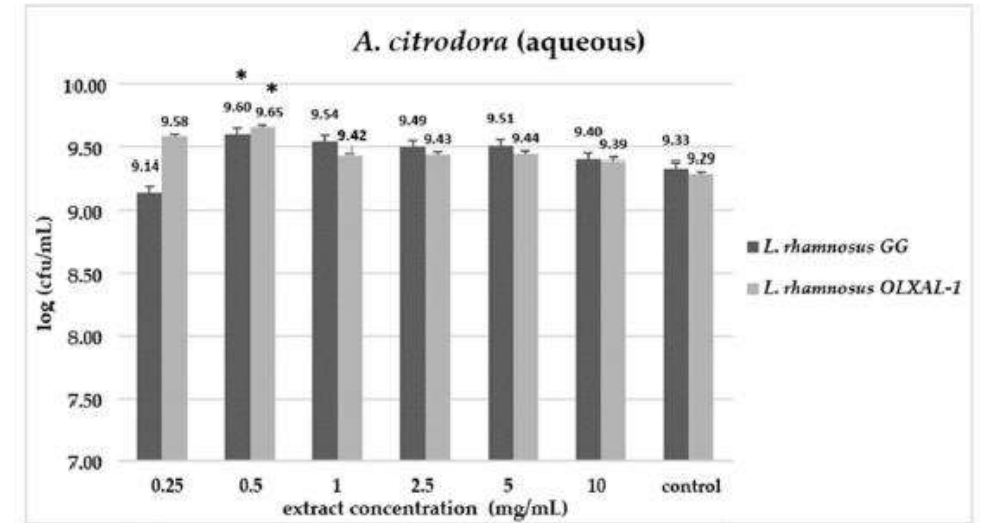
**Table 5.** Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) (mg/(dry matter)/mL) of *A. citrodora* aqueous and ethanolic extracts against common food-spoilage and pathogenic bacteria.

| Microbial Species       | <i>A. citrodora</i><br>(Aqueous) |     | <i>A. citrodora</i><br>(Ethanolic) |      |
|-------------------------|----------------------------------|-----|------------------------------------|------|
|                         | MIC                              | MBC | MIC                                | MBC  |
| <i>S. Enteritidis</i>   | 12.5                             | 50  | 6.25                               | 25   |
| <i>S. Typhimurium</i>   | 12.5                             | 50  | 6.25                               | 25   |
| <i>L. monocytogenes</i> | 6.25                             | 25  | 1.56                               | 6.25 |
| <i>E. coli</i>          | NA                               | NA  | 12.5                               | 50   |
| <i>S. aureus</i>        | 6.25                             | 25  | 3.12                               | 12.5 |

NA: no activity.

# Πρεβιοτική δράση φυτικών εκχυλισμάτων

<https://doi.org/10.3390/app13063663>



# Τυρί τύπου φέτα

| Προβιοτικό<br>στέλεχος | Περίπτωση                                                                         |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| -                      | <i>S. officinalis</i>                                                             |
| -                      | <i>S. officinalis</i> και<br>ηλιόσπορος                                           |
| <i>L. paracasei</i>    | <i>S. officinalis</i> και<br>λυοφιλιωμένα ελεύθερα κύτταρα                        |
| <i>L. paracasei</i>    | <i>S. officinalis</i> και λυοφιλιωμένα<br>ακίνητοποιημένα κύτταρα σε<br>ηλιόσπορο |



| Προβιοτικό<br>στέλεχος | Περίπτωση                                                                                                     |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| -                      | <i>L. monocytogenes</i>                                                                                       |
| <i>L. paracasei</i>    | <i>L. monocytogenes</i> και λυοφιλιωμένα<br>ελεύθερα κύτταρα                                                  |
| <i>L. paracasei</i>    | <i>L. monocytogenes</i> και λυοφιλιωμένα<br>ακίνητοποιημένα κύτταρα σε<br>ηλιόσπορο                           |
| -                      | <i>S. officinalis</i> και <i>L. monocytogenes</i>                                                             |
| <i>L. paracasei</i>    | <i>S. officinalis</i> και <i>L. monocytogenes</i><br>και λυοφιλιωμένα ελεύθερα<br>κύτταρα                     |
| <i>L. paracasei</i>    | <i>S. officinalis</i> και <i>L. monocytogenes</i><br>και λυοφιλιωμένα ακίνητοποιημένα<br>κύτταρα σε ηλιόσπορο |



# Καινοτόμα προϊόντα

Διαγωνισμοί καινοτομίας:

Trophy challenge

Νιφάδες βρώμης με προβιοτικό στέλεχος και υδατικό εκχύλισμα *S. officinalis* σε εδώδιμη συσκευασία



Ecotrophelia

- Γιαούρτι με προβιοτικό στέλεχος και υδατικό εκχύλισμα *A. holosericae* και γιαούρτι vegan
- με προβιοτικό στέλεχος και υδατικό εκχύλισμα *S. officinalis*

Γιαούρτι με *L. rhamnosus* και  
υδατικό εκχύλισμα *C. albidus*  
(λαδανιά)



# «Σχεδιασμός και ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων με καλλιέργειες αγρίου τύπου»



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΡΑΚΗΣ

DEMOCRITUS  
UNIVERSITY  
OF THRACE

Πράπα Ιωάννα, Μοριακή Βιολόγος & Γενετίστρια, PhD  
Διδάσκουσα στα πλαίσια του προγράμματος «Απόκτηση ακαδημαϊκής εμπειρίας σε νέους επιστήμονες κατόχους διδακτορικού»

[iprapa@mbg.duth.gr](mailto:iprapa@mbg.duth.gr)  
[ioannaprap@gmail.com](mailto:ioannaprap@gmail.com)

17 Ιανουαρίου 2025

Διάλεξη στα πλαίσια του ΠΜΣ "ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ ΣΤΗ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ"  
ΧΕΙΜ. ΕΞΑΜ WEEK 5

