

«Απομόνωση *In vitro* αξιολόγηση ευεργετικών ιδιοτήτων νέων στελεχών γαλακτικών βακτηρίων αγρίου τύπου & Δοκιμές εισαγωγής των νέων στελεχών σε τρόφιμα»



Πράπα Ιωάννα, Μοριακή Βιολόγος & Γενετίστρια, PhD

Διδάσκουσα στα πλαίσια του προγράμματος «Απόκτηση ακαδημαϊκής εμπειρίας σε νέους επιστήμονες κατόχους διδακτορικού»

iprapa@mbg.duth.gr

ioannaprap@gmail.com

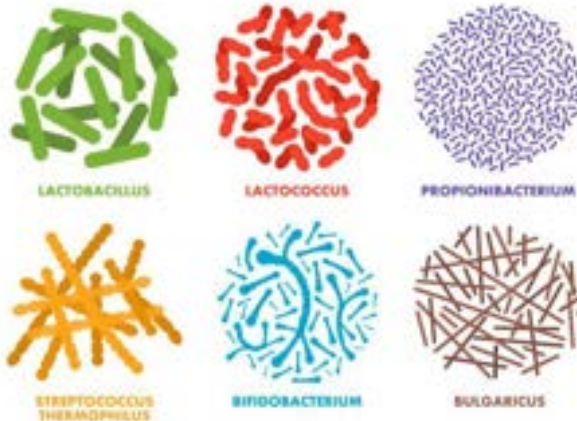
31 Οκτωβρίου 2024

Μοριακή Βιοτεχνολογία και Διατροφή-Εβδομάδα 4

Προβιοτικά



PROBIOTICS



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).

Κριτήρια επιλογής

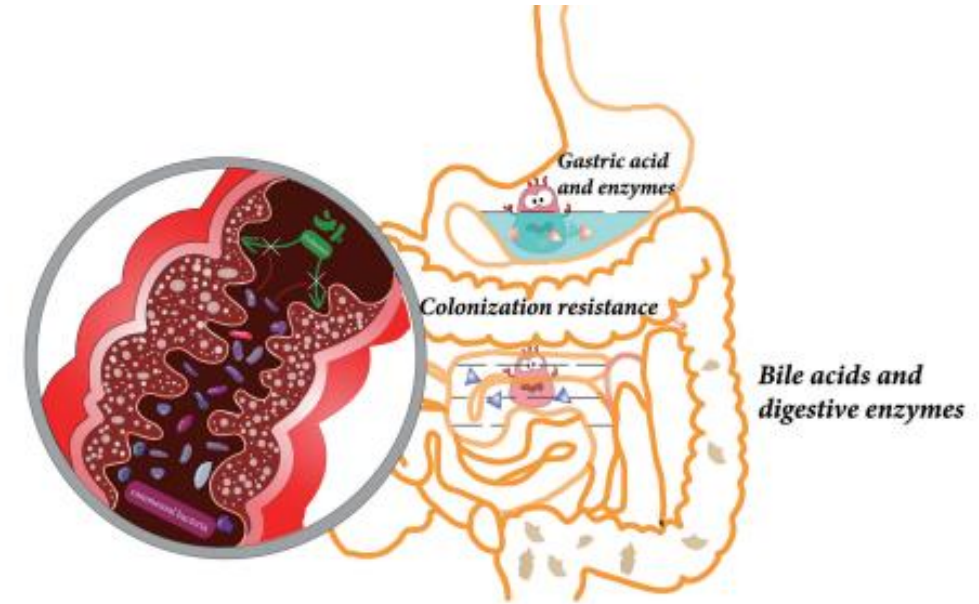
Ένας προβιοτικός μικροοργανισμός **πρέπει** να :

- 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)

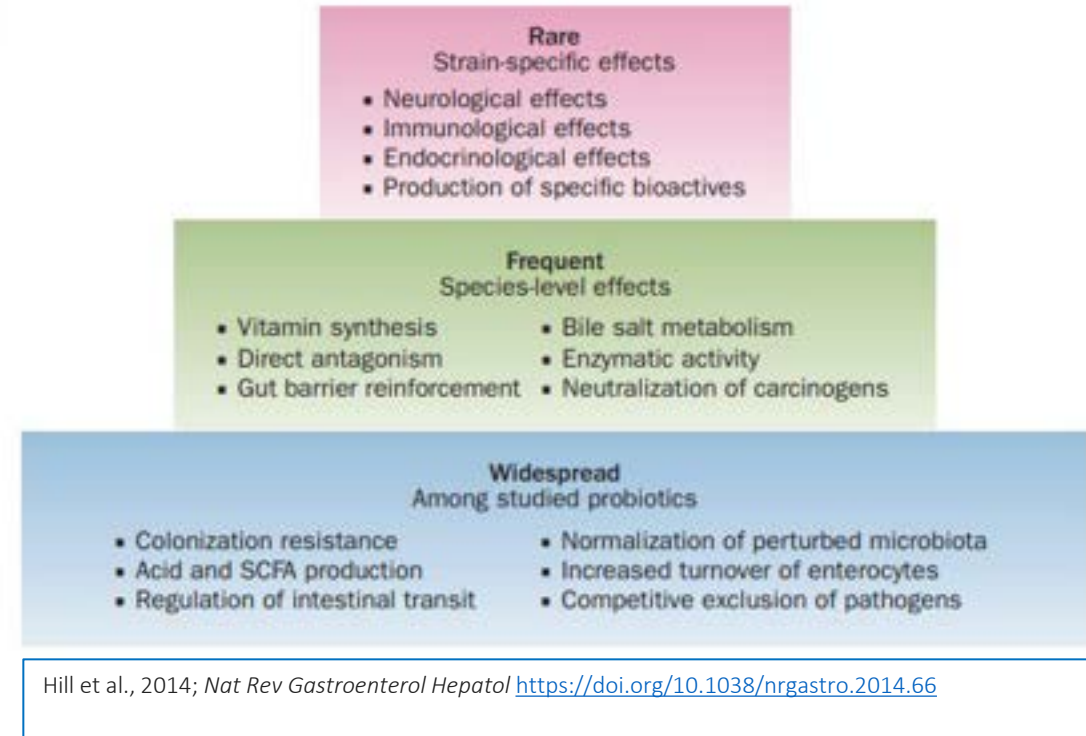


Han et al., 2021; *Front. Cell. Infect. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722>

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



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 OPINION¹

**Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of
human and veterinary importance²**

**EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed
(FEEDAP)^{3,4}**

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

Endorsed for public consultation on 1 February 2012

Απομόνωση νέων αγρίου τύπου στελεχών

Ζυμωμένα τρόφιμα
(γαλακτοκομικά και μη)

Ανθρώπινη προέλευση
(μητρικό γάλα, εντερικός ιστός,
κόπρανα)



In vitro αξιολόγηση ασφάλειας & προβιοτικών ιδιοτήτων

Κριτήρια ασφαλείας:

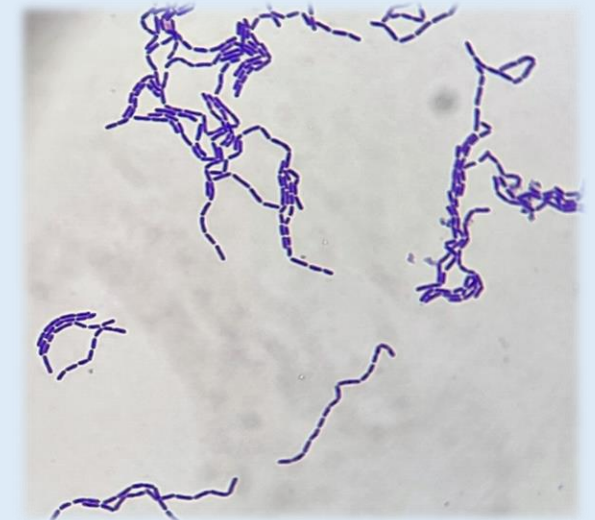
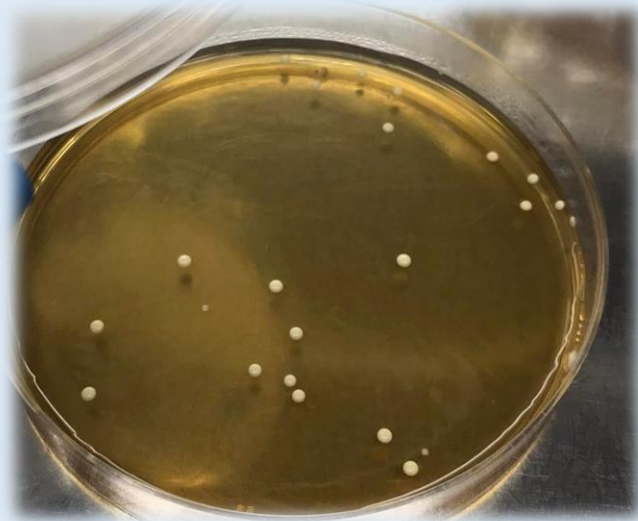
- ❖ Έλεγχος για αιμολυτική δράση
- ❖ Έλεγχος ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και προσδιορισμός της ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) αντιβιοτικών (EFSA-European Food Safety Authority,2012)

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



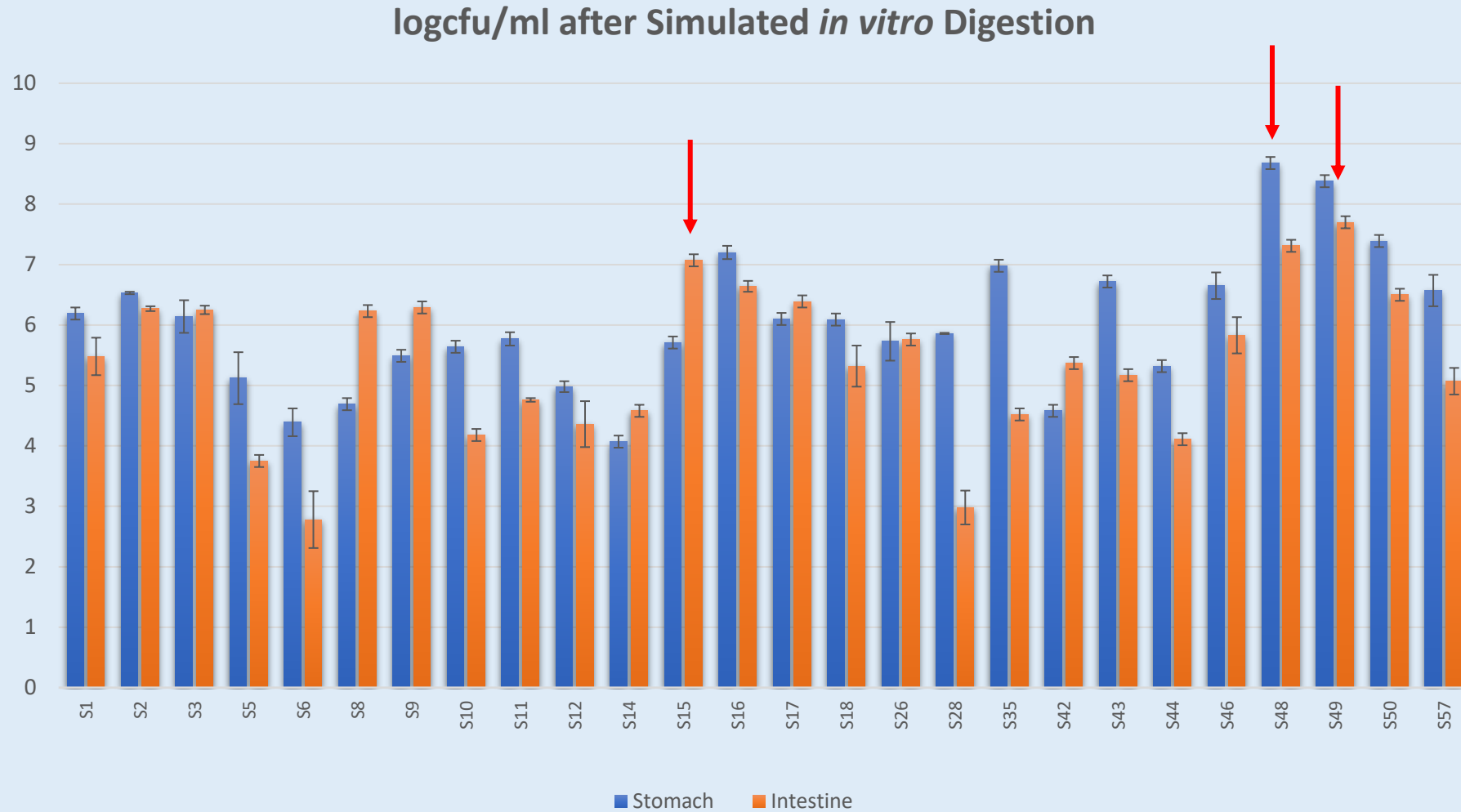
	Ampicillin	Clindamycin	Chloramphenicol	Erythromycin	Streptomycin	Tetracycline	Vancomycin
S1	S	S	I	I	R	R	R
S2	S	S	S	S	R	R	R
S3	S	S	S	S	R	R	R
S7	S	S	S	S	R	R	R
S8	S	S	S	S	-	R	R
S9	S	S	I	I	R	R	R
S10	S	S	S	S	S	S	R
S11	S	S	S	S	S	I	R
S12	S	S	I	S	S	I	R
S14	S	R	S	S	S	R	R
S15	S	S	I	S	-	R	R
S16	S	S	I	I	R	R	R
S17	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 ^R	16	64	32 ^R	1	0.25	8 ^R
S18	2	128 ^R	32 ^R	64	32 ^R	1	0.5	8 ^R
S26	>16	-	8	-	16	-	1	-
S28	8 ^R	32	2	N.R.	32	1	8 ^R	8
S29	-	32	8	-	-	1	-	-
S35	1	64	8	16	1	0.5	0.25	4
S39	8	128	8	32	-	-	0.5	-

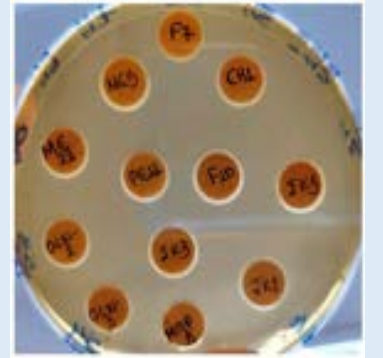
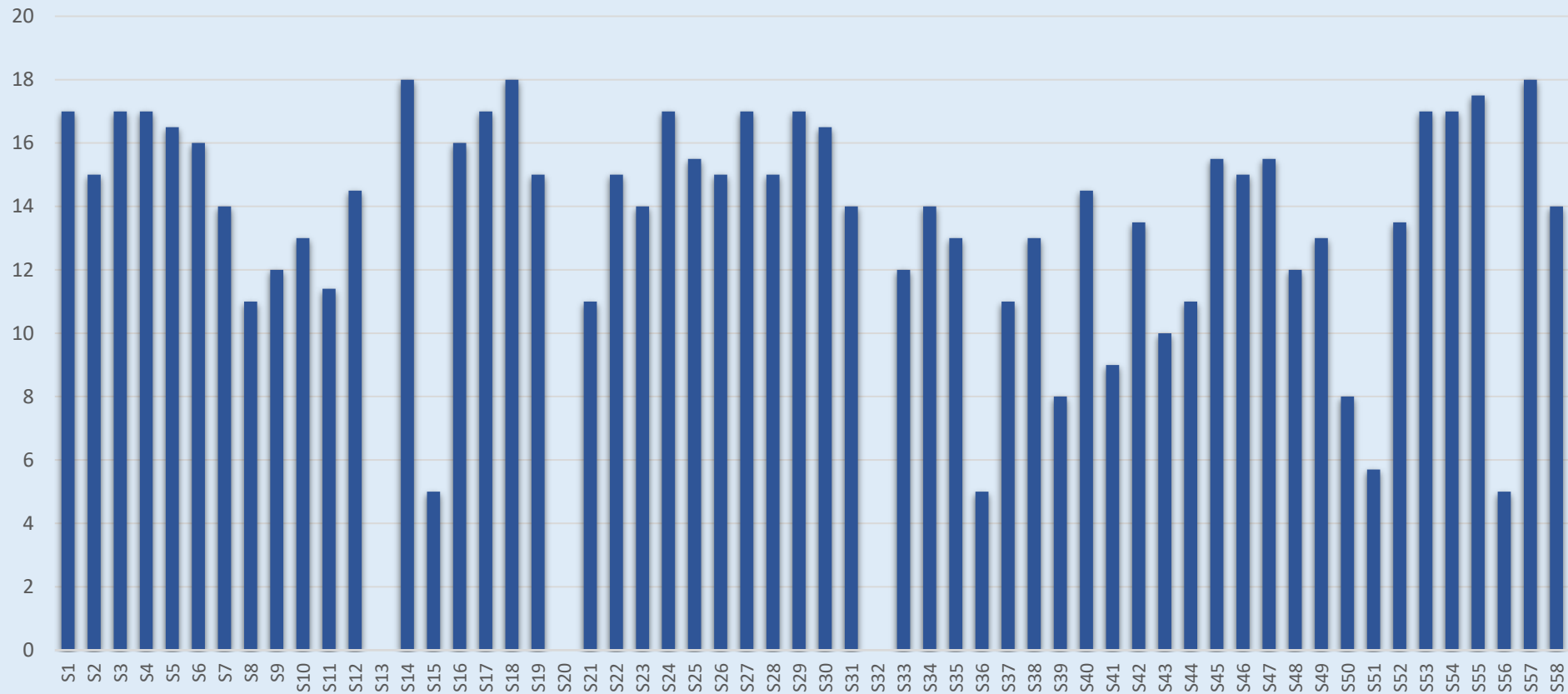


Results

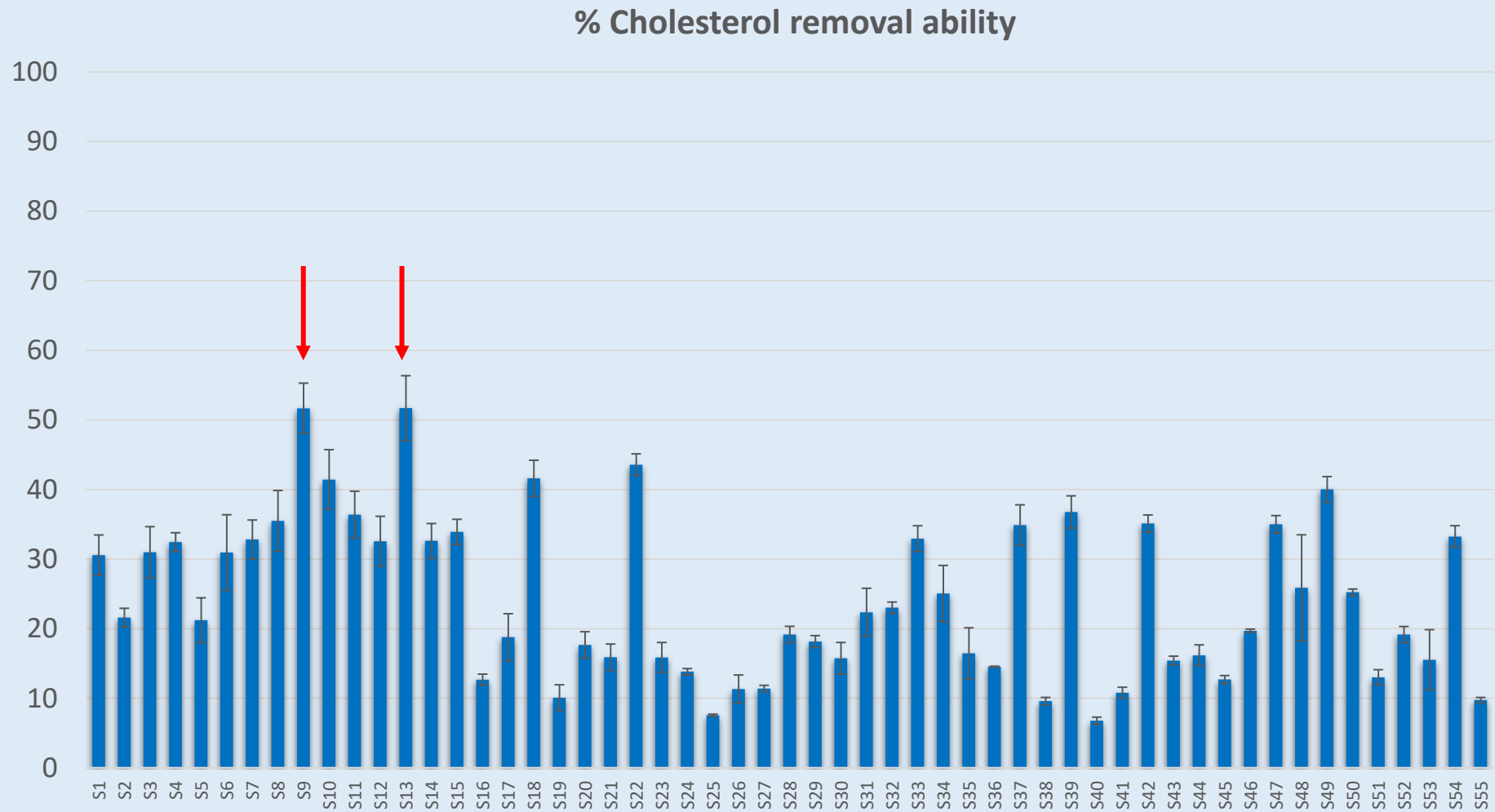


Results

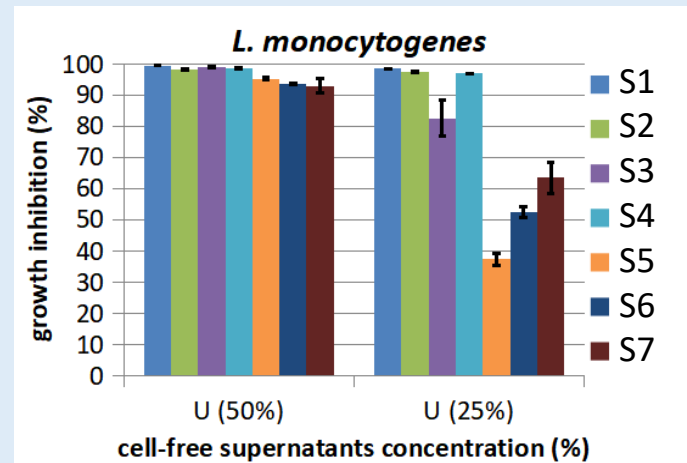
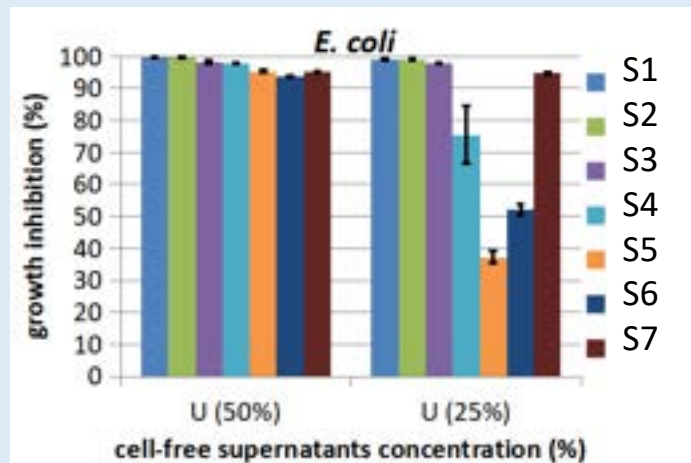
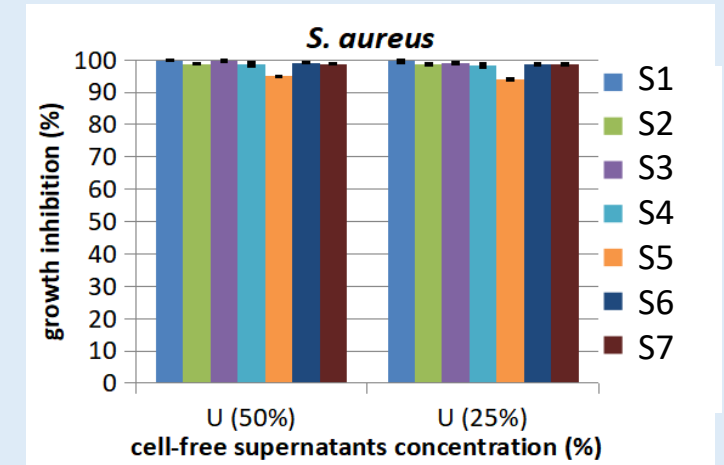
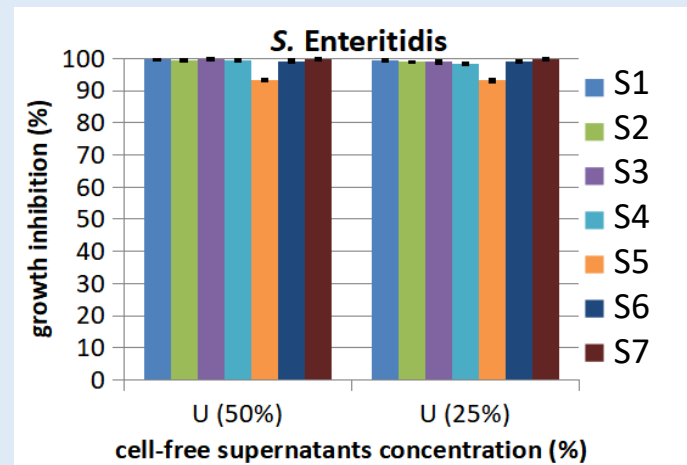
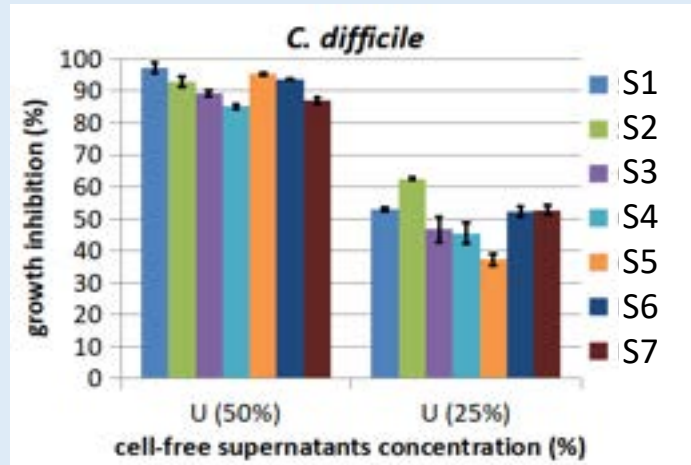
Bile Salt Hydrolase Activity (zones in mm)



Results

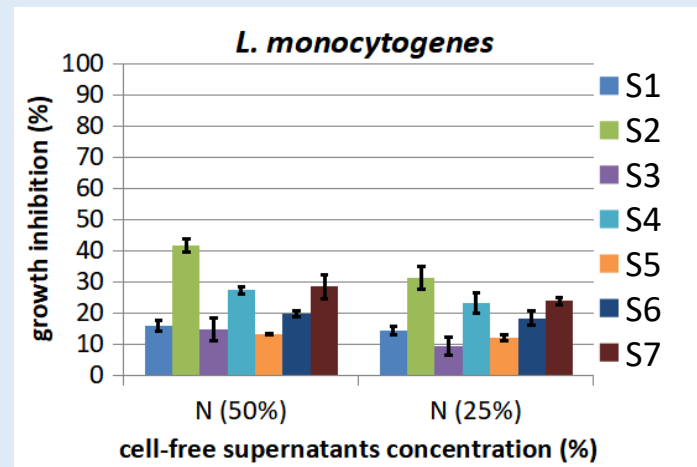
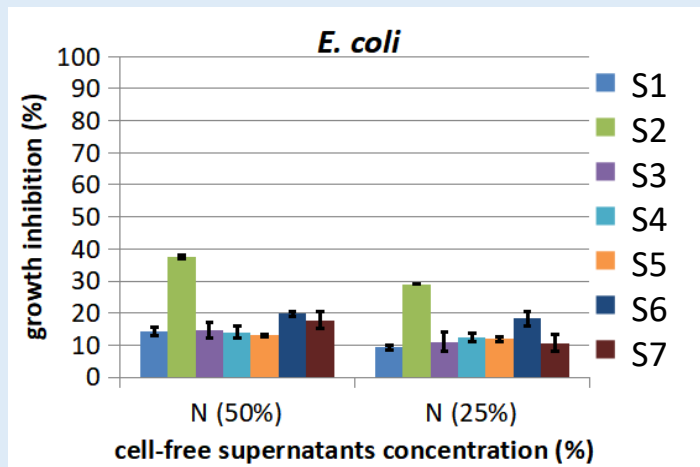
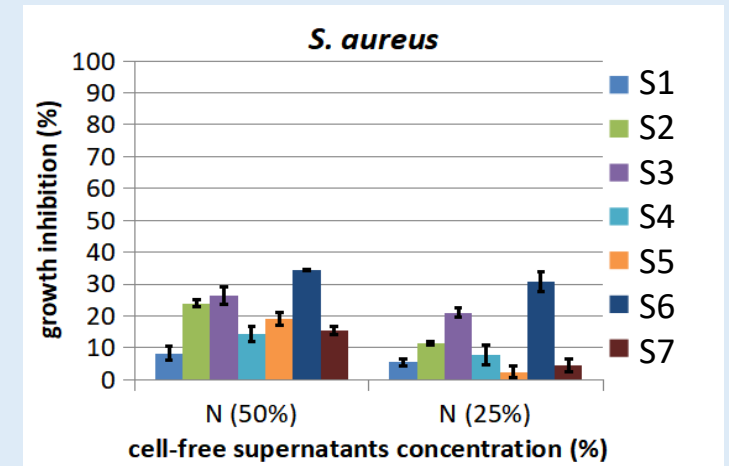
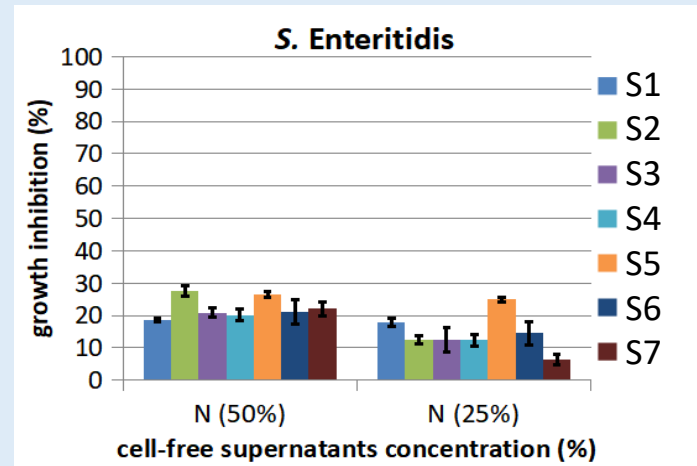
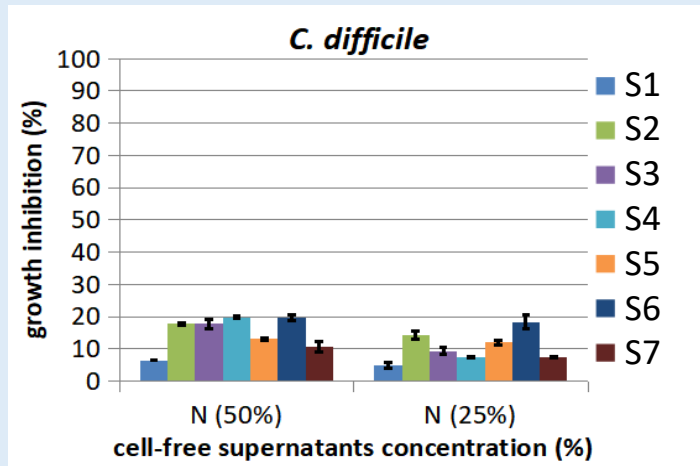


Results



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

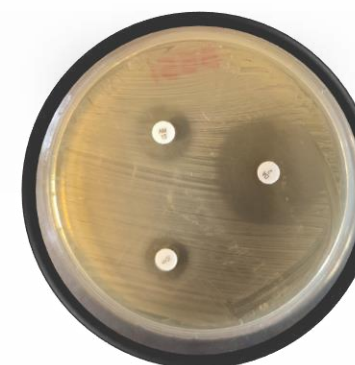
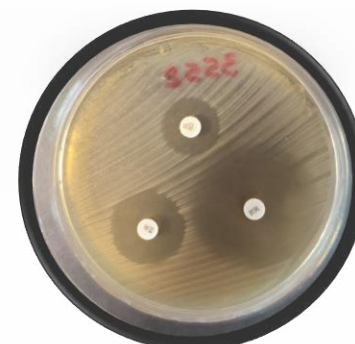
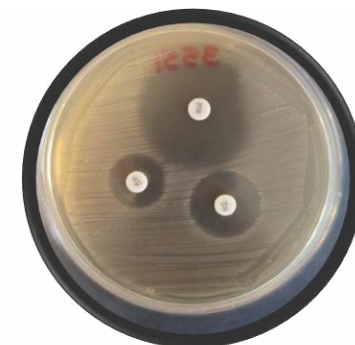
1. 57 lactic acid bacteria belonging to *Lactobacillaceae* family were isolated
2. Safety criteria were assessed (hemolysis and antibiotic resistance)
3. High survival (>7 logcfu/ml) was recorded after static *in vitro* digestion
4. Cholesterol removal activity up to 50% was recorded for specific strains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

Τράπεζα προβιοτικών στελεχών

Κωδικός	Πηγή απομόνωσης	Αποτέλεσμα ταυτοποίησης
FBM_1327	Κατσικίσιο γάλα ΠΑΜΘ	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
FBM_1422	Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
FBBT_4570	Παντζάρι	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
FBBT_4572	Παντζάρι	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
FBBT_4573	Παντζάρι	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
FBBT_4574	Παντζάρι	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
OLTH-2C	Ελιές (καρπός)	<i>Lactiplantibacillus plantarum/pentosus</i>
OLPIK-2C	Ελιές (καρπός)	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
OLXAL-1C	Ελιές (καρπός)	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
OLXAL-3C	Ελιές (καρπός)	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
OLXAL-4C	Ελιές (καρπός)	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
CHTH-4	Τυρί τύπου φέτα	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
FBM_1423	Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
FBM_1433	Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
FBM_1434	Πρόβειο γάλα ΠΑΜΘ	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
FBM_1332	Κατσικίσιο γάλα Κρήτης	<i>Lactococcus lactis</i>
FBMS_5810	Μανιτάρια λευκά	<i>Lactococcus lactis</i>
FBMS_5811	Μανιτάρια λευκά	<i>Lactococcus lactis</i>
FBMS_5812	Μανιτάρια λευκά	<i>Lactococcus lactis</i>
FBM_1321	Κατσικίσιο γάλα ΠΑΜΘ	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
FBM_1331	Κατσικίσιο γάλα Κρήτης	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
FBCH_3551	Ξηρό κατσικίσιο τυρί Κρήτης	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
FBCH_3552	Ξηρό κατσικίσιο τυρί Κρήτης	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
FBCH_3554	Φρέσκο κατσικίσιο τυρί Κρήτης	<i>Pediococcus pentosaceus</i>

Antibiotic susceptibility

	Αμπικιλλίνη	Χλωραμφαινικόλη	Κλινδαμυκίνη	Ερυθρομυκίνη	Γενταμυκίνη	Καναμυκίνη	Στρεπτομυκίνη	Τετρακυκλίνη	Βανκομυκίνη
	AM	C	DA	E	CN	K	S	T	VA
FBM_1327	R	S	S	S	R	R	R	S	R
FBM_1422	S	S	MS	S	S	R	R	S	R
FBM_1423	R	S	S	S	R	R	R	S	R
FBM_1433	R	S	S	S	R	R	S	S	R
FBM_1434	R	S	S	S	R	R	R	S	R
FBCH_3554	R	S	S	S	R	R	R	S	R
FBBT_4570	MS	S	MS	S	R	R	MS	MS	R
FBBT_4572	S	S	S	S	R	R	R	MS	R
FBBT_4573	S	S	S	S	S	R	S	MS	R
FBBT_4574	S	S	S	S	S	R	R	MS	R
FBM_1321	MS	S	S	S	S	MS	R	S	S
FBM_1331	MS	S	S	S	S	R	MS	S	S
FBM_1332	S	S	S	S	S	R	S	S	S
FBCH_3551	MS	S	S	S	S	MS	MS	S	S
FBCH_3552	S	S	S	S	S	R	R	S	S
FBMS_5810	S	S	S	S	S	MS	MS	S	S
FBMS_5811	MS	S	S	S	S	MS	MS	S	S
FBMS_5812	S	S	S	S	S	S	S	S	S
OLXAL-1C	R	S	S	S	S	R	MS	S	R
OLXAL-3C	MS	S	S	S	S	R	MS	S	R
OLXAL-4C	R	S	S	S	R	R	MS	S	R
CHTH-4	R	S	S	S	R	R	MS	S	R
OLTH-2C	MS	S	S	S	S	R	R	S	R
OLPIK-2C	R	S	S	S	R	R	MS	S	R



(Charteris et al., 1998)

<https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.12.1636>

pH tolerance

lactococci

Strain	FBM_1321		FBM_1331		FBM_1332		FBCH_3551		FBCH_3552		FBMS_5810		FBMS_5811		FBMS_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	FBM_1327		FBM_1422		FBM_1423		FBM_1433		FBM_1434		FBCH_3554		FBBT_4570		FBBT_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	FBBT_4573		FBBT_4574		OLXAL-1C		OLXAL-3C		OLXAL-4C		CHTH-4		OLTH-2C		OLPIK-2C	
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	FBM_1321		FBM_1331		FBM_1332		FBCH_3551		FBCH_3552		FBMS_5810		FBMS_5811		FBMS_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	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

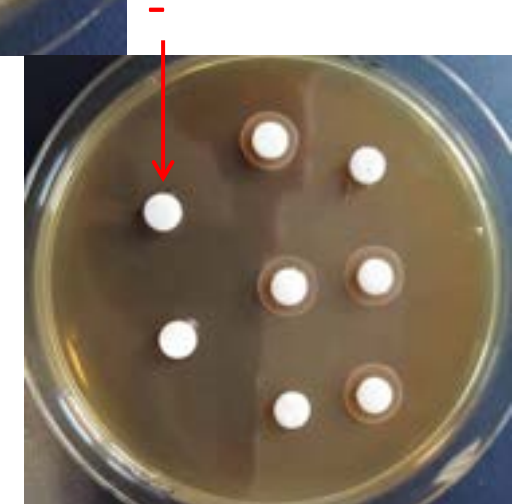
lactobacilli

Strain	FBM_1327		FBM_1422		FBM_1423		FBM_1433		FBM_1434		FBCH_3554		FBBT_4570		FBBT_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

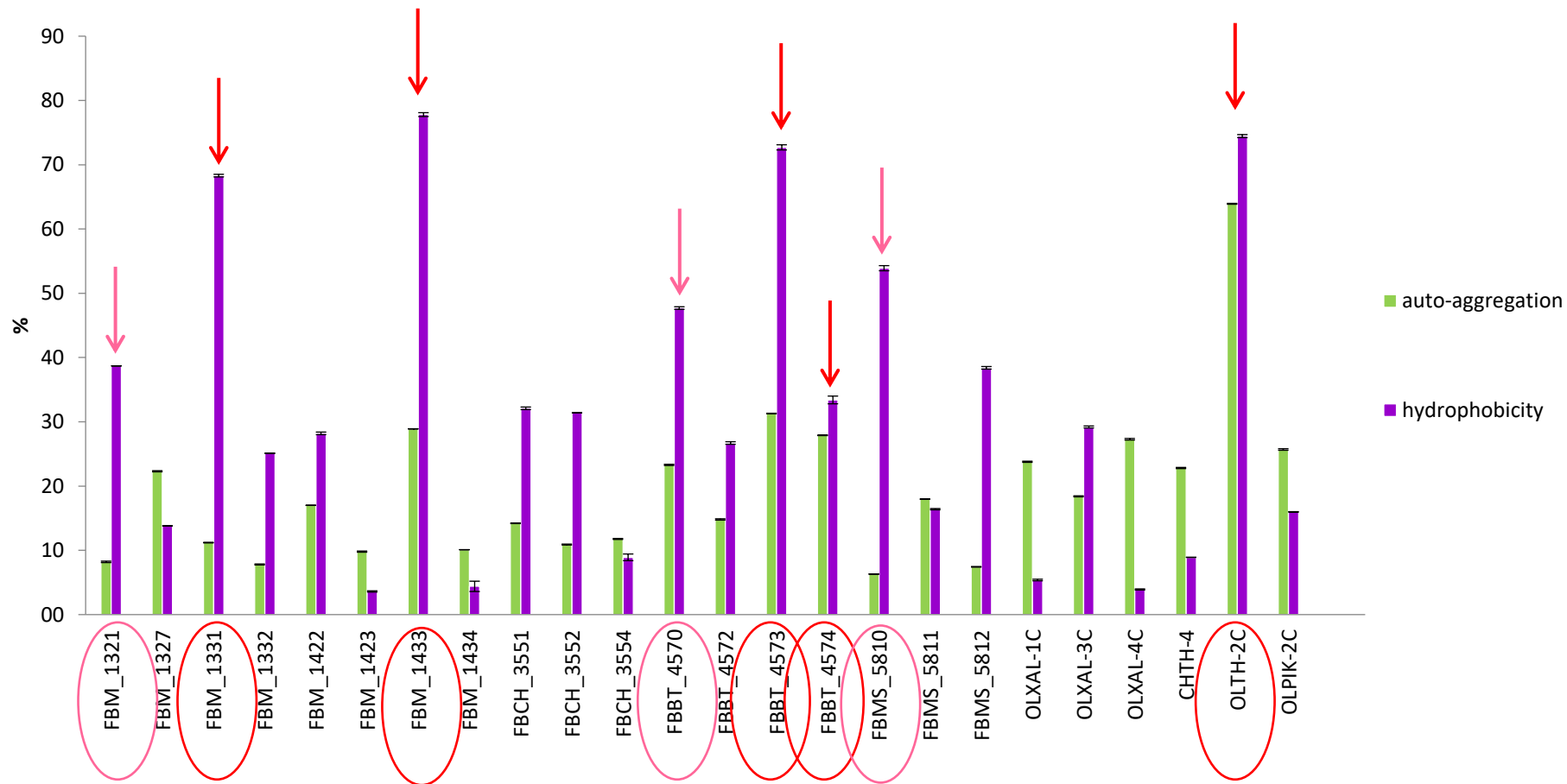
Strain	FBBT_4573		FBBT_4574		OLXAL-1C		OLXAL-3C		OLXAL-4C		CHTH-4		OLTH-2C		OLPIK-2C	
Bile salt (%)	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5	0.3	0.5
0h	7.4±0.1		7.4±0.1		7.4±0.1		7.1±0.1		8.2±0.1		7.6±0.1		6.9±0.1		7.2±0.1	
2h	3.7±0.1	3.6±0.1	2.9±0.1	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	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 υδρολάσης χολικών αλάτων

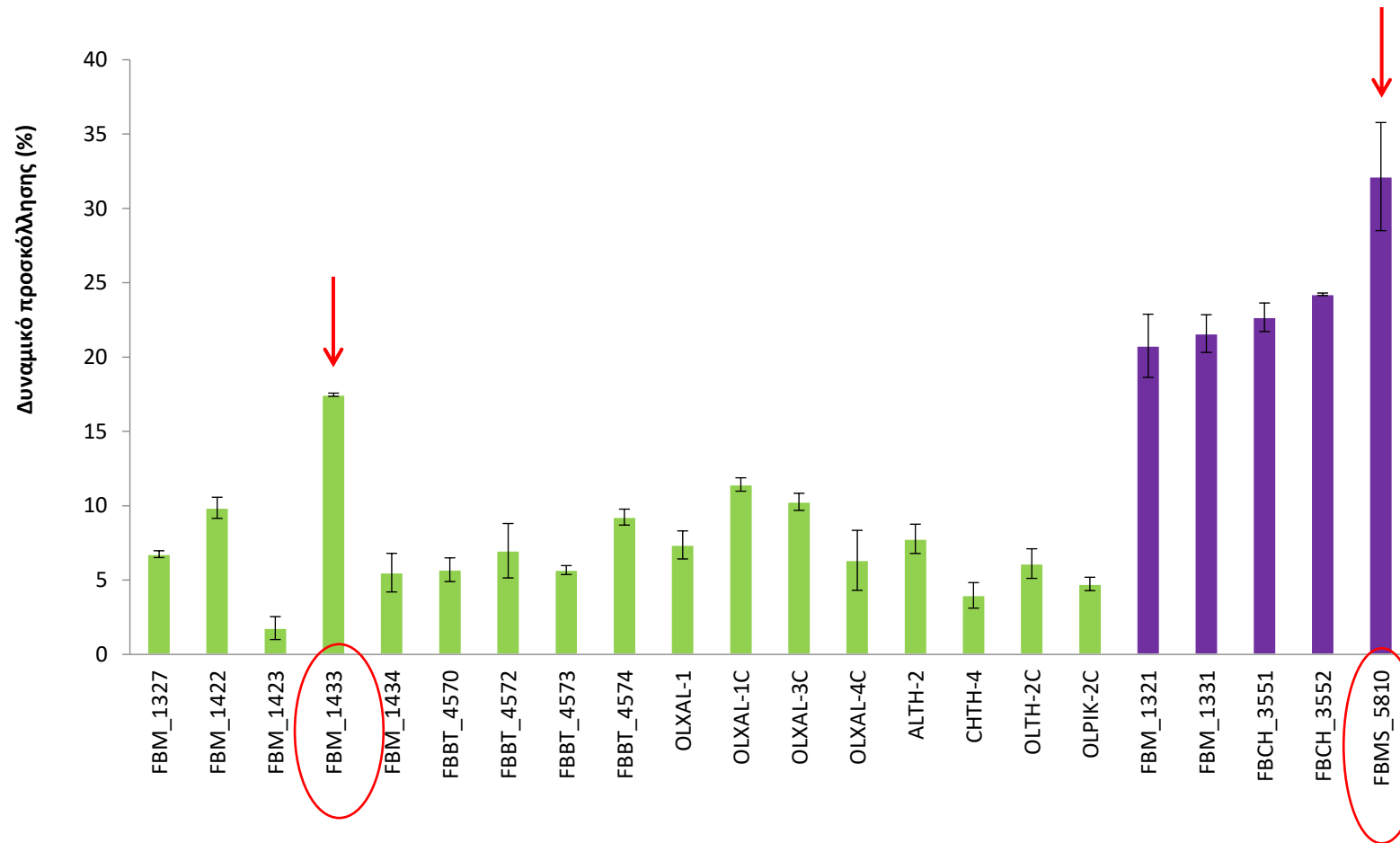
Κωδικός	Είδος	Υδρολάση (+/-)
FBM_1327	<i>L. paracasei</i>	+
FBM_1422	<i>L. plantarum</i>	+
FBM_1423	<i>L. rhamnosus</i>	+
FBM_1433	<i>L. rhamnosus</i>	+
FBM_1434	<i>L. rhamnosus</i>	+
FBCH_3554	<i>P. pentosaceus</i>	-
FBBT_4570	<i>L. plantarum</i>	+
FBBT_4572	<i>L. plantarum</i>	+
FBBT_4573	<i>L. plantarum</i>	+
FBBT_4574	<i>L. plantarum</i>	+
FBM_1321	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	+
FBM_1331	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	-
FBM_1332	<i>L. lactis</i>	-
FBCH_3551	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	-
FBCH_3552	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	-
FBMS_5810	<i>L. cremoris</i>	+
FBMS_5811	<i>L. lactis</i>	+
FBMS_5812	<i>L. lactis</i>	+
OLXAL-1C	<i>L. rhamnosus</i>	-
OLXAL-3C	<i>L. rhamnosus</i>	-
OLXAL-4C	<i>L. rhamnosus</i>	-
CHTH-4	<i>L. rhamnosus</i>	-
OLTH-2C	<i>L. plantarum</i> /pentosus	+
OLPIK-2C	<i>L. rhamnosus</i>	-
control	<i>L. rhamnosus</i> GG	+



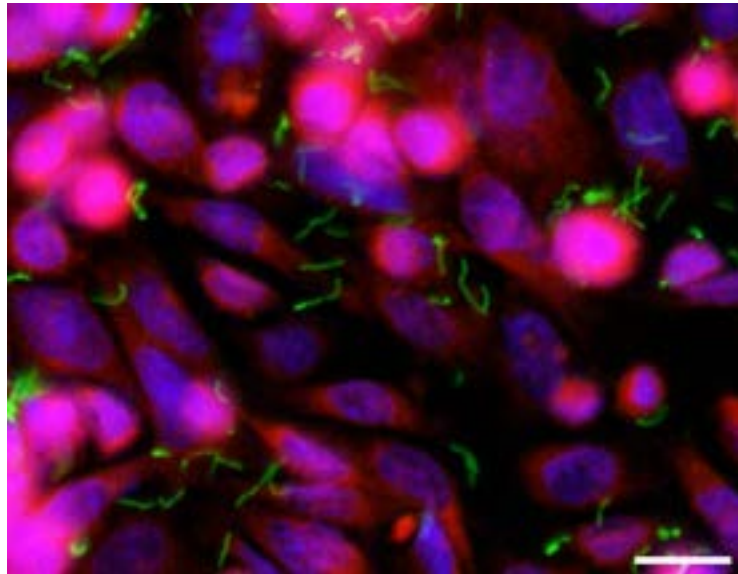
Αυτο-συσσωμάτωση & Υδροφοβικότητα



Προσκόλληση σε κυτταρική σειρά Caco-2

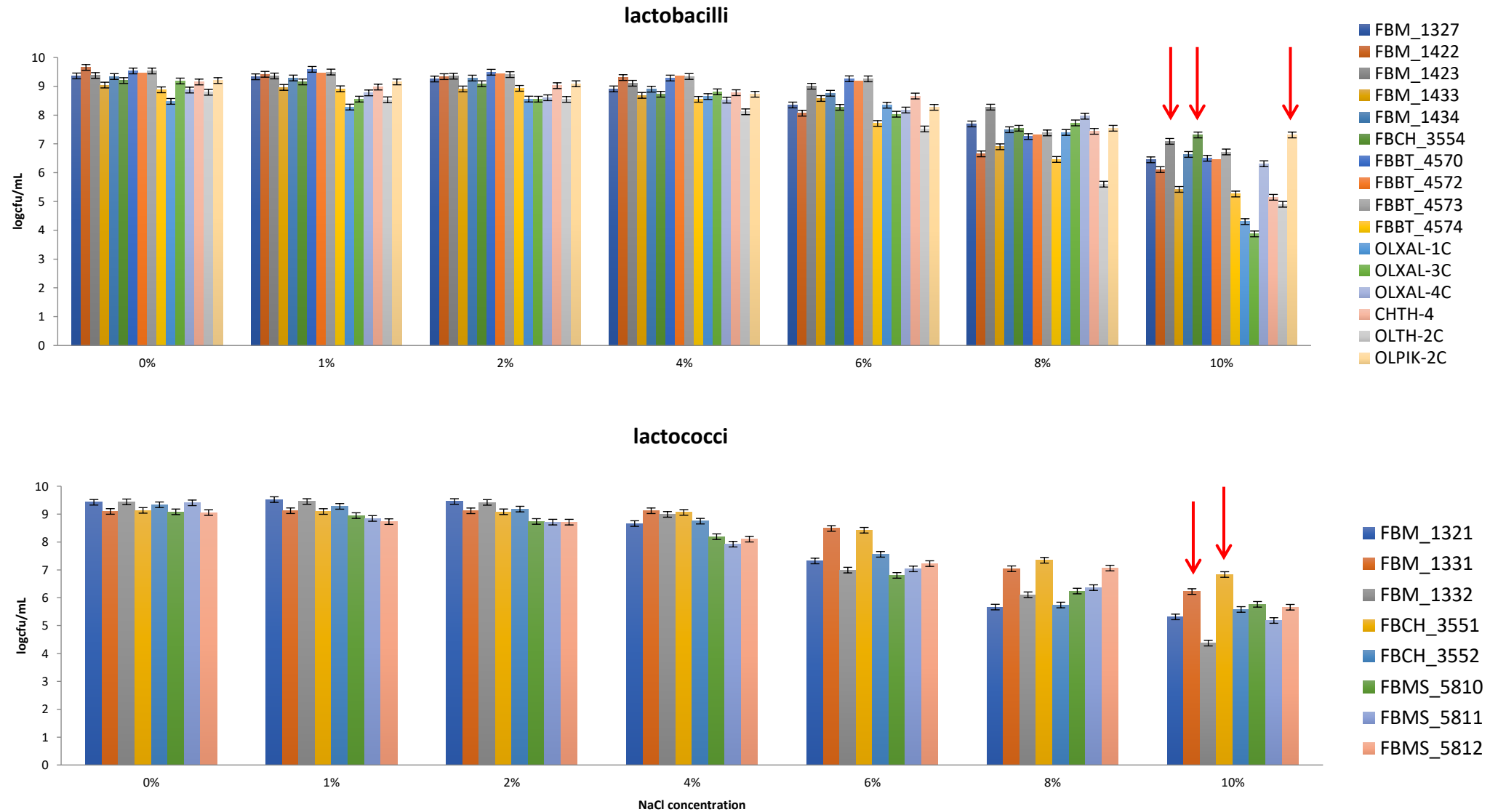


Προσκόλληση

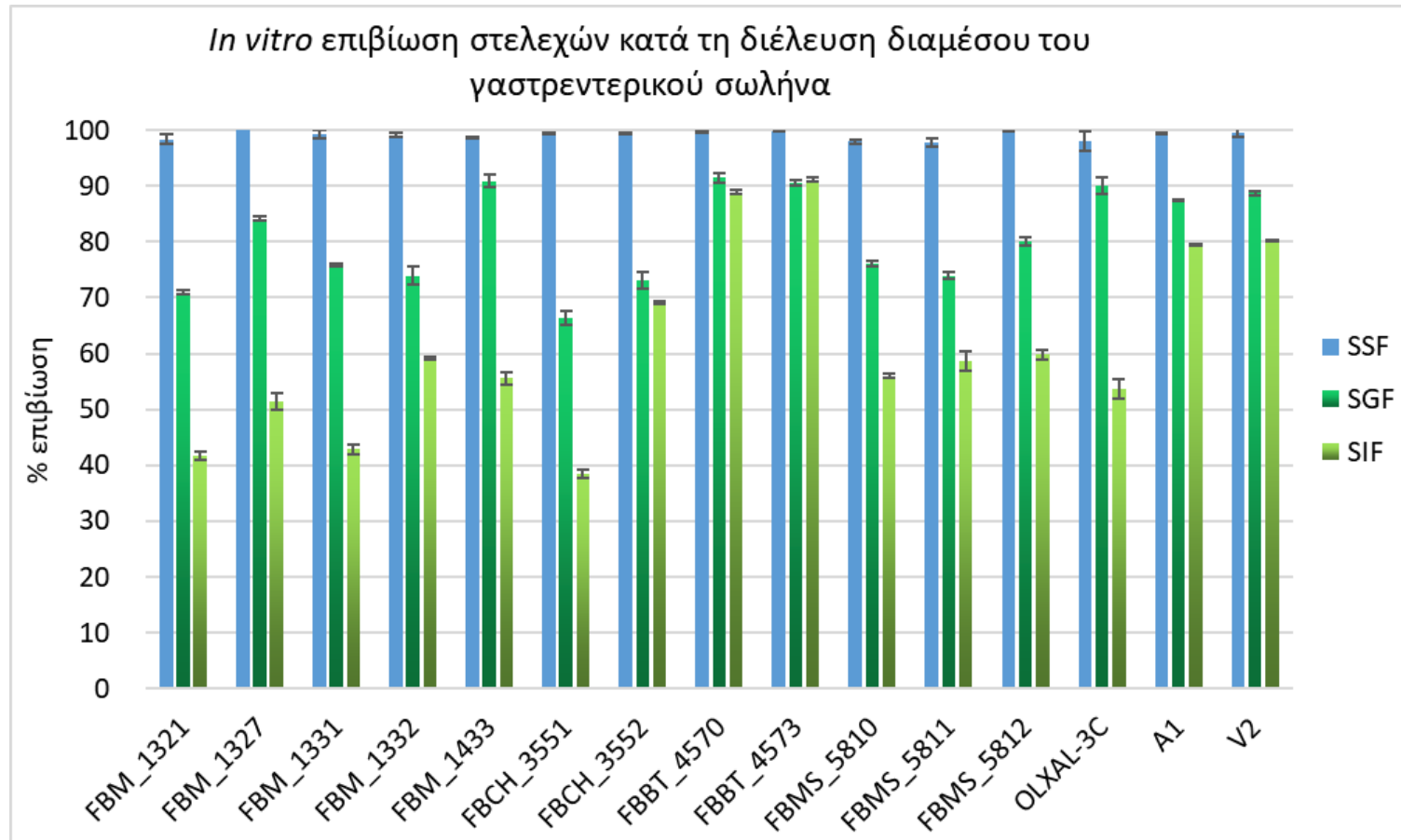


Fluorescently-labeled live *Lactobacilli* to differentiated Caco-2 cells after 2h of incubation at 37 °C in a humidified atmosphere of 5 % CO₂. Bacterial cells were stained with FITC (green), Caco-2 cells were stained with Hoechst 33258 (blue, nucleus) and mitotracker (red, mitochondria). Scale bar: 100μm

NaCl tolerance



Static *in vitro* digestion

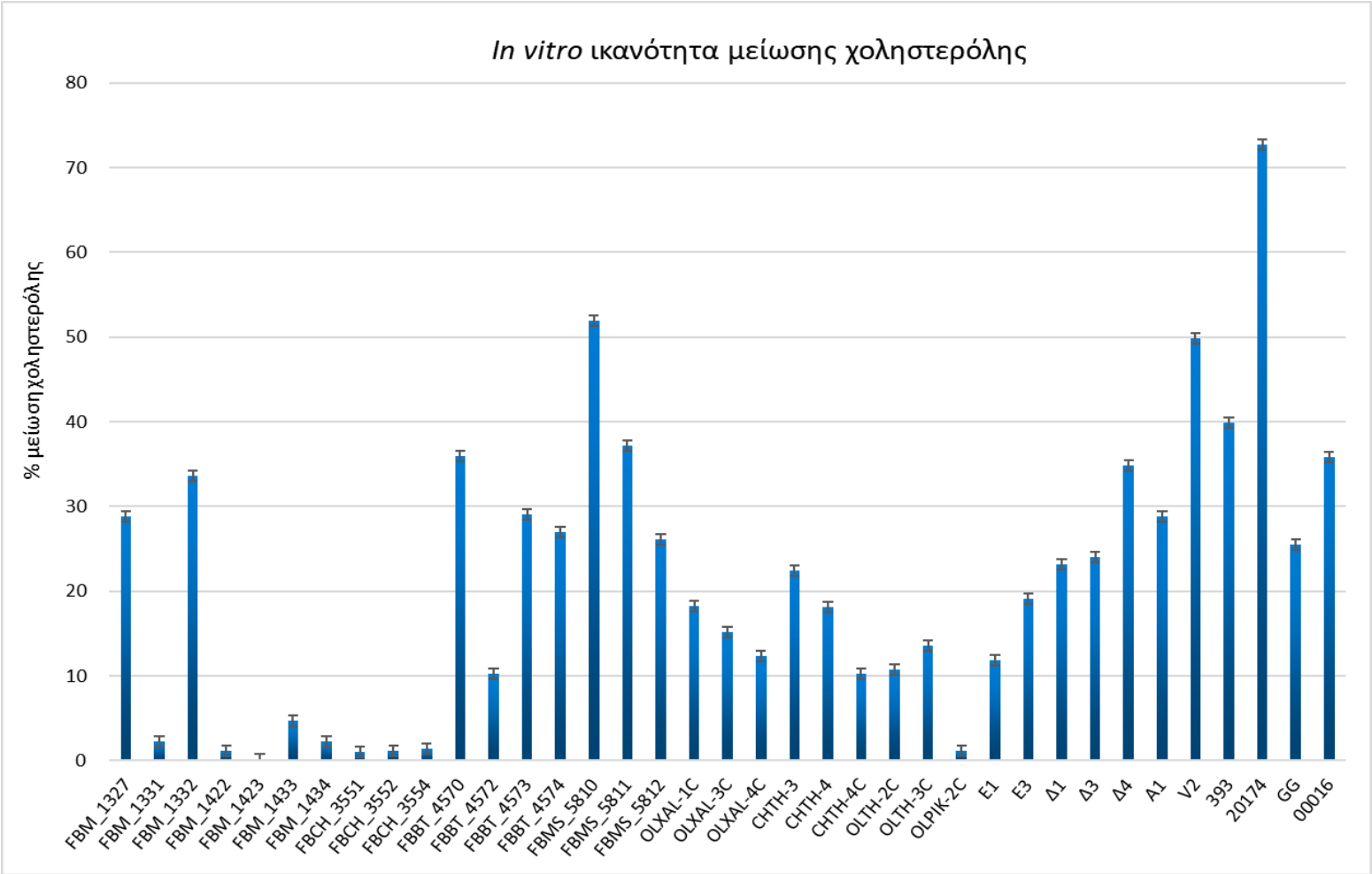


SSF: Διάλυμα προσομοίωσης στοματικής κοιλότητας

SGF: Διάλυμα προσομοίωσης στομάχου

SIF: Διάλυμα προσομοίωσης λεπτού εντέρου

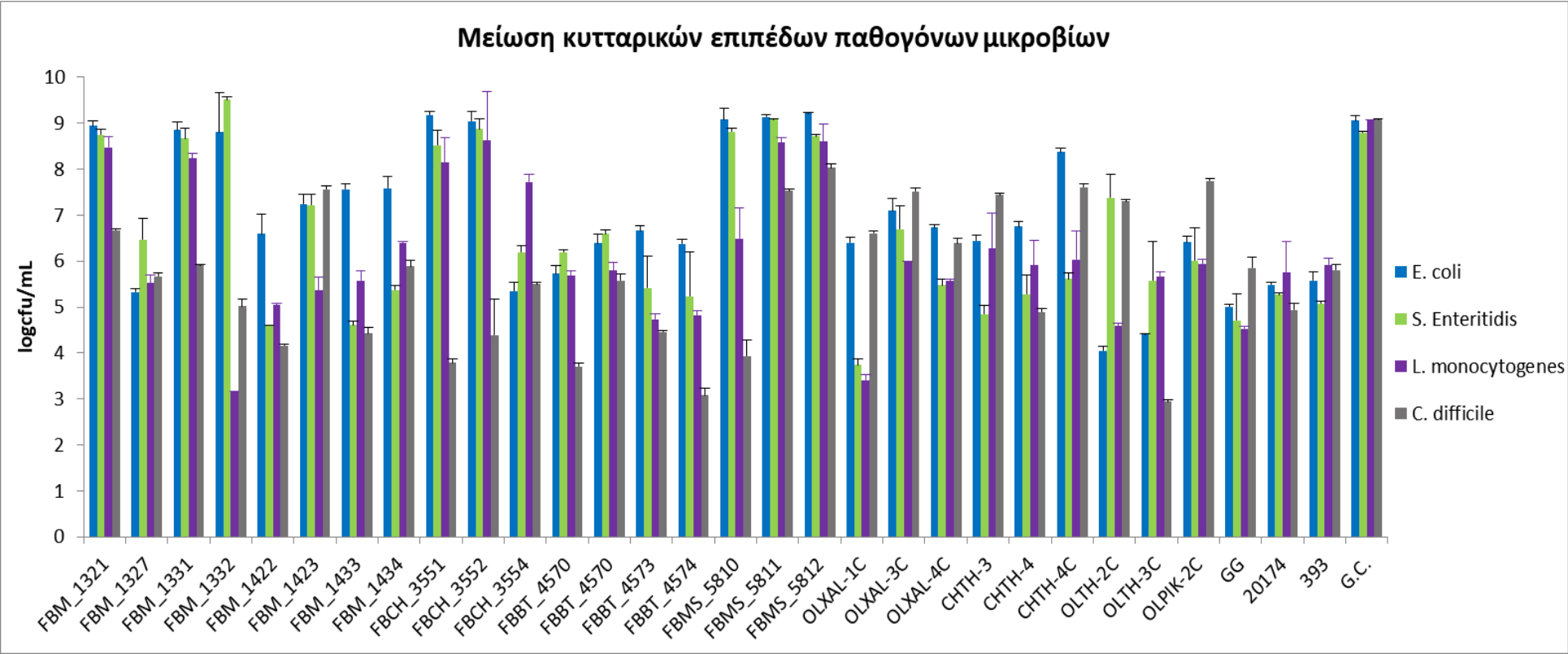
Υποχοληστερολαιμική δράση



Αντι-διαβητική δράση

Αγρίου τύπου στέλεχος	Ποσοστό αναστολής α-γλυκοσιδάσης (%)
L. lactis FBM_1321	11.80 ± 3.82
L. paracasei FBM_1327	26.39 ± 4.14
L. lactis FBM_1331	16.72 ± 2.57
L. lactis FBM_1332	14.13 ± 3.05
L. plantarum FBM_1422	18.44 ± 2.87
L. rhamnosus FBM_1423	10.44 ± 0.51
L. rhamnosus FBM_1433	9.89 ± 1.86
L. rhamnosus FBM_1434	2.96 ± 0.14
L. lactis FBCH_3551	19.40 ± 1.04
L. lactis FBCH_3552	14.74 ± 1.27
P. pentosaceus FBCH_3554	10.46 ± 1.77
L. plantarum FBBT_4570	14.45 ± 3.22
L. plantarum FBBT_4572	16.30 ± 0.55
L. plantarum FBBT_4573	0.58 ± 0.28
L. plantarum FBBT_4574	11.89 ± 0.95
L. cremoris FBMS_5810	13.22 ± 0.11
L. lactis FBMS_5811	14.28 ± 1.87
L. lactis FBMS_5812	22.62 ± 2.15
L. rhamnosus OLXAL-1C	16.76 ± 0.60
L. rhamnosus OLXAL-3C	18.18 ± 1.50
L. rhamnosus OLXAL-4C	15.93 ± 2.17
L. rhamnosus CHTH-3	11.52 ± 1.79
L. rhamnosus CHTH-4	1.69 ± 1.85
L. rhamnosus CHTH-4C	8.29 ± 2.14
L. rhamnosus OLTH-2C	3.49 ± 0.86
L. plantarum/ pentosus OLTH-3C	5.02 ± 2.57
L. plantarum/ pentosus OLPIK-2C	6.16 ± 3.67
L. rhamnosus GG (ATCC 53103)	38.96 ± 2.52

Ανταγωνισμός παθογόνων





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	CaCO ₃ adhesion	α-glucosidase inhibition	In vitro cholesterol lowering activity	cholesterol adhesion	In vitro trials in rodents	clinical trial
1	FBM_1321-	-	Goat milk (MTH)	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 (MTH)	DUTH	Lactocaseibacillus paracasei	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes			
3	FBM_1331-	-	Goat milk (MTH)	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 (MTH)	DUTH	Lactococcus lactis subsp. lactis		yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes		yes					
5	FBM_1422-	-	Sheep milk (MTH)	DUTH	Lactiplantibacillus plantarum		yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes				
6	FBM_1423-	-	Sheep milk (MTH)	DUTH	Lactocaseibacillus rhamnosus	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes				
7	FBM_1433-	-	Sheep milk (MTH)	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

Λειτουργικά τρόφιμα

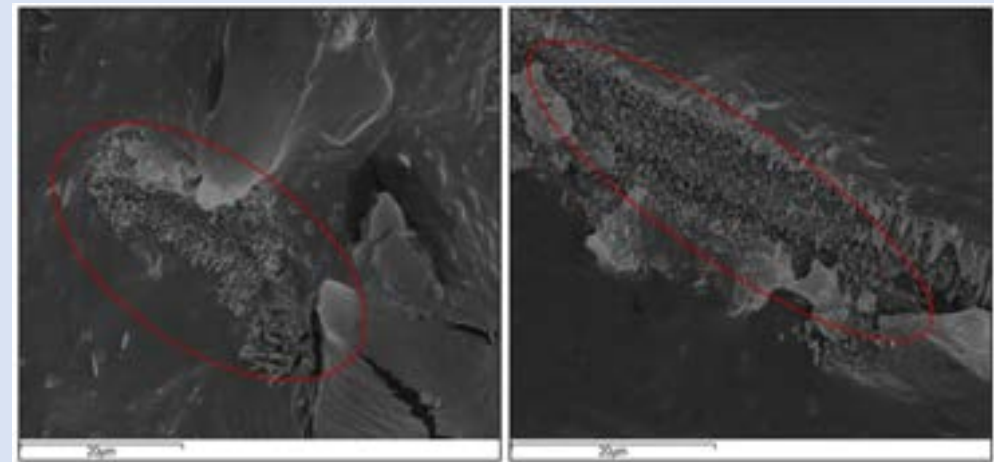
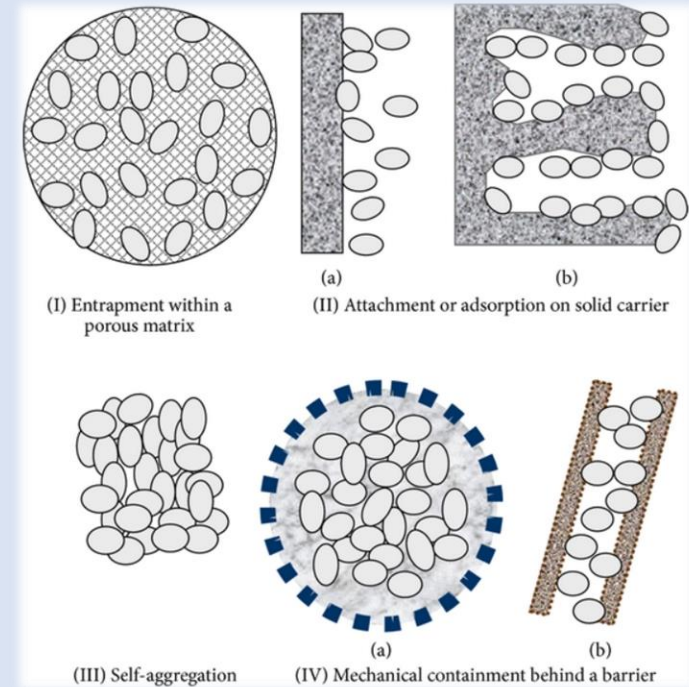
«Τρόφιμα τα οποία, πέραν της επαρκούς διατροφικής αξίας, παρέχουν ευεργετική επίδραση στις πολλαπλές λειτουργίες του σώματος με τρόπο που σχετίζεται είτε με βελτιωμένη κατάσταση της υγείας και της ευεξίας είτε με μειωμένο κίνδυνο ασθένειας» .

European Food Safety Association, EFSA

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



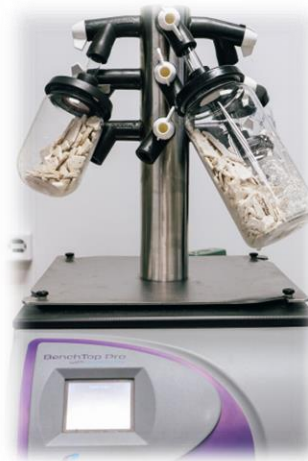
Εμβολιασμός θρεπτικού
μέσου με ανεπτυγμένη
καλλιέργεια *L. cremoris*



Φυγοκέντρηση
καλλιέργειας και
συλλογή
κυτταρικής
βιομάζας

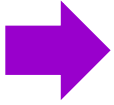


Παραγωγή ξηρής
(λυοφιλωμένης)
βιομάζας κυττάρων



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



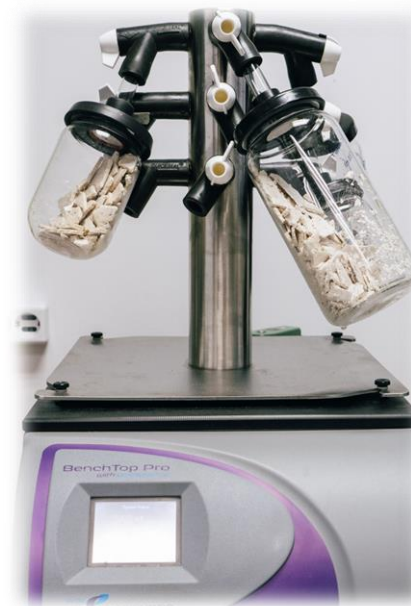
Πρωτεΐνη
τυρογάλακτος



Φουντούκι



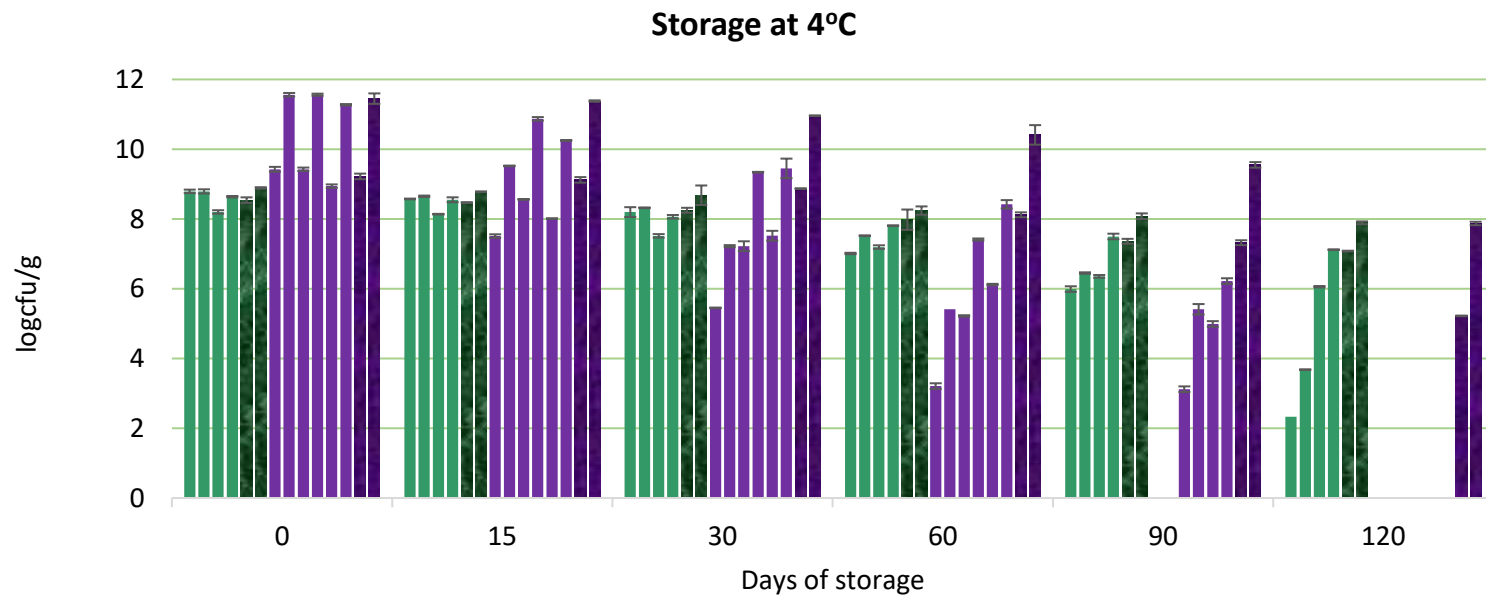
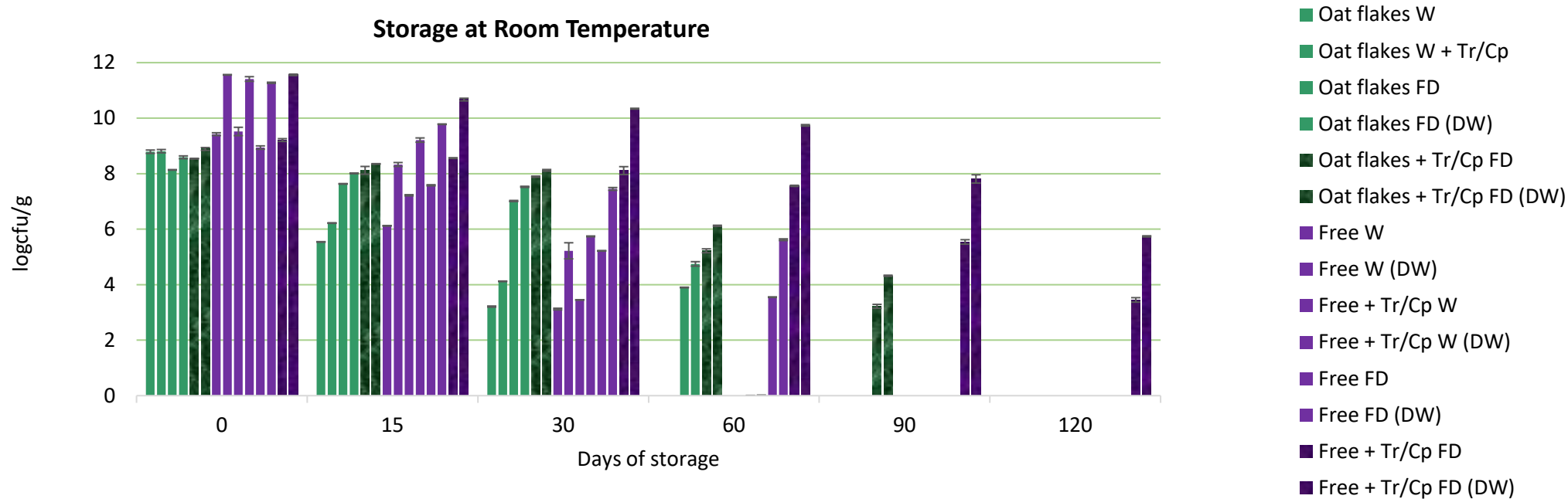
Ακινητοποίηση
κυττάρων *L. lactis*



Ξήρανση
ακινητοποιημένων
κυττάρων *L. lactis*
(λυσοφιλίωση)



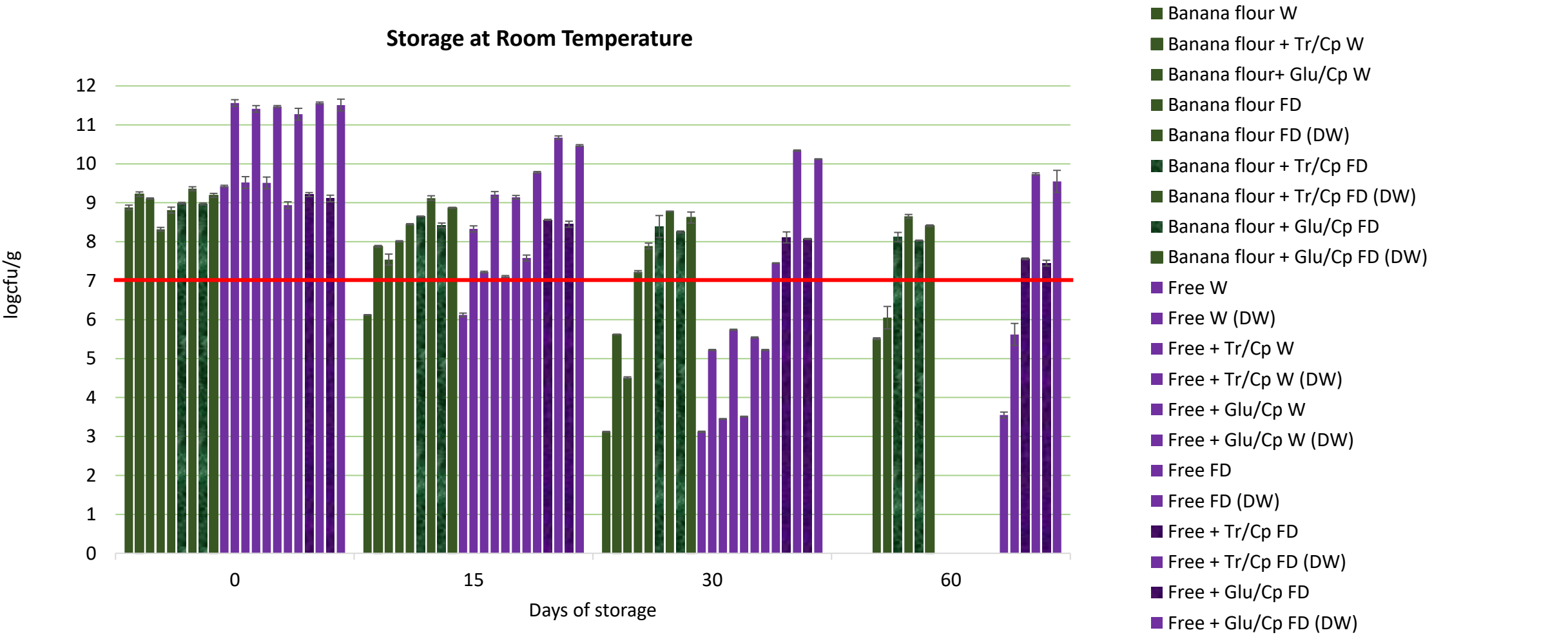
Ανεπτυγμένη
καλλιέργεια *L. lactis*



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

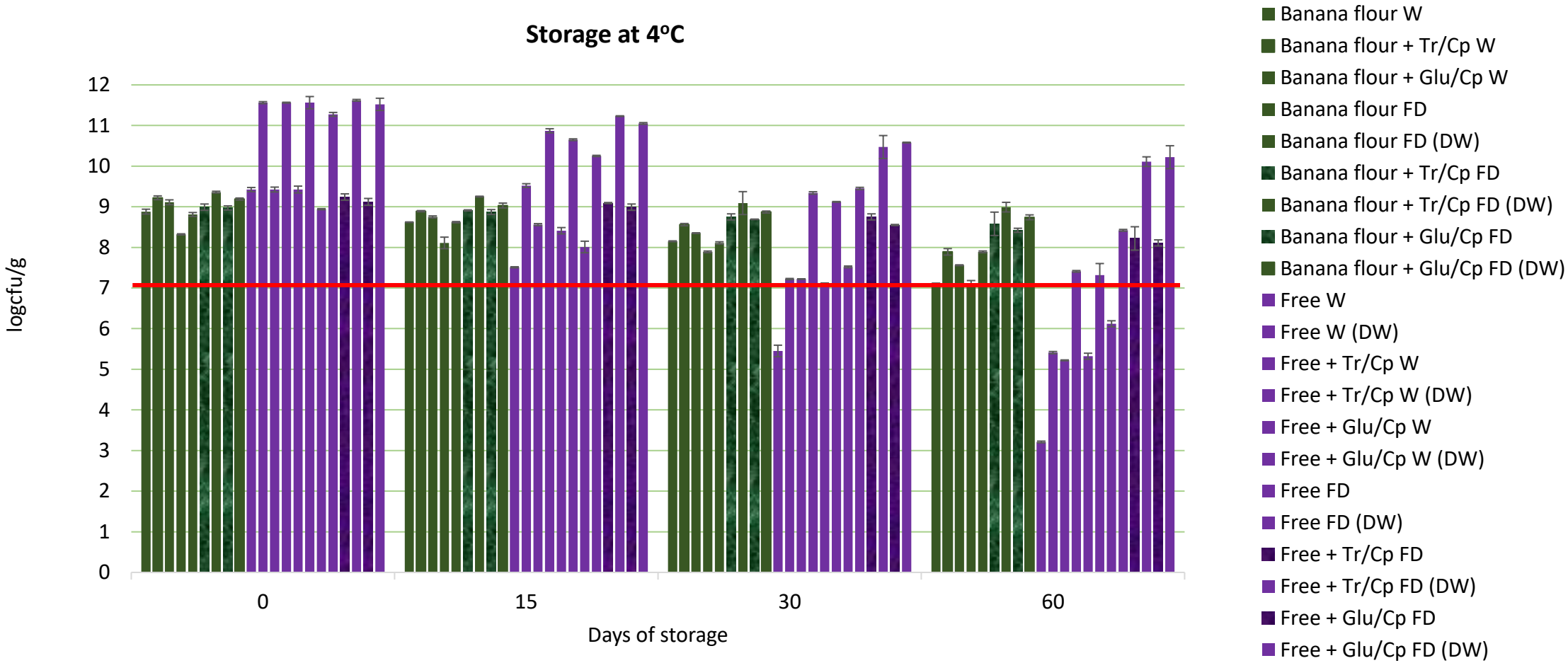
*Tr/Cp: 10% Trehalose as
cryoprotectant*

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



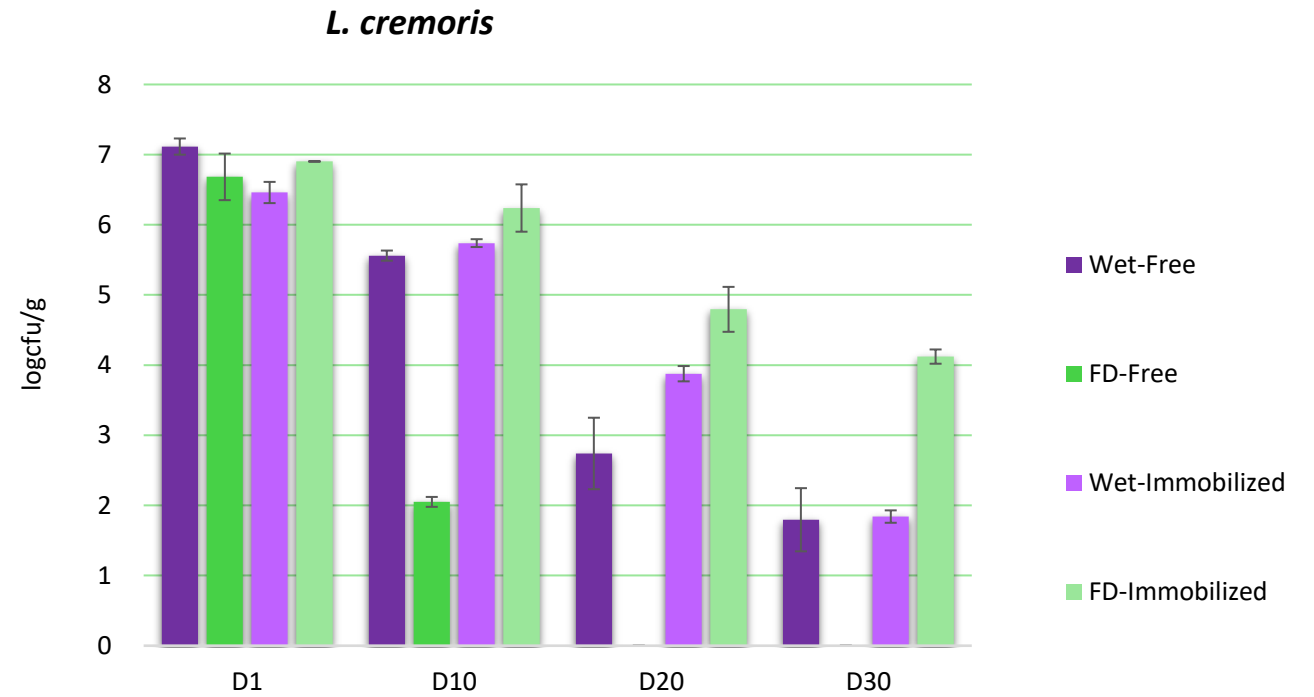
*Tr/Cp: 10% Trehalose ,
Glu/Cp: 10% Glucose as cryoprotectants*

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

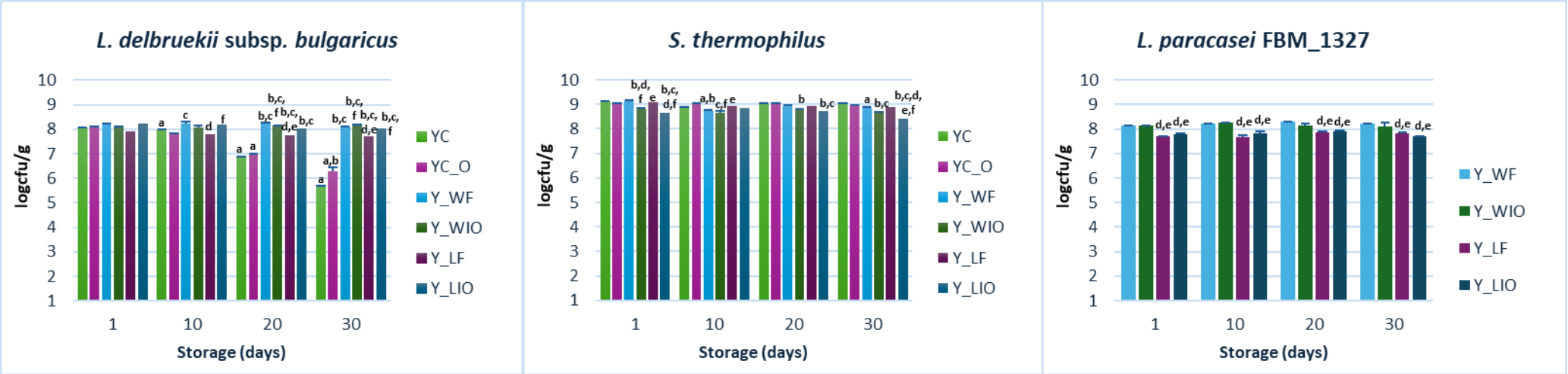


Tr/Cp: 10% Trehalose ,
Glu/Cp: 10% Glucose as cryoprotectants

Γιαούρτι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. cremoris* σε νιφάδες βρώμης



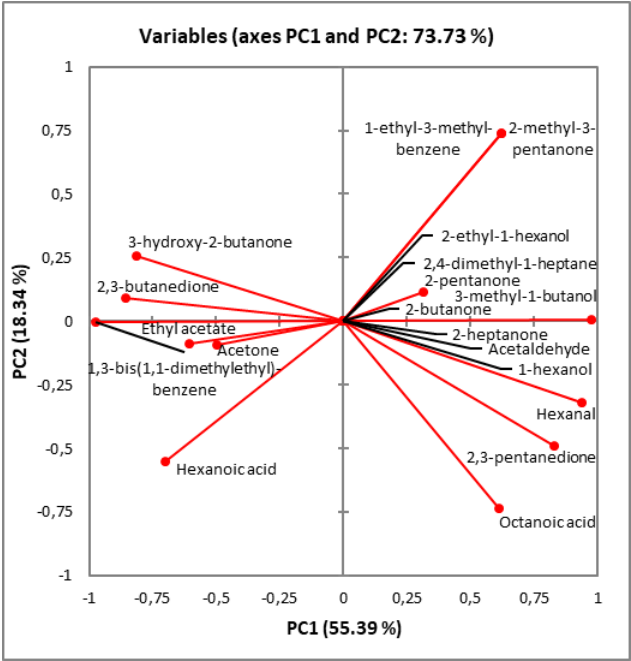
Γιαούρτι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. paracasei* σε νιφάδες βρώμης



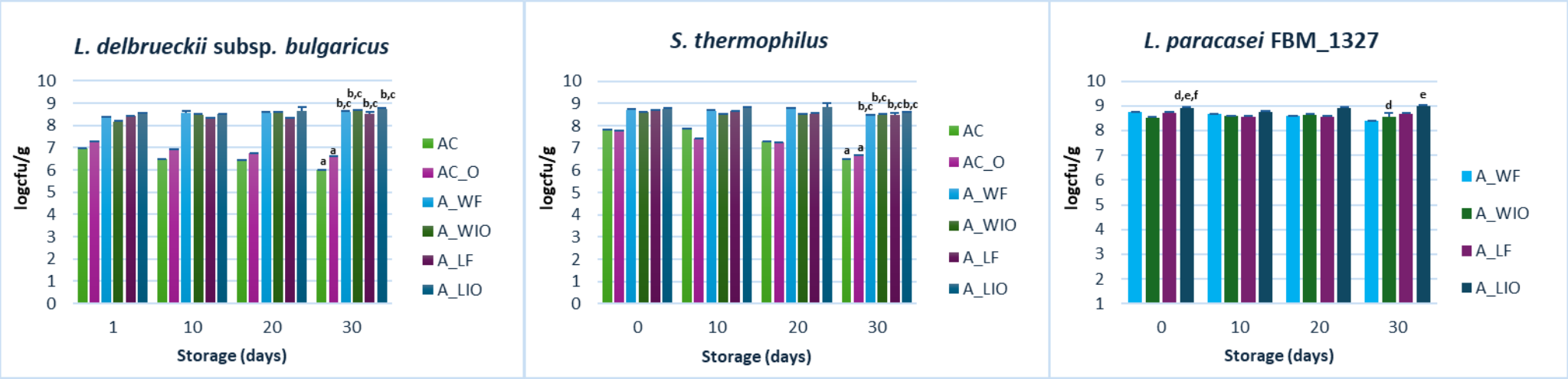
Parameter	Storage time (days)	YC	YC_O	Y_WF	Y_WIO	Y_LF	Y_LIO
pH	1	4.32 ± 0.03	4.38 ± 0.02	4.48 ± 0.04 ^b	4.49 ± 0.01 ^{b,c}	4.57 ± 0.01 ^b	4.60 ± 0.01 ^{b,c,d}
	10	4.31 ± 0.02	4.35 ± 0.01	4.29 ± 0.01 ^a	4.33 ± 0.02 ^a	4.30 ± 0.02 ^a	4.36 ± 0.01 ^a
	20	4.30 ± 0.02	4.27 ± 0.02	4.41 ± 0.02 ^{a,c}	4.46 ± 0.02 ^{a,b,c}	4.44 ± 0.03 ^{b,c}	4.28 ± 0.05 ^{a,d,e,f}
	30	4.31 ± 0.02	4.34 ± 0.01	4.30 ± 0.01 ^a	4.30 ± 0.06 ^{b,c,d}	4.46 ± 0.01 ^{a,e}	4.41 ± 0.04 ^a
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 ^a	0.82 ± 0.01	0.72 ± 0.01	0.75 ± 0.08
	20	0.90 ± 0.13	0.86 ± 0.06 ^a	1.09 ± 0.01 ^a	0.99 ± 0.13 ^{a,d}	0.78 ± 0.08	0.77 ± 0.07 ^d
	30	0.50 ± 0.06	0.77 ± 0.06 ^b	1.10 ± 0.08 ^{a,b,c}	0.77 ± 0.06 ^b	0.95 ± 0.06 ^{a,b,d}	0.87 ± 0.08 ^b

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



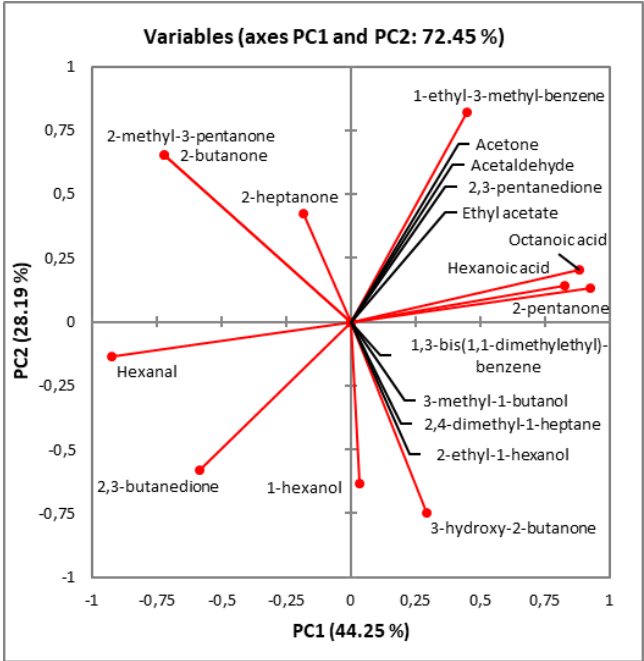
Αριάνι με ακινητοποιημένα προβιοτικά κύτταρα *L. paracasei* σε νιφάδες βρώμης



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 ^{a,b,c}	3.82 ± 0.04 ^{a,b,c}	3.76 ± 0.04 ^{a,b,c}	3.82 ± 0.04 ^{a,b,c}
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 ^{a,b,c,d}	1.29 ± 0.04 ^{a,b,c,e}	1.64 ± 0.00 ^a	1.90 ± 0.04 ^a

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

Ayran 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 ^b
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 ^{a,b}	3.7 ± 0.80 ^{a,b}
	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 ^{a,b}	3.7 ± 0.8 ^{a,b}
	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



Τυρί τύπου φέτα με ακινητοποιημένα κύτταρα σε ηλιόσπορο

Προβιοτικό στέλεχος

Περίπτωση

-	Control
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	Λυοφιλιωμένα ελεύθερα κύτταρα
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Λυοφιλιωμένα ελεύθερα κύτταρα
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	Λυοφιλιωμένα ελεύθερα κύτταρα



Τυρί τύπου φέτα με ακινητοποιημένα κύτταρα σε ηλιόσπορο

Προβιοτικό στέλεχος

Περίπτωση

-

Control με ηλιόσπορο

L. paracasei

Λυοφιλιωμένα ελεύθερα κύτταρα

L. paracasei

Λυοφιλιωμένα ακινητοποιημένα
κύτταρα σε ηλιόσπορο

L. cremoris

Λυοφιλιωμένα ελεύθερα κύτταρα



«Απομόνωση *In vitro* αξιολόγηση ευεργετικών ιδιοτήτων νέων στελεχών γαλακτικών βακτηρίων αγρίου τύπου & Δοκιμές εισαγωγής των νέων στελεχών σε τρόφιμα»



Πράπα Ιωάννα, Μοριακή Βιολόγος & Γενετίστρια, PhD

Διδάσκουσα στα πλαίσια του προγράμματος «Απόκτηση ακαδημαϊκής εμπειρίας σε νέους επιστήμονες κατόχους διδακτορικού»

iprapa@mbg.duth.gr

ioannaprap@gmail.com

31 Οκτωβρίου 2024

Μοριακή Βιοτεχνολογία και Διατροφή-Εβδομάδα 4

Θέματα εργασιών

1. -Biotics: Πρεβιοτικά, Προβιοτικά, Συμβιωτικά και Μεταβιοτικά: η σημασία τους στη διατροφή
2. Φυτικά Εκχυλίσματα ως Βιοσυντηρητικά και Πρεβιοτικά στα Τρόφιμα
3. Γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα: Τεχνικές γενετικής τροποποίησης, εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων και κοινωνικά ζητήματα
4. Το τρίπτυχο Διατροφή- Εντερικό μικροβίωμα-Υγεία
5. Το Μικροβίωμα των Τροφίμων: Σημασία, Στρατηγικές και Εφαρμογές
6. Διατροφογονιδιωματική και Εξατομικευμένη Διατροφή
7. Ηθικές και Κοινωνικές Προεκτάσεις της Μοριακής Βιοτεχνολογίας στα τρόφιμα
8. Λειτουργικά τρόφιμα και μεταβολικές διαταραχές
9. Η διατροφή στη φροντίδα του καρκίνου
10. Εφαρμογές της Μοριακής Βιοτεχνολογίας στον Αγροτικό τομέα/Γεωργία
11. Μικροβιακή Βιοτεχνολογία και Ζυμώσεις στη Διατροφή
12. Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα: Προσεγγίσεις και Προκλήσεις
13. Ανάπτυξη Λειτουργικών Τροφίμων και Συμπληρωμάτων ως Στρατηγικές Πρόληψης Ασθενειών

Εργασία Μαθήματος

Γενικά

- ✓ Ομάδες (ιδανικά των 2 ατόμων)
- ✓ Κείμενο + Παρουσίαση

Δομή Εργασίας

Να περιλαμβάνει:

1. Τίτλο
2. Ονόματα
3. Περίληψη (έως 250 λέξεις)
4. Λέξεις-κλειδιά (keywords) (μέχρι 5)
5. Πίνακα περιεχομένων
6. Κύριο σώμα

Η έκταση της εργασίας να κυμαίνεται μεταξύ 2.500 (το ελάχιστο) και 3.000 λέξεων (το μέγιστο).