



Σχολή Επιστημών Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Η ανταγωνιστική σχέση της *Listeria monocytogenes* και των
οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) σε υπόστρωμα τυριών
τυρογάλακτος, με χρήση μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας
διαθέσιμων στο Διαδίκτυο»**

MSc Thesis

**«The competitive interactions between *Listeria monocytogenes* and
Lactic Acid Bacteria (LAB) in white soft fresh cheese substate, with the
use of microbiological predictive models available on the web»**

Διευθυντής

Καθ. Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α) Ιωάννης Τσάκνης

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Πυροβόλου Αικατερίνη

Pyrovolou Aikaterini

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Κοντελής Σπυρίδων

Konteles Spyridon

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2019



Faculty of Food Sciences
Department of Food Science and Technology

Master of Science
FOOD INNOVATION, QUALITY AND SAFETY

MSc THESIS

«The competitive interactions between *Listeria monocytogenes* and Lactic Acid Bacteria (LAB) in white soft fresh cheese substate, with the use of microbiological predictive models available on the web»

PYROVOLOU AIKATERINI

19024

katerinapirovolou@hotmail.com

SUPERVISOR
KONTELES SPYRIDON

AIGALEO 2019

Έγινε δεκτή

Ο Διευθυντής του ΠΜΣ:

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο 'Η ανταγωνιστική σχέση της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) σε υπόστρωμα τυριών τυρογάλακτος, με χρήση μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας διαθέσιμων στο Διαδίκτυο' που παρουσιάσθηκε από την Πυροβόλου Αικατερίνη, υποψηφίου για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία

Όνομα επιβλέποντος
Κοντελής Σπυρίδων, PhD, MSc
Ακαδημαϊκός Υπότροφος,
Επιστημονικός Και Εργαστηριακός
Συνεργάτης, Τμήμα Επιστήμης και
Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α.)

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής
Μπατρίνου Ανθιμιά, PhD, MSc
Επίκουρη Καθηγήτρια,
Τμήμα Επιστήμης και
Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α.)

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής
Στρατή Ειρήνη, PhD, MSc
Επίκουρη Καθηγήτρια,
Τμήμα Επιστήμης και
Τεχνολογίας Τροφίμων (ΠΑ.Δ.Α.)

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright

Έχοντας πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικής ιδιοκτησίας, δηλώνω ότι είμαι αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω όλες τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, στην περίπτωση που διαπιστωθεί διαχρονικά ότι η εργασία μου αυτή ή τμήμα αυτής αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Πυροβόλου Αικατερίνη

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Aikaterini Pyrovalou', with a long horizontal flourish extending to the right.

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Πυροβόλου Αικατερίνη του Λουκά, με αριθμό μητρώου 19024 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Καινοτομία, Ποιότητα Και Ασφάλεια Τροφίμων» του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή.

Η Δηλούσα

Πυροβόλου Αικατερίνη



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

*Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε από την φοιτήτρια Πυροβόλου Αικατερίνη, στα πλαίσια του προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Καινοτομία, Ποιότητα Και Ασφάλεια Τροφίμων» της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2019-2021. Το θέμα της μεταπτυχιακής εργασίας είναι: «Η ανταγωνιστική σχέση της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) σε υπόστρωμα τυριών τυρογάλακτος, με χρήση μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας διαθέσιμων στο Διαδίκτυο», που διεκπεραιώθηκε υπό την επίβλεψη του Δρ. Κοντελέ Σπυρίδωνος.*

Ολοκληρώνοντας τη συγγραφή της εργασίας αυτής, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα κάποιους ανθρώπους που μου έδωσαν τη δυνατότητα να την ξεκινήσω, με στήριξαν κατά τη διάρκεια εκπόνησής της και με βοήθησαν να τη φέρω εις πέρας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Καθηγητή Σπυρίδωνα Κοντελέ για την εμπιστοσύνη και την καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας. Επίσης, τον ευχαριστώ για την απόλυτη κατανόηση, συμπαράσταση και πολύτιμη βοήθειά του, καθώς και την μετάδοση των γνώσεων του που ήταν πραγματικά ανεκτίμητες. Η αρχική ιδέα ήταν η εκπόνηση πειραματικής εργασίας, ωστόσο η πρωτόγνωρη εμπειρία που ζήσαμε όλοι με την πανδημία του COVID-19 οδήγησε σε αλλαγή πορείας και προσαρμογή σε νέες συνθήκες. Μετά από τις ιδιαίτερα εποικοδομητικές συζητήσεις με τον Δρ. Κοντελέ, προσανατολιστήκαμε στη χρήση προορατικών μοντέλων για την προσέγγιση του αντικειμένου της εργασίας.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την γραμματέα του Μεταπτυχιακού Προγράμματος κα. Ευανθία Παπαπαύλου για την ωφέλιμη βοήθεια της, που πρόθυμα μας προσέφερε, καθώς και για τη συνεχή υποστήριξή της καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησής μας.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ και τεράστια ευγνωμοσύνη στην οικογένειά μου για τη στήριξη και όλα τα εφόδια που μου έχουν προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια, καθώς και στους φίλους μου για την στήριξη και την ενθάρρυνσή τους σε αυτή μου την προσπάθεια.

Πυροβόλου Αικατερίνη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το τυρί αποτελεί ένα από τα βασικότερα τρόφιμα της Μεσογειακής διατροφής, το οποίο είναι γνωστό για την υψηλή διατροφική του αξία. Ωστόσο, αποτελεί και ένα από τα πιο ευαλλοίωτα τρόφιμα, που για τη διατήρησή του απαιτείται η τήρηση συγκεκριμένων συνθηκών και κανόνων υγιεινής, για να διατηρηθούν τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, αλλά και για να αποφευχθεί ενδεχόμενη αύξηση του ήδη υψηλού μικροβιακού του φορτίου. Σκοπός της μελέτης αποτέλεσε η μείωση της συγκέντρωσης των παθογόνων μικροοργανισμών και συγκεκριμένα της *Listeria monocytogenes* στο υπόστρωμα τυριών τυρογάλακτος, με τη χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν προορατικά μοντέλα μικροβιολογίας (ComBase και Food Spoilage Safety Predictor) για την προσομοίωση των πραγματικών συνθηκών ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων και της *Listeria monocytogenes* σε υπόστρωμα τυριών τυρογάλακτος, καθώς και η συνύπαρξή τους σε κοινό υπόστρωμα.

Η *Listeria monocytogenes* αποτελεί ένα από τα πιο επικίνδυνα παθογόνα βακτήρια, το οποίο μπορεί να προκαλέσει σοβαρές λοιμώξεις στον ανθρώπινο οργανισμό, στην περίπτωση που καταναλωθεί τρόφιμο που περιέχει υψηλότερα cfu/gf από τα επιτρεπόμενα όρια με βάση τη νομοθεσία. Το τυρί είναι ένα από τα τρόφιμα που αποτελούν εξαιρετικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*, όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές.

Αρχικά στη μελέτη παρουσιάζεται ο προσδιορισμός της πιθανής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* στο ίδιο υπόστρωμα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής), με ίδιες συνθήκες περιβάλλοντος (pH, a_w , NaCl, κ.α.), αλλά με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης. Στην προσομοίωση αυτή χρησιμοποιήθηκαν και τα δύο προορατικά μοντέλα. Παρατηρήθηκε ότι η εναλλαγή στις θερμοκρασίες αποθήκευσης επηρεάζει την ποιότητα και τη διατηρησιμότητα του τροφίμου, καθώς και την επικινδυνότητά του, διότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, τόσο αυξάνεται και ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes*.

Με το προορατικό μοντέλο FSSP μελετήθηκε η ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός της ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν ταχύτερος από τον ρυθμό ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes*, όσο αυξανόταν η θερμοκρασία επώασης του υποστρώματος. Ο τελικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων αυξήθηκε εκθετικά και η τελική τους συγκέντρωση ήταν κατά πολύ μεγαλύτερη από αυτή της *Listeria monocytogenes*.

Η ανταγωνιστική σχέση των οξυγαλακτικών βακτηρίων και της *Listeria monocytogenes* παρουσιάζεται μόνο στα μοντέλα προορατικής μικροβιολογίας των FSSP. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρεμποδίζουν, ανάλογα με τον πληθυσμό τους, την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes* και αποτελούν μια τεχνική βιοπραστασία στο τρόφιμο. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι η ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) στη Μυζήθρα

επηρεάζει την επιβίωση και την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*, σε βαθμό ανάλογο με το ποσοστό του πληθυσμού των LAB, λόγω της ανταγωνιστικής τους σχέσης.

ABSTRACT

Soft fresh white cheese plays a key role in the Mediterranean nutrition, which is known for its high nutritional value. However, it has a high spoilage risk when there is no compliance in certain conditions and hygiene measures, in order to maintain its sensory quality and avoid a potential increase in microbiological levels. The aim of this study was the reduction of the pathogen microorganisms and especially of *Listeria monocytogenes* by using the lactic acid bacteria in cheese substrate. In this study microbiological predictive models (ComBase and Food Spoilage Safety Predictor) were used for the simulation of lactic acid bacteria and *Listeria monocytogenes* and their coexistence under real conditions in cheese substrate.

Listeria monocytogenes consists one of the most dangerous pathogenic bacteria, who can cause serious infections to humans, in case of food consumption higher in bacteria cfu/gr compared to the normal ranges as per the relevant regulations. Soft white cheese is a great substrate for *Listeria monocytogenes* proliferation in optimum conditions.

Firstly, in this dissertation thesis, it was examined the potential proliferation of *Listeria monocytogenes* in myzithra cheese substrate (frais and dry) having kept stable the same conditions (pH, a_w , NaCl, etc.), with different maintenance temperatures. In this simulation, both ComBase and FSSP predictive models were used. It was shown that the alteration in storage conditions affects the quality, shelf life of the product and also its hazard, because the more the temperature increases the more *Listeria monocytogenes* proliferates.

The predictive FSSP model was used for the simulation of acid bacteria (LAB) growth. It was observed that the rate of *Listeria monocytogenes* proliferation was higher as a consequence of the temperature increase. The final lactic acid bacteria population has an exponentially increase and their final concentration was way higher than *Listeria monocytogenes*.

The competitive interactions within acid lactic bacteria and *Listeria monocytogenes* were examined with the use of the FSSP predictive model. As a result, the lactic acid bacteria prohibited the *Listeria monocytogenes* proliferation proportionally to their concentration, having a “protective role” for the product due to their competitive relationship. Our results indicate that the growth of the lactic acid bacteria (LAB) in mizithra cheese affect both the survival and proliferation of *Listeria monocytogenes*, relative to the percentage of LAB population, due to their competitive relationship.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright.....	III
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	V
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	VI
ABSTRACT	VIII
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	1
1.1.1. Ιστορική Αναδρομή.....	1
1.1.2. Τα είδη του γένους <i>Listeria</i>	1
1.1.3. Ταξινόμηση του γένους <i>Listeria</i>	1
1.1.4. Μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά της <i>L. monocytogenes</i>	2
1.1.5. Μεταβολισμός και βιοχημικά χαρακτηριστικά της <i>L. monocytogenes</i>	4
1.1.6. Πρόέλευση του παθογόνου βακτηρίου <i>L. monocytogenes</i>	5
1.2.1. Παθογένεια του βακτηρίου <i>L. monocytogenes</i>	6
1.2.2. Λιστερίωση.....	9
1.2.3. Η λιστερίωση στην Ελλάδα.....	15
1.2.4. Επιδημιολογικά δεδομένα λιστερίωσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στην Αμερική.....	16
1.2.5. Ευρωπαϊκή Νομοθεσία για το παθογόνο βακτήριο <i>L. monocytogenes</i>	18
1.2.6. Μικροβιολογικά κριτήρια (Κανονισμός Ε.Ε. αριθ. 2073/2005) για τη <i>L. monocytogenes</i>	18
1.3.1. <i>Listeria monocytogenes</i> και εισαγωγή της τεχνολογίας εμποδίων.....	22
1.3.2. Αρχή της τεχνολογίας εμποδίων	22
1.3.3. Μέτρα ελέγχου για την αδρανοποίηση της <i>L. monocytogenes</i>	24
1.3.4. Διασταυρούμενη μόλυνση και αποφυγή αυτής.....	25
1.4.1. Η ανάπτυξη της <i>L. monocytogenes</i> και οι παράγοντες που την επηρεάζουν.....	33
1.4.2. Ανθεκτικότητα της <i>L. monocytogenes</i> σε ποικίλους φυσικούς και χημικούς παράγοντες	38
1.4.2.1. Επιβίωση και ανάπτυξη της <i>L. monocytogenes</i> στα τρόφιμα.....	38
1.4.2.2. Επιβίωση και ανάπτυξη της <i>L. monocytogenes</i> στο περιβάλλον.....	41
1.4.3. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξή της	42
1.4.4. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση του ψύχους στην ανάπτυξή της.....	42
1.4.5. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση της ενεργότητας νερού στην ανάπτυξή της	43
1.4.6. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση της οσμωτικής πίεσης στην ανάπτυξή της	44
1.4.7. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στην ανάπτυξή της.....	44
1.4.8. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση του pH στην ανάπτυξή της	45
1.4.9. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση του χαμηλού pH στην ανάπτυξή της.....	46

1.4.9.1. Η χρήση ασθενών οξέων ως συντηρητικά και η επίδρασή τους στη <i>L. monocytogenes</i>	48
1.4.10. Η ικανότητα προσκόλλησης σε αδρανείς επιφάνειες - biofilms από τη <i>L. monocytogenes</i> και άλλα βακτήρια	49
1.4.10.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ικανότητα προσκόλλησης των βακτηρίων	51
1.4.11. Η <i>L. monocytogenes</i> και η επίδραση της τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) στην ανάπτυξή της	52
1.5.1. Η παρουσία της <i>Listeria monocytogenes</i> στο τυρί.....	54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ (LAB)	57
2.1.1. Εισαγωγή	57
2.1.2. Γενικά χαρακτηριστικά των οξυγαλακτικών βακτηρίων.....	57
2.2.1. Εισαγωγή στην τεχνολογία της βιοπροστασίας	58
2.2.2. Η έννοια της βιοπροστασίας στα τρόφιμα.....	59
2.3.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και τα χαρακτηριστικά της φυσιολογίας τους.....	61
2.3.2. Οι κυριότερες οικογένειες και τα βασικότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων	64
2.3.3. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και η ταξινόμησή τους.....	66
2.3.3.1. Μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά ορισμένων γενών των οξυγαλακτικών βακτηρίων	70
2.4.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και οι μεταβολικές τους ιδιότητες	75
2.4.1.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και ο μεταβολισμός των σακχάρων	76
2.5.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως προστατευτικές καλλιέργειες	81
2.5.1.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως καλλιέργειες εκκίνησης	82
2.5.1.2. Η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως εκκινητών στην βιομηχανία γάλακτος	82
2.5.1.3. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως εναρκτήριες και μη εναρκτήριες καλλιέργειες στην παρασκευή τυριών	83
2.5.2. Ταξινόμηση των καλλιεργειών εκκίνησης στα γαλακτοκομικά προϊόντα.....	85
2.6.1. Επίδραση των οξυγαλακτικών καλλιεργειών στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των τυριών.....	86
2.6.1.1. Ζύμωση της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.....	86
2.6.1.2. Διάσπαση πρωτεϊνών από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.....	87
2.6.1.3. Υδρόλυση λίπους από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.....	89

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΤΟ ΤΥΡΙ	90
3.1.1. Τυρί	90
3.1.2. Εισαγωγή στην Τυροκομεία	90
3.1.3. Σχέση μικροοργανισμών και τυριών	91
3.1.4. Κατηγοριοποίηση τυριών	92
3.1.5. Χρήση γαλακτικών βακτηρίων στην παραγωγή τυριών	93
3.2.1. Πρώτες ύλες για την παρασκευή τυριού	93
3.2.1.1. Γάλα προς τυροκόμηση	94
3.2.1.2. Μικροβιολογικό φορτίο του γάλακτος τυροκόμησης	96
3.2.1.3. Αντιμικροβιακές ουσίες στο γάλα τυροκόμησης	99
3.2.1.4. Ένζυμα πήξης του γάλακτος	99
3.2.2.1. Πυτιά-Υποκατάστατα πυτιάς	100
3.2.2.2. Ένζυμα πυτιάς	101
3.2.2.3. Πηκτική Δύναμη	102
3.2.2.4. Υποκατάστατα πυτιάς	102
3.2.3.1. Αλάτι	103
3.2.3.2. Επίδραση της προσθήκης αλατιού	103
3.2.4.1. Ειδικές μικροβιακές καλλιέργειες	105
3.2.4.2. Βακτήρια Καλλιεργιών	107
3.2.4.3. Οξυγαλακτικά Βακτήρια	108
3.2.5.1. Δευτερεύοντα Συστατικά	114
3.3.1. Παρασκευή τυριού	116
3.3.2. Ταξινόμηση Τυριού	117
3.3.3. Σύσταση - Θρεπτική Αξία Τυριού	120
3.3.4. Διατροφική αξία	122
3.3.5. Αλλοιώσεις και κίνδυνοι στα τυριά	123
3.4.1. Εισαγωγή Σχεδίου HACCP για την Παραγωγή Τυριών Τυρογάλακτος	125
3.4.2. Βασικά χαρακτηριστικά ορισμένων Ελληνικών Τυριών	128
3.4.3. Εφαρμογή του HACCP κατά την Παραγωγή Γαλακτοκομικών Προϊόντων	129
3.4.3.1. Περιγραφή τυριών τυρογάλακτος	129
3.4.3.2. Διάγραμμα ροής παραγωγής τυριών τυρογάλακτος	130
3.4.3.3. Ανάλυση και έλεγχος κινδύνων κατά την παραγωγή τυριών τυρογάλακτος	131
3.4.3.4. Σχέδιο HACCP για την παραγωγή Τυριών Τυρογάλακτος	134
ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	138

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	139
4.1. Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας με τη μέθοδο ComBase Predictor.....	139
4.2. Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας με τη μέθοδο Food Spoilage and Safety Predictor.....	139

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΟΡΑΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ΚΑΙ ΤΩΝ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ (LAB) ΣΕ ΟΥΔΕΤΕΡΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΚΑΙ ΣΕ ΤΥΡΙΑ.....140

5.1. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (ComBase Predictor).....	140
5.1.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Broth Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός <i>Listeria monocytogenes</i>	140
5.2. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	146
5.2.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός <i>Listeria monocytogenes</i>	146
5.3. Συνθήκες ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	152
5.3.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός Lactic Acid Bacteria (LAB).....	152
5.4. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	158
5.4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2.....	158

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΠΡΟΟΡΑΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ΚΑΙ ΤΩΝ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ (LAB) ΣΕ ΟΥΔΕΤΕΡΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΚΑΙ ΣΕ ΤΥΡΙΑ.....164

6.1. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (ComBase Predictor):.....	164
6.1.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Broth Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός <i>Listeria monocytogenes</i>	164

6.1.1.1. Μοντέλο ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε 4 °C και 20 °C.....	164
6.1.1.2. Μοντέλο ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε 7 °C και 20 °C.....	165
6.1.1.3. Μοντέλο ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε 10 °C και 20 °C.....	166
6.1.1.4. Μοντέλο ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε 15 °C και 20 °C.....	167
6.1.1.5. Μοντέλο ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε 4, 7, 10 και 20 °C.....	167
6.2. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	169
6.2.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός <i>Listeria monocytogenes</i>	169
6.2.1.1. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	169
6.2.1.2. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	170
6.2.1.3. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	171
6.2.1.4. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	173
6.2.1.5. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	175
6.2.1.6. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	176
6.3. Συνθήκες ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	179
6.3.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός Lactic Acid Bacteria (LAB)	179
6.3.1.1. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	179

6.3.1.2. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	180
6.3.1.3. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα	181
6.3.1.4. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	183
6.3.1.5. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	184
6.3.1.6. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	186
6.4. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):	188
6.4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2.....	188
6.4.1.1. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	188
6.4.1.2. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	190
6.4.1.3. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	192
6.4.1.4. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	194
6.4.1.5. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000	

cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	197
6.4.1.6. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	200

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ203

7.1. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (ComBase Predictor):.....	203
7.1.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Broth Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός <i>Listeria monocytogenes</i>	203
7.2. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	205
7.2.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός <i>Listeria monocytogenes</i>	205
7.3. Συνθήκες ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):.....	208
7.3.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός Lactic Acid Bacteria (LAB)	208
7.4. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):	211
7.4.1. <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2.....	211

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ217

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων και επίπτωση της λιστερίωσης στην Ελλάδα	16
Πίνακας 1.2: Χρήση φυσικών και φυσικοχημικών παραμέτρων στη συντήρηση τροφίμων	23
Πίνακας 1.3: Προτεινόμενο πρόγραμμα καθαρισμού και απολύμανσης για τις επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση	32
Πίνακας 1.4: Προτεινόμενο πρόγραμμα καθαρισμού και απολύμανσης για επιφάνειες, περιοχές και εξοπλισμό που δεν έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση	32
Πίνακας 1.5: Γονίδια που συμμετέχουν στον μηχανισμό αντοχής στο ψύχος της <i>L. monocytogenes</i>	35
Πίνακας 1.6: Όρια ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου <i>L. monocytogenes</i>	35
Πίνακας 1.7: Χρόνος διπλασιασμού <i>L. monocytogenes</i> σε γαλακτοκομικά είδη.....	36
Πίνακας 1.8: Χρόνος διπλασιασμού <i>L. monocytogenes</i> σε κρεατοσκευάσματα.....	36
Πίνακας 1.9: Ρυθμός ανάπτυξης <i>L. monocytogenes</i> σε καπνιστά θαλασσινά.....	37
Πίνακας 1.10: Ρυθμός ανάπτυξης <i>L. monocytogenes</i> σε ποικίλες κατηγορίες τροφίμων	37
Πίνακας 1.11: Όρια ανάπτυξης και επιβίωσης του παθογόνου βακτηρίου <i>L. monocytogenes</i> ..	38
Πίνακας 2.1: Η διαφοροποίηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων με βάση τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν	58
Πίνακας 2.2: Οι κυριότερες οικογένειες και τα βασικότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία έχουν απομονωθεί από τα τρόφιμα. Συμπεριλαμβάνονται τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, καθώς και τα αναγνωρισμένα βακτήρια, που χρησιμοποιούνται ως εναρκτήριες καλλιέργειες (S-LAB) και δευτερεύουσες εναρκτήριες καλλιέργειες (NS-LAB) στα τρόφιμα	65
Πίνακας 2.3: Η ταξινόμηση των βακτηρίων του γένους <i>Lactobacillus</i> , βασιζόμενη στα φαινοτυπικά τους χαρακτηριστικά.....	68
Πίνακας 2.4: Συστηματική ταξινόμηση των καλλιεργειών εκκίνησης που χρησιμοποιούνται στα γαλακτοκομικά προϊόντα	85
Πίνακας 3.1: Ανώτατο μικροβιακό φορτίο νωπού γάλακτος αγελάδος και αιγοπροβάτων.....	96
Πίνακας 3.2: Σύσταση επί της εκατό (%) γάλακτος διαφόρων ζώων.....	96
Πίνακας 3.3: Προδιαγραφές νωπού γάλακτος για παραγωγή προϊόντων	97
Πίνακας 3.4: Μικροβιολογικές προδιαγραφές στα τυριά	98
Πίνακας 3.5: Χαρακτηριστικά σπουδαιότερων μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως οξυγαλακτικές καλλιέργειες	113
Πίνακας 3.6: Χαρακτηριστικά σπουδαιότερων μικροοργανισμών γαλακτικού οξέος που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία.....	113
Πίνακας 3.7: Είδη τυριών που ωριμάζουν με βακτήρια	118

Πίνακας 3.8: Είδη τυριών που ωριμάζουν με μύκητες	119
Πίνακας 3.9: Είδη τυριών που δεν ωριμάζουν	119
Πίνακας 3.10: Είδη τυριών με επιφανειακή ανάπτυξη βακτηρίων	120
Πίνακας 3.11: Θρεπτική αξία τυριού σε σύγκριση με άλλα βασικά τρόφιμα	121
Πίνακας 3.12: Κύρια θρεπτικά συστατικά σε εκατό γραμμάρια τυρί και ποσοστά κάλυψης των ημερήσιων αναγκών ενός ενήλικα άντρα	122
Πίνακας 3.13: Κριτήρια ασφάλειας από μικροβιολογικής άποψης στα τυριά	124
Πίνακας 3.14: Βασικά χαρακτηριστικά ορισμένων Ελληνικών Τυριών	128
Πίνακας 3.15: Περιγραφή τυριών τυρογάλακτος	129
Πίνακας 3.16: Σχέδιο HACCP για την παραγωγή Τυριών Τυρογάλακτος	134
Πίνακας 5.1: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 20 °C, παρουσία αέρα	140
Πίνακας 5.2: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 7 °C και 20 °C, παρουσία αέρα	141
Πίνακας 5.3: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 10 °C και 20 °C, παρουσία αέρα	142
Πίνακας 5.4: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 15 °C και 20 °C, παρουσία αέρα	143
Πίνακας 5.5: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4, 7, 10 και 20 °C, παρουσία αέρα	144
Πίνακας 5.6: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα	146
Πίνακας 5.7: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα	146

Πίνακας 5.8: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	147
Πίνακας 5.9: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	147
Πίνακας 5.10: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	148
Πίνακας 5.11: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	148
Πίνακας 5.12: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	149
Πίνακας 5.13: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	149
Πίνακας 5.14: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	150
Πίνακας 5.15: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	150
Πίνακας 5.16: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	151
Πίνακας 5.17: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό <i>Listeria monocytogenes</i> και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	151
Πίνακας 5.18: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	152
Πίνακας 5.19: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	152

Πίνακας 5.20: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	153
Πίνακας 5.21: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	153
Πίνακας 5.22: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	154
Πίνακας 5.23: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	154
Πίνακας 5.24: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	155
Πίνακας 5.25: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	155
Πίνακας 5.26: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	156
Πίνακας 5.27: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	156
Πίνακας 5.28: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	157
Πίνακας 5.29: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	157
Πίνακας 5.30: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	158
Πίνακας 5.31: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	158

Πίνακας 5.32: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	159
Πίνακας 5.33: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	159
Πίνακας 5.34: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	160
Πίνακας 5.35: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	160
Πίνακας 5.36: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	161
Πίνακας 5.37: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	161
Πίνακας 5.38: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	162
Πίνακας 5.39: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	162
Πίνακας 5.40: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	163
Πίνακας 5.41: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	163

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Ετήσια δηλωθείσα επίπτωση της λιστερίωσης (αριθμός κρουσμάτων ανά 1.000.000 κατοίκους) στην Ελλάδα.....	16
Σχήμα 1.2: Η κατανομή των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων λιστερίωσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση (EU/ΕΕΑ) ανά μήνα για τα έτη 2013–2017	17
Σχήμα 1.3: Η επίδραση των επιπέδων της <i>L. monocytogenes</i> στον αριθμό θανάτων ανά έτος και η επίδραση μιας ενδεχόμενης αλλαγής στα επίπεδα διασταυρούμενης μόλυνσης, σύμφωνα με την τρίτη περίπτωση (S3).....	26
Σχήμα 1.4: Η επίδραση της αλλαγής συχνότητας (2,3%) της διασταυρούμενης μόλυνσης στους θανάτους ανά έτος, σύμφωνα με την τρίτη περίπτωση (S3). Μια αύξηση της τάξεως του 2,7% (2,3 στο 5%) στην συχνότητα της διασταυρούμενης μόλυνσης, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των θανάτων ανά έτος κατά 100+ %	26
Σχήμα 1.5: Οι πορείες που μπορεί να ακολουθήσει μια ενδεχόμενη διασταυρούμενη μόλυνση από το παθογόνο βακτήριο <i>L. monocytogenes</i> σε εργοστάσιο επεξεργασίας ψαριών. Οι συμπαγείς γραμμές παρουσιάζουν την αλλαγή από τη μη επιμολυσμένη κατάσταση στην επιμολυσμένη, ενώ οι διακεκομμένες γραμμές αναπαριστούν τις επιρροές αυτών των αλλαγών.....	28
Σχήμα 1.6: Αναλυτική παρουσίαση όλων των πιθανών παραμέτρων, που ελήφθησαν υπόψη για την ανάπτυξη του μαθηματικού μοντέλου διασταυρούμενης μόλυνσης από το παθογόνο βακτήριο <i>L. monocytogenes</i> σε εργοστάσιο επεξεργασίας ψαριών	28
Σχήμα 1.7: Παράγοντες που επηρεάζουν την επιμόλυνση των τροφίμων από τη <i>L. monocytogenes</i>	29
Σχήμα 1.8: Προτεινόμενη διαμόρφωση χώρου, για την αποφυγή επιμόλυνσης από το παθογόνο βακτήριο <i>L. monocytogenes</i> , ανά διαμερίσματα σε βιομηχανία τροφίμων	32
Σχήμα 1.9: Η επιβίωση της <i>L. monocytogenes</i> στους -20 °C	34
Σχήμα 1.10: Η επιβίωση της <i>L. monocytogenes</i> στους -20 °C υπό κενό και παρουσία αέρα.....	34
Σχήμα 1.11: Κατά την διαδικασία ενεργοποίησης της αντοχής στο ψύχος από την <i>L. monocytogenes</i> , πραγματοποιείται η παραπάνω ακολουθία μοριακών γεγονότων. Στην αντοχή της <i>L. monocytogenes</i> στο ψύχος συμμετέχει ένα πρωτεϊνικό δίκτυο, το οποίο ενεργοποιείται όταν γίνει αντιληπτό το ψύχος από τα ριβοσώματα. Τα διακεκομμένα βέλη υποδηλώνουν τα στάδια που ενδεχομένως εμπλέκονται στην εφαρμογή των μηχανισμών που αντιστέκονται στο ψύχος. Τα στάδια, τα οποία ευθύνονται για την αλλαγή της δομής των λιπαρών οξέων, αλλά και για τους μηχανισμούς συσσώρευσης των οσμοπροστατευτικών ουσιών παρουσιάζονται με τα συνεχή βέλη.....	34
Σχήμα 1.12: Μοριακές δομές των λιπαρών οξέων των μεμβρανών της <i>L. monocytogenes</i>	35
Σχήμα 2.1: Η σχηματική απεικόνιση της αποικοδόμησης της γλυκόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.....	76

Σχήμα 2.2: Το ομοζυμωτικό και το ετεροζυμωτικό μεταβολικό μονοπάτι της γλυκόζης.....	79
Σχήμα 3.1: Διάγραμμα ροής παραγωγής τυριών τυρογάλακτος.....	130
Σχήμα 5.1: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.....	140
Σχήμα 5.2: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 7 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.....	141
Σχήμα 5.3: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 10 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.....	142
Σχήμα 5.4: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 15 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.....	143
Σχήμα 5.5: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4, 7, 10 και 20 °C, παρουσία αέρα.....	144
Σχήμα 5.6: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	146
Σχήμα 5.7: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	147
Σχήμα 5.8: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	148
Σχήμα 5.9: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	149
Σχήμα 5.10: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	150
Σχήμα 5.11: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Listeria monocytogenes</i>) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	151

Σχήμα 5.12: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	152
Σχήμα 5.13: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.....	153
Σχήμα 5.14: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα	154
Σχήμα 5.15: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	155
Σχήμα 5.16: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	156
Σχήμα 5.17: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (<i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα	157
Σχήμα 5.18: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	158
Σχήμα 5.19: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	159
Σχήμα 5.20: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.....	160
Σχήμα 5.21: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	161
Σχήμα 5.22: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και <i>Lactic Acid Bacteria</i> (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 1000	

cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	162
Σχήμα 5.23: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης <i>Listeria monocytogenes</i> και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: <i>L. monocytogenes</i> 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.....	163

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Ανάπτυξη παθογόνου βακτηρίου <i>Listeria monocytogenes</i> σε διαφορετικά υποστρώματα.....	2
Εικόνα 1.2: <i>L. monocytogenes</i> , απεικόνιση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στην δεξιά φωτογραφία είναι εμφανή τα όργανα κίνησης (βλεφαρίδες)	4
Εικόνα 1.3: Τα στάδια της μόλυνσης του παθογόνου βακτηρίου <i>Listeria monocytogenes</i> στον ανθρώπινο οργανισμό	8
Εικόνα 1.4: Είσοδος της <i>Listeria monocytogenes</i> στα ανθρώπινα κύτταρα.....	10
Εικόνα 1.5: Η εισβολή της <i>Listeria monocytogenes</i> στα εντερικά κύτταρα και η αλληλεπίδρασή της με την μικροχλωρίδα του εντέρου	12
Εικόνα 2.1: Μορφολογία οξυγαλακτικών βακτηρίων (αριστερά). Αποικία οξυγαλακτικών βακτηρίων (δεξιά).....	63
Εικόνα 2.2: Απεικόνιση του οξυγαλακτικού βακτηρίου <i>Lactobacillus paracasei</i> σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Το συγκεκριμένο βακτήριο αποτελεί μικροοργανισμό που παράγει βακτηριοσίνες	73

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 *LISTERIA MONOCYTOGENES*

1.1.1. Ιστορική Αναδρομή

Οι Murray et al., (1926) περιέγραψαν για πρώτη φορά το βακτήριο *Listeria monocytogenes* και το ονόμασαν αρχικά *Bacterium monocytogenes*, λόγω της χαρακτηριστικής μονοκυττάρωσης, που παρατηρήθηκε σε μολυσμένα κουνέλια του εργαστηρίου. Ο Pirie, το 1927, ανακάλυψε ένα νέο μικροοργανισμό, τον οποίο ονόμασε *Listerella hepatolytica*, αφιερωμένο στη μνήμη του ερευνητή Lord Lister, που ανακάλυψε την αντισηψία. Αφορμή της συγκεκριμένης ανακάλυψης αποτέλεσαν οι ασυνήθιστοι θάνατοι γεβίλων (τροφικών), κατά τη διάρκεια ερευνών στο Γιοχάνεσμπουργκ της Νοτίου Αφρικής. Εν συνεχεία, ο Murray και ο Pirie διαπίστωσαν από κοινού ότι οι δύο μικροοργανισμοί είχαν την ίδια μορφολογία και τα ίδια φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά και, επομένως, πρόκειται για τον ίδιο μικροοργανισμό τη *Listerella monocytogenes* (Ryser and Marth, 2007). Ωστόσο, η Εθνική Επιτροπή της Συστηματικής Βακτηρολογίας (International Committee on Systematic Bacteriology), το 1939, απέρριψε την ονομασία *Listerella*, διότι είχε ήδη δοθεί σε άλλη κατηγορία μικροοργανισμών και συγκεκριμένα είχε δοθεί σε μια κατηγορία μυξομυκήτων (Ryser and Marth, 2007). Η τελική ονομασία του βακτηρίου, που δόθηκε το 1940 από τον Pirie, ήταν *Listeria monocytogenes* και επικρατεί έως σήμερα.

1.1.2. Τα είδη του γένους *Listeria*

Τα *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria ivanovii*, *Listeria grayi*, *Listeria murrayi*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria marthii* και *Listeria rocourtiae* είναι τα εννέα είδη του γένους *Listeria*, που έχουν ταυτοποιηθεί (Milillo et al., 2012; Zhang et al., 2012). Το σημαντικότερο και, ίσως, το πιο επικίνδυνο είδος του γένους για τον ανθρώπινο οργανισμό είναι η *Listeria monocytogenes*. Το πρώτο κρούσμα που προκλήθηκε από τον μικροοργανισμό, ο οποίος αρχικά χαρακτηρίστηκε ως βάκιλος το 1926 (Murray et al., 1926), αναφέρθηκε το 1929 και η λοίμωξη ονομάστηκε λιστερίωση, λόγω της προέλευσής της. Από το 2001 ανήκουν στην οικογένεια *Listeriaceae* (Todar, 2012a). Στις ευπαθείς ομάδες συγκαταλέγονται ανοσοκατεσταλμένα άτομα, για παράδειγμα θετικά στον ιό του HIV, διαβητικοί, άτομα με καρδιαγγειακά προβλήματα, άτομα που λαμβάνουν αγωγή με κορτικοστεροειδή και έγκυες (Ockerman and Basu, 1999; Pinar, 2011). Σε αυτές τις κατηγορίες, το ποσοστό θνησιμότητας κυμαίνεται μεταξύ 20 και 40% (Kovačević et al., 2012; Lianou and Sofos, 2007).

1.1.3. Ταξινόμηση του γένους *Listeria*

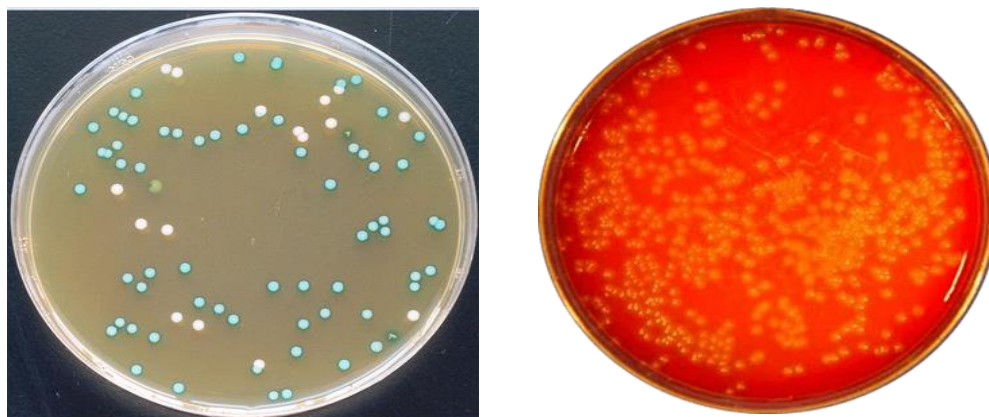
Στην 9^η έκδοση του Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, με τίτλο 'Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods', περιέχεται η ταξινόμηση του γένους *Listeria*, καθώς και των *Lactobacillus*, *Erysipelothrix*, *Brochotrix* (Seeliger et al., 1986).

Τα δύο γένη *Listeria* και *Brochothrix* είναι θετικά στο τεστ καταλάσης, ενώ το γένος *Lactobacillus* είναι αρνητικό. Τα γένη αυτά παράγουν γαλακτικό οξύ, ως προϊόν ζύμωσης της λακτόζης και άλλων σακχάρων. Αρχικά, τα γένη των βακτηρίων *Listeria* παρομοιάζονταν με αυτά των *Coryneform* και, συνεπώς, είχαν ταξινομηθεί στην ίδια οικογένεια, *Corynebacteriaceae*. Πλέον, είναι γεγονός ότι τα βακτήρια *Listeria* είναι ταυτόσημα με τα *Bacillus*, *Lactobacillus* και *Streptococcus* (Jones, 1998).

Τα είδη *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* και *L. grayi* δεν σχετίζονται με τα υπόλοιπα είδη *Listeria*, καθώς και με τα πρόσφατα αναγνωρισμένα είδη των *L. Marthii* (Graves et al., 2010) και *L. rocourtiae* (Leclercq, 2010). Παθογόνα βακτήρια για τον άνθρωπο αποτελούν τα *L. ivanovii* και *L. monocytogenes*, με μόνη διαφορά ότι η *L. ivanovii* εμφανίζεται σπανίως και προκαλεί ασθένεια, κυρίως, στα μηρυκαστικά. Τέλος, η *L. monocytogenes* συνδέεται πιο συχνά με τοφιμογενείς λοιμώξεις στον άνθρωπο και στα ζώα (Orsi et al., 2011).

1.1.4. Μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά της *L. monocytogenes*

Το εύρος ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* κυμαίνεται από -0,4 έως 50 °C και ανήκει στην κατηγορία των θετικών κατά Gram, μη σπορογόνων, προαιρετικά αναερόβιων ραβδόμορφων βακτηρίων (Mastronicolis et al., 2006; Mastronicolis et al., 2011; Farber and Peterkin, 1991). Η χαρακτηριστική κινητικότητα του βακτηρίου οφείλεται στο περίτριχο μαστίγιο που διαθέτει και συμβαίνει σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες, οι οποίες είναι οι κατάλληλες. Ιδανικές θερμοκρασίες για την παραγωγή φλαζελλίνης είναι μεταξύ 20 έως 25 °C, δηλαδή εντός του εύρους των θερμοκρασιών που το βακτήριο αναπτύσσεται. Εάν η θερμοκρασία φτάσει τους 37 °C, μειώνεται αισθητά η συγκέντρωση της φλαζελλίνης (Farber and Peterkin, 1991). Τέλος, όταν οι αποικίες του παθογόνου μικροοργανισμού φωτιστούν από πλάγια θέση, εμφανίζουν μια μπλε-πράσινη απόχρωση (Henry, 1933).

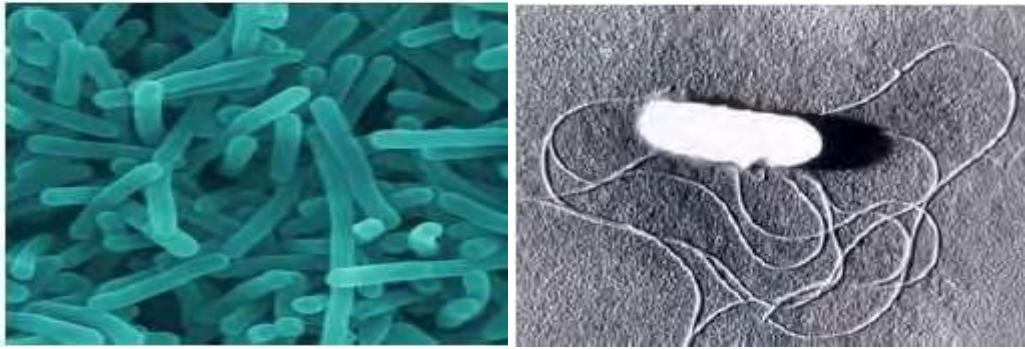


Εικόνα 1.1: Ανάπτυξη παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* σε διαφορετικά υποστρώματα. (https://huankai.en.alibaba.com/product/60323610738-213151924/Chromogenic_medium_Chromogenic_Listeria_monocytogenes_Agar.html, <https://microbeonline.com/listeria-monocytogenes-pathogenesis-lab-diagnosis/>)

Όπως προαναφέρθηκε, η *L. monocytogenes* αποτελεί ένα Gram θετικό βακτήριο, το οποίο δεν είναι σπορογόνο και ανήκει στην κατηγορία των προαιρετικά αναερόβιων βακτηρίων. Ο όρος προαιρετικά αναερόβιο σημαίνει ότι το βακτήριο αναπτύσσεται παρουσία ή μη οξυγόνου, εξίσου καλά. Βακτήρια αυτής της κατηγορίας είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την μικροβιολογία συσκευασμένων τροφίμων, διότι έχουν την ικανότητα να αναπτυχθούν στα τελικά προϊόντα, που έχουν ολοκληρώσει την διαδικασία παραγωγής τους και έχουν ήδη συσκευαστεί. Ωστόσο, οι βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης της *L. monocytogenes* είναι οι μικροαερόφιλες. Επιπροσθέτως, το βακτήριο δίνει αρνητικό αποτέλεσμα στο τεστ οξειδάσης, ενώ δίνει θετικό αποτέλεσμα στις καταλάσης. Είναι ικανό να ζυμώνει διάφορα σάκχαρα όπως είναι η ραμνόζη, η δεξτρόζη και η μαλτόζη, αλλά δεν μπορεί να ζυλώσει την ξυλόζη και την μανιτόλη. Το εύρος της θερμοκρασίας ανάπτυξης του βακτηρίου είναι αρκετά μεγάλο, όπως ειπώθηκε και παραπάνω. Δηλαδή, η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξης του είναι γύρω στους 3 °C, με άριστη ανάπτυξη περίπου στους 30 °C. Ο μικροοργανισμός θεωρείται ψυχρότροφος, καθώς έχει τη δυνατότητα να πολλαπλασιαστεί σε θερμοκρασίες ψύξης, γεγονός που τον διαφοροποιεί από τους μεσόφιλους μικροοργανισμούς. Άλλωστε, αυτό επιβεβαιώνεται και από την ύπαρξη του βακτηρίου σε τρόφιμα που συντηρούνται υπό ψύξη (Adams and Moss, 2000; Ryser and Donnelly, 2001).

Η μορφολογία των βακτηριακών κυττάρων είναι είτε κοκκοειδής, είτε ραβδόμορφη. Η διάμετρος των κυττάρων κυμαίνεται από 0,4 έως 0,5 μm και το μήκος τους από 0,5 έως 2 μm, με το μέγιστο μήκος τους να φτάνει μέχρι τα 10 μm. Όσον αφορά τον τρόπο ανάπτυξης των κυττάρων της *L. monocytogenes*, είναι συνήθως μεμονωμένος για κάθε κύτταρο. Διαφορετικά, τα βακτηριακά κύτταρα δημιουργούν σχηματισμούς κοντών αλυσίδων μορφής V ή Y, όταν αναπτύσσονται. Το μέγεθος των κυττάρων έχει περίπου τις ακόλουθες διαστάσεις: 0,4 έως 0,5 μm × 0,5 έως 2,0 μm. Όσον αφορά την κινητικότητα του βακτηρίου, η βλεφαρίδα είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνη για την κίνηση του και συναντάται σε θερμοκρασίες βακτηριακής ανάπτυξης των 20 με 25 °C (Datta, 2003). Επιπροσθέτως, η ενδοκυτταρική της κίνηση γίνεται χρησιμοποιώντας τον πολυμερισμό της ακτίνης (Young, 2006). Τέλος, ένα από τα υποστρώματα καλλιέργειας των πληθυσμών του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* είναι το άγαρ τρυπτόνης και οι αποικίες που δημιουργούνται σε αυτό έχουν το χαρακτηριστικό μπλε - πράσινο χρώμα, που προαναφέρθηκε (Adams and Moss, 2000).

Η δημιουργία αποικιών μικρού μεγέθους με διάμετρο από 0,2 έως 0,8 mm, που φέρουν ένα χαρακτηριστικό μπλε-γκρι χρώμα, είναι αποτέλεσμα της 24ωρης καλλιέργειας των κυττάρων σε συγκεκριμένο θρεπτικό άγαρ (Ryser and Donnelly, 2001). Η χαρακτηριστικότερη αντίδραση, η οποία είναι υπεύθυνη για την παραγωγή της λιστεριολυσίνης O και, κατά συνέπεια, είναι υπεύθυνη και για την παθογένεια του βακτηρίου, είναι η αντίδραση της β-αιμόλυσης. Η παραγωγή της λιστεριολυσίνης O λειτουργεί σε συνδυασμό με την αιμόλυση, η οποία προκαλεί την αιμόλυση στο αίμα (Adams and Moss, 2000). Τέλος, η παθογένεια του βακτηρίου *L. monocytogenes* είναι συνδεδεμένη και με την παραγωγή της φωσφολιπάσης (Farber and Peterkin, 1991; Hof and Rocourt, 1992).



Εικόνα 1.2: *L. monocytogenes*, απεικόνιση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στην δεξιά φωτογραφία είναι εμφανή τα όργανα κίνησης (βλεφαρίδες) (The food safety file *L. monocytogenes*, 2008).

1.1.5. Μεταβολισμός και βιοχημικά χαρακτηριστικά της *L. monocytogenes*

Τα στελέχη του παθογόνου βακτηρίου *Listeria* έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται στην γλυκόζη και υπό αναερόβιες συνθήκες να παράγουν ως κύρια τελικά προϊόντα των αντιδράσεών τους το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ και την ακετοΐνη, η οποία παράγεται μόνο κάτω από αερόβιες συνθήκες (Pine et al., 1989; Romick et al., 1996). Η παραγωγή ακετοΐνης δεν επιτυγχάνεται υπό αναερόβιες συνθήκες, όπως συμβαίνει στα υπόλοιπα προϊόντα παραγωγής της *Listeria*. Επιπροσθέτως, ισχύει ότι η ανάπτυξη των στελεχών στις εξόζες και τις πεντόζες υποστηρίζεται μόνο κάτω από αναερόβιες συνθήκες, σε αντίθεση με την μαλτόζη και την λακτόζη που υποστηρίζουν την ανάπτυξη κάποιων στελεχών του βακτηρίου υπό αερόβιες συνθήκες. Ωστόσο, η σακχαρόζη δεν αποτελεί σάκχαρο, που υποστηρίζει την ανάπτυξη των συγκεκριμένων στελεχών (Pine et al., 1989).

Η γλυκόλυση είναι μία μεταβολική πορεία, κατά την οποία ένα μόριο γλυκόζης καταβολίζεται προς δύο μόρια πυροσταφυλικού, με την ταυτόχρονη καθαρή παραγωγή δύο μορίων ATP. Είναι μία βιοχημική διεργασία διάσπασης σακχάρων και ιδιαίτερα της γλυκόζης, η οποία είναι η πρωταρχική μητρική ένωση όλων των οργανικών χημικών ενώσεων που απαντούν στη φύση, καθώς είναι προϊόν της φωτοσύνθεσης. Η πραγματοποίηση της γλυκόλυσης γίνεται μέσω του μονοπατιού Embden-Meyerhof είτε αερόβια, είτε αναερόβια (Seeliger et al., 1986). Τέλος, ποικίλες ενώσεις, όπως είναι η αμυγδαλίνη, η κυτταρίνη, η φρουκτόζη, η μανόζη, η σαλικίνη, η μαλτόζη, οι δεξτρίνες, ο α-μεθυλο-D-γλυκοζίτης και η γλυκερόλη, χρειάζονται για την παραγωγή οξέων από το βακτήριο της *Listeria*. Στην περίπτωση της παραγωγής οξέων από τη λακτόζη, την γαλακτόζη, την μελεζιτόλη, την σορβιτόλη, το άμυλο και την σακχαρόζη υπάρχουν αρκετές διαφοροποιήσεις, σε σύγκριση με την διαδικασία παραγωγής οξέων από τα προαναφερθέντα (Ryser and Marth, 2007).

1.1.6. Προέλευση του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*

Το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* προέρχεται, κυρίως, από το γαστρεντερικό σύστημα ποικίλων θηλαστικών, ιχθυερών, πουλιών και εντόμων, αλλά η ύπαρξη του έχει απομονωθεί και από το εξωτερικό περιβάλλον (Schukken et al., 2003). Είναι γεγονός ότι το παθογόνο βακτήριο επιμολύνει τον άνθρωπο και τα ζώα και έχει βρεθεί στο εντερικό τους σύστημα, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι έχει προκαλέσει λοίμωξη (USFDA, 2001). Επομένως, τα ζώα και οι άνθρωποι μπορεί να αποτελούν φορείς του βακτηρίου. Λόγω του ότι το βακτήριο έχει τη δυνατότητα να επιβιώνει σε ποικίλα υποστρώματα και ποικίλες συνθήκες, το καθιστά ιδιαίτερα επικίνδυνο. Πιο αναλυτικά, η *L. monocytogenes* έχει παρατηρηθεί ότι επιβιώνει για μεγάλο χρονικό διάστημα σε φυσικό και τεχνητό περιβάλλον, παραδείγματος χάριν στο νερό, στο έδαφος, σε περιττώματα ζώων, σε λύματα, καθώς και στο σιλό, όπου φυλάσσονται τα προϊόντα ενσίρωσης (ενσιρώματα), δηλαδή τα φυτικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, και γενικότερα στην βλάστηση (USFDA, 2001; USDA, 1999; Jay, 2000; Audurier and Martin, 1989). Από έρευνες έχει παρατηρηθεί ότι μια από τις μεγαλύτερες πηγές μόλυνσης έχει αποδειχθεί το σιλό. Αυτό συμβαίνει διότι μπορεί να εμπεριέχει μεγάλο μικροβιακό φορτίο, ιδιαίτερα σε περίπτωση που η ποιότητά του είναι χαμηλή, με αποτέλεσμα να καθίσταται μεγάλη εστία μόλυνσης ζώων από τη *Listeria* (Ryser et al., 1997).

Επιπροσθέτως, προέλευση του βακτηρίου μπορεί να αποτελεί και το περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων και ειδικότερα η απομόνωσή της έχει αποδειχθεί σε τοίχους, δάπεδα, σωληνώσεις και ταβάνια, στα οποία η διάρκεια επιβίωσής της είναι αρκετά μεγάλη (USFDA, 1992; Tompkin et al., 1999). Είναι δεδομένο ότι προϊόντα έτοιμα για κατανάλωση (Ready To Eat) φέρουν μεγάλη επικινδυνότητα, καθώς στα τρόφιμα αυτά δεν ακολουθεί περαιτέρω θερμική επεξεργασία, πριν την συσκευασία τους. Τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα συμπεριλαμβάνουν πολλές κατηγορίες τροφίμων, όπως τα λαχανικά, τα ιχθυερά, τα φρούτα, τα κρεατοσκευάσματα, καθώς και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Tompkin et al., 1992; Borch et al., 2002).

Επομένως, είναι αποδεδειγμένο ότι διαφορετικοί αριθμοί της *L. monocytogenes* μπορούν να υποκρύπτονται σε οποιοδήποτε φρέσκο προϊόν είτε φυτικής, είτε ζωικής προελεύσεως. Ωστόσο, τα συνήθη τρόφιμα που επιμολύνονται και έχουν υψηλή επικινδυνότητα είναι το ακατέργαστο γάλα (νωπό), τα μαλακά τυριά, το καταψυγμένο και νωπό κρέας, τα πουλερικά, τα ιχθυερά, τα λαχανικά και τα φρούτα (Jay, 2000) και γενικά, όπως ειπώθηκε προηγουμένως, τα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (Ready To Eat).

Από τα παραπάνω βγαίνει το συμπέρασμα ότι η ύπαρξη του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* βρίσκεται σε ποικίλα μέρη. Η μη συμμόρφωση σε κανόνες ορθής βιομηχανικής πρακτικής (GMP) και κανόνες ορθής υγιεινής πρακτικής (GHP), κατά την παραγωγική διαδικασία, έχουν ως αποτέλεσμα την επιμόλυνση του τροφίμου από το παθογόνο βακτήριο, ακόμα και αν έχει προηγηθεί θερμική επεξεργασία σε αυτό. Συνεπώς, είναι απαραίτητο για τη διασφάλιση του τροφίμου να αποφεύγονται πρακτικές που μπορούν να επιφέρουν τυχόν μολύνσεις στα τελικά προϊόντα.

1.2.1. Παθογένεια του βακτηρίου *L. monocytogenes*

Η *L. monocytogenes* είναι ένα παθογόνο βακτήριο, το οποίο έχει την ικανότητα να πολλαπλασιάζεται μέσα στα ανθρώπινα και τα ζωικά κύτταρα, αφού πρώτα τα επιμολύνει. Η μόλυνση στον άνθρωπο προκαλείται κατά κύριο λόγο (σε ποσοστό 95%) από τους ορότυπους 1/2a, 1/2b, 1/2c και 4b. Ωστόσο, υπάρχουν συγκεκριμένα στελέχη της, που αποτελούν μη παθογόνα βακτήρια, και, κατά συνέπεια, δεν προκαλούν λοιμώξεις σε ανθρώπους. Όσον αφορά, όμως, την παθογένεια των συγκεκριμένων στελεχών του βακτηρίου, που χαρακτηρίζονται ως παθογόνα, έχει αποδειχθεί ότι συνδέονται άμεσα με την αιμόλυση των ανθρώπινων κυττάρων, καθώς έχουν αιμολυτική δράση. Η λιστεριολυσίνη O (LLO) αποτελεί τον κυριότερο και καθοριστικότερο παράγοντα της παθογένειας του βακτηρίου, ενώ δευτερευούσης σημασίας είναι η φωσφολιπάση και ορισμένες άλλες πρωτεΐνες. (Ryser and Donnelly, 2001; Farber and Peterkin, 1991; Hof and Rocourt, 1992). Η LLO συμβάλλει στην επιβίωση των κυττάρων της *L. monocytogenes*, επιτυγχάνοντας την αποφυγή των φαγοκυττάρων, τα οποία καταστρέφουν τα βακτηριακά κύτταρα. Επιπλέον, ο συνδυασμός της LLO με την φωσφολιπάση C (PLC) έχει ως αποτέλεσμα την βελτίωση της λειτουργίας της λιστεριολυσίνη O (Leimester-Wachter et al., 1991; Mengaud et al., 1991; Goldfine and Wadsworth, 2002).

Όπως ειπώθηκε προηγουμένως, η ύπαρξη της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα είναι πολύ συχνή και, κατά συνέπεια, το ποσοστό έκθεσης του ανθρώπινου οργανισμού στο παθογόνο βακτήριο είναι αρκετά υψηλό. Η ελάχιστη μολυσματική δόση, ούτως ώστε να προκληθεί λοίμωξη από την κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου, δεν είναι ακριβής. Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι ο πληθυσμός των κυττάρων της *L. monocytogenes*, που είναι ικανός για να νοσήσει ο άνθρωπος, ενδεχομένως είναι αρκετά χαμηλός και υπολογίζεται σε λιγότερα από 1000 κύτταρα ανά γραμμάριο τροφίμου. Επομένως, ελάχιστα κύτταρα του παθογόνου βακτηρίου χρειάζονται για να προκληθεί η λιστερίωση (EHCPCD-G, 1991).

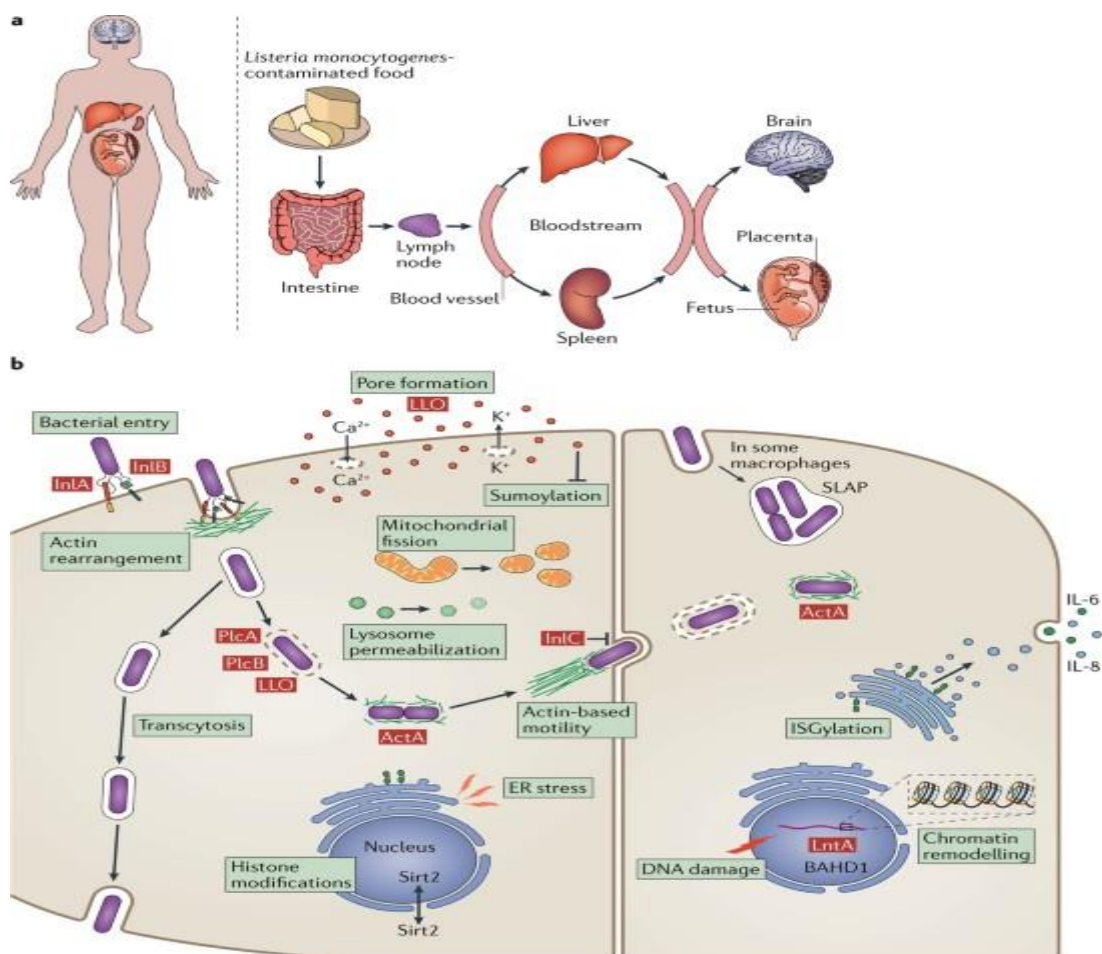
Είναι γεγονός ότι η επικινδυνότητα της *L. monocytogenes* είναι ανάλογη με τον πληθυσμό της στα τρόφιμα. Επομένως, υπάρχουν αρκετές περιπτώσεις, όπου το βακτήριο δεν αποτελεί κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Ενδεικτικά, εάν η συγκέντρωση του παθογόνου είναι μικρότερη από 10 αποικίες ανά γραμμάριο, σε υποστρώματα προϊόντων πουλερικών, θεωρείται ότι τα τρόφιμα είναι αποδεκτά και ασφαλή για κατανάλωση. Όμως, είναι αναγκαία η χρήση μέτρων εξυγίανσης των τροφίμων, με σκοπό την ελαχιστοποίηση του πληθυσμού της *L. monocytogenes*, όταν ο αριθμός του μικροοργανισμού στο τρόφιμο κυμαίνεται από 10 έως 100 αποικίες ανά γραμμάριο τροφίμου (cfu/gr). Τέλος, το τρόφιμο απορρίπτεται, διότι αποτελεί κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή, στην περίπτωση που εμπεριέχονται σε αυτό περισσότεροι από 100 μικροοργανισμοί ανά γραμμάριο τροφίμου (Norrung et al., 1999).

Η λιστερίωση ευνοείται όταν τα κύτταρα του παθογόνου στο μολυσμένο τρόφιμο έχουν πολλαπλασιαστεί και, επομένως, οι συγκεντρώσεις των πληθυσμών της *L. monocytogenes* είναι υψηλές. Από έρευνες έχει παρατηρηθεί ότι ορισμένες κατηγορίες τροφίμων που μολύνονται από το βακτήριο, εμπλέκονται άμεσα με την παθογένεια του, καθώς αποτελούν εξαιρετικά υποστρώματα

για τον ταχύτατο πολλαπλασιασμό των βακτηριακών κυττάρων. Από τη στιγμή που καταναλώνεται το μολυσμένο τρόφιμο, χρειάζονται περίπου μια έως και ενενήντα ημέρες, ούτως ώστε να επωαστεί το βακτήριο στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι ευπαθείς ομάδες κινδυνεύουν περισσότερο στην περίπτωση που νοσήσουν, εξαιτίας της παρουσίας της *L. monocytogenes* στο μολυσμένο τρόφιμο. Στην κατηγορία των ατόμων που είναι ευαίσθητα στη λιστερίωση ανήκουν οι εγκυμονούσες γυναίκες, οι ηλικιωμένοι, τα μικρά παιδιά, καθώς και άτομα με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα, που ενδέχεται να λαμβάνουν αγωγή (Baron, 1996). Κατά κύριο λόγο από όλες τις προαναφερθείσες κατηγορίες, μεγαλύτερο κίνδυνο διατρέχουν άτομα που είναι φορείς του ιού HIV ή που νοσούν από το σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS), άτομα που είναι καρκινοπαθείς και, τέλος, τα νεογνά (Gelin and Broome, 1989; Goulet and Marchetti, 1996; Jensen et al., 1994; Slutsker and Schuchat, 1999). Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι οι ηλικίες άνω των 55 ετών είναι πιθανότερο να νοσήσουν, όταν προσβληθούν από το παθογόνο βακτήριο (Adams and Moss, 2000).

Ο τρόπος εκδήλωσης των συμπτωμάτων της νόσου διαφέρει ανάλογα με την κατηγορία των ευπαθών ομάδων, που προσβάλλονται από τη *L. monocytogenes*. Παραδείγματος χάριν, η εκδήλωση της ασθένειας στις εγκύους προκαλεί, συνήθως, πονοκεφάλους, πυρετό και γαστρεντερικά προβλήματα. Επιπροσθέτως, η πιθανότητα αποβολής του νεογνού είναι αυξημένη ή ακόμα και η πιθανότητα πρόωρου τοκετού είναι αρκετά υψηλή και, εν εσχάτη περιπτώσει, η πιθανότητα θνησιγένειας (Heymann, 2008; CDC). Η ασθένεια αρκετές φορές έχει τα συμπτώματα μιας κοινής γρίπης και η εμφάνισή της μπορεί να εκδηλωθεί κατά το τελευταίο τρίμηνο της κύησης (Lorber, 1997). Η λιστερίωση προσβάλλει σε ποσοστό 10 – 20% τις εγκύους και το 15 – 25% αυτών των κρουσμάτων έχει ως αποτέλεσμα πρόωρες γεννήσεις και αποβολές. Μόνο το 5% των μολύνσεων δεν έχει καμία επίπτωση στο έμβρυο (Mena et al., 2003).

Η κλινική εικόνα της λιστερίωσης σε έναν ενήλικα περιλαμβάνει συνήθως πυρετό, μυαλγίες και ενίοτε συμπτώματα του γαστρεντερικού συστήματος, όπως είναι η ναυτία και η διάρροια. Στην περίπτωση που μολυνθούν τα κύτταρα του νευρικού συστήματος, τότε το αποτέλεσμα είναι η εμφάνιση κεφαλαλγίας, δυσκαμψίας του αυχένα, σύγχυσης, έλλειψης ισορροπίας ή ακόμα και η εμφάνιση σπασμών. Τέλος, βλατιδώδη εξανθήματα στα χέρια και τις παλάμες μπορούν να προκληθούν, στην περίπτωση που υπάρξει άμεση επαφή με μολυσμένο υλικό από τη *L. monocytogenes* (Heymann, 2008). Τα βαριά συμπτώματα που εκδηλώνονται σε έναν ενήλικα, ο οποίος έχει μολυνθεί από το συγκεκριμένο παθογόνο βακτήριο, είναι, κυρίως, η πνευμονία, η μηνιγγίτιδα και η ενδοκαρδίτιδα. Από έρευνες που διεξήχθησαν προέκυψε ότι η έκθεση στη *L. monocytogenes* οδηγεί, κατά κύριο λόγο, στη σηψαιμία και, σε λιγότερο βαθμό, στη μηνιγγίτιδα. Τα συμπτώματα που παρουσιάζονται σε άτομα με σηψαιμία είναι: πυρετός, έντονη κόπωση και οξείς κοιλιακοί πόνοι (Ryser and Donnelly, 2001). Αν και οι λιστεριώσεις είναι σπάνιες χαρακτηρίζονται από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, μεγαλύτερα από 20% (Cabanes et al., 2002).



Εικόνα 1.3: Τα στάδια της μόλυνσης του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes* στον ανθρώπινο οργανισμό (https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.126?error=server_error).

Όσον αφορά τη μόλυνση των νεογνών από λιστερίωση ισχύει ότι περίπου το 30% των κλινικών περιπτώσεων συμβαίνει στις τρεις πρώτες εβδομάδες από τη γέννησή του, ενώ στους ενήλικες ισχύει ότι λοιμώξεις εμμένουσες παρουσιάζονται σε άτομα άνω των 40 ετών. Η εμφάνιση ασυμπτωματικής λοίμωξης μπορεί να υπάρξει σε όλες τις ηλικίες, ωστόσο παραμένει επικίνδυνη, κυρίως, στην περίπτωση των εγκύων και των εμβρύων τους. Στο γενικό πληθυσμό το ποσοστό της θνητότητας της νόσου επηρεάζεται ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του ατόμου. Στην περίπτωση των ηλικιωμένων και των ατόμων με υποκείμενα νοσήματα, το ποσοστό θνητότητας κυμαίνεται από 20 έως 30% (CIDRP). Ενδεικτικά, στην Αμερική από τα 2500 καταγεγραμμένα κρούσματα το 20% των ατόμων καταλήγουν (Mead et al., 1999). Το 2000 εμφανίστηκαν 29 κρούσματα, τα οποία προήλθαν από την κατανάλωση καπνιστής γαλοπούλας. Επιπροσθέτως, τα έτη 2000 και 2001 εμφανίστηκαν άλλα δύο κρούσματα λιστερίωσης εξαιτίας της κατανάλωσης του τυριού queso fresco (Anon, 1999; Anon, 2000; Anon, 2001). Στην Ευρώπη, η νόσος ευθύνεται για το 4% των νοσηλείων και το 28% των θανάτων από τροφιμογενή νοσήματα (Heymann, 2008). Οι έρευνες, που διεξήχθησαν σε Αγγλία και Ουαλία, κατατάσσουν τη λιστερίωση ως την τέταρτη πιο κοινή αιτία θανάτου εκ των τροφιμογενών νόσων (Adak et al., 2002).

Όσον αφορά στα περιστατικά λιστερίωσης στα ζώα, το ποσοστό προσβολής των ζώων από *L. monocytogenes* κυμαίνεται από 5 έως 30% και το ποσοστό θνησιμότητας από 20 μέχρι και 100%. Συχνότερα κρούσματα λιστερίωσης παρουσιάζονται στα αιγοπρόβατα, όπου το ποσοστό προσβολής φθάνει έως το 30%, ενώ στα βοοειδή το ποσοστό δεν ξεπερνά το 15% (Low and Donachie, 1997; Rebhun and deLahunta, 1982). Ένα περιστατικό λιστερίωσης σε 650 πρόβατα, είχε ως αποτέλεσμα το θάνατο σε ποσοστό 2% (Wiedmann et al., 1997). Σύμφωνα με τον Wesley (1999), στην Δυτική Αμερική αναφέρθηκε ότι το 80%-90% των ζώων που εμφάνισαν λιστερίωση ήταν βοοειδή και τα αποτελέσματα της μόλυνσής τους ήταν, κυρίως, η εγκεφαλοπάθεια, η μαστίτιδα, η σηψαιμία, αλλά και η αποβολή των εμβρύων τους (Cooper and Walker, 1998).

1.2.2. Λιστερίωση

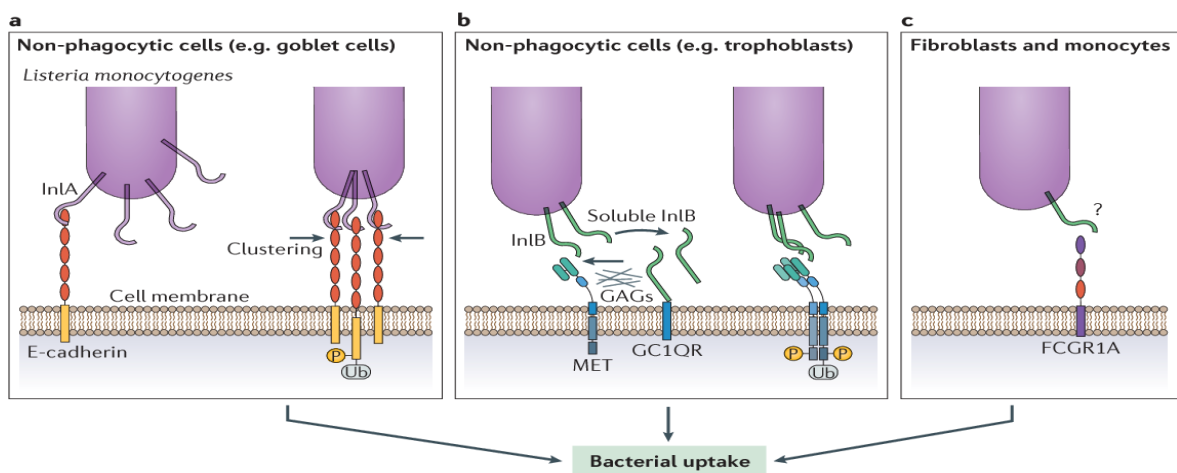
Είναι δεδομένο ότι η *Listeria monocytogenes* αποτελεί ένα διεισδυτικό βακτήριο, με ισχυρή παθογόνο δράση, η οποία επικεντρώνεται στον ειδικό τροπισμό των βακτηριακών κυττάρων της προς τα κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος του ξενιστή. Όπως προαναφέρθηκε, το βακτήριο μπορεί να μολύνει ανθρώπους και ζώα μέσω του νερού και της τροφής. Η επώασή της γίνεται στο έντερο του ανθρώπου και μεταφέρεται στους ιστούς του ξενιστή, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος.

Οι μικροοργανισμοί εγκαταλείπουν το έντερο του ξενιστή, επιμολύνοντας τα όργανα και τους ιστούς του. Η εγκατάσταση των παθογόνων στα ανθρώπινα όργανα, είναι αποτέλεσμα του μηχανισμού μετατοπίσεως (translocation). Η διαδικασία αρχίζει από τις πλάκες του Peyer, που βρίσκονται στο λεπτό έντερο, στις οποίες οι παθογόνοι μικροοργανισμοί φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα του οργανισμού και, εν συνεχεία, μεταφέρονται στους μεσεντερικούς λεμφαδένες. Προϊόν της *Listeria*, κατά την ενδοκυττάρια φάση, αποτελεί η λιστεριολυσίνη O, η οποία ευθύνεται για την διαφυγή του παθογόνου μικροοργανισμού από τα φαγοκύτταρα. Η λειτουργία της αυτή έχει ως αποτέλεσμα η *Listeria monocytogenes* να επιβιώνει και να διεισδύει στην κυκλοφορία (Αρσένη, 1994). Επιλέον, η παρουσία της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης, η οποία είναι η ειδική φωσφολιπάση που δρα συνεργαστικά με την λιστεριολυσίνη O, είναι απαραίτητη για αυτή τη λειτουργία (Pearson and Marth, 1990; Moser et al., 1997; Heinz et al., 1998; Cabanes et al., 2002). Ωστόσο, υπεύθυνες για την παθογένεια της *Listeria monocytogenes* παρουσιάζονται και οι πρωτεΐνες, που συνδέονται με τα λιποτειχοϊκά οξέα του βακτηρίου (Cabanes et al., 2002).

Επιπροσθέτως, συγκεκριμένες πρωτεΐνες του μικροοργανισμού συντελούν, αρχικά, στην είσοδο του στο βλεννογόνο του εντέρου και έπειτα, συνεισφέρουν στον πολλαπλασιασμό του βακτηρίου, που γίνεται ενδοκυττάρια στο ανθρώπινο κύτταρο. Τέλος, αφού διεκπεραιωθεί ο πολλαπλασιασμός, ακολουθεί η διασπορά του παθογόνου σε όλα τα γειτονικά κύτταρα του ξενιστή, έως ότου εξαπλωθεί στους ιστούς και τα όργανα, τα οποία προσβάλλονται από τη *Listeria monocytogenes* (Κύρου, 1999). Οι πρωτεΐνες ιντερναλίνη A (Inl A) και ιντερναλίνη B (Inl B) ανήκουν στην κατηγορία των πρωτεϊνών που ευθύνονται για την παθογένεια του μικροοργανισμού.

Σύμφωνα με μελέτες, ο υποδοχέας της επιφάνειας του επιθηλιακού κυττάρου, ο οποίος αντιδρά με την ιντερναλίνη A, ούτως ώστε να επιτευχθεί η είσοδος του βακτηρίου στο βλεννογόνο, είναι το μόριο της E-καδερίνης (Harrison and Wintrobe, 1970). Σε αντίθεση με τον υποδοχέα της ιντερναλίνης A, ο οποίος είναι γνωστός, δεν υπάρχουν ακόμα αρκετές πληροφορίες για τον υποδοχέα της πρωτεΐνης ιντερναλίνης B (Gallagher, 1996).

Όσον αφορά την κινητικότητα, που ευνοεί τη διείσδυση της *Listeria monocytogenes* στο κύτταρο του ξενιστή, οφείλεται στην παρουσία της ακτίνης. Πιο αναλυτικά, το σύστημα κίνησης του παθογόνου βακτηρίου έχει ως βάση του την ακτίνη. Όπως ειπώθηκε προηγουμένως, η *Listeria monocytogenes* έχει τη δυνατότητα να αποδράσει από το φαγόσωμα, που είναι αποτέλεσμα της διαδικασίας της φαγοκυττάρωσης του παθογόνου βακτηρίου από τα φαγοκύτταρα του ξενιστή. Τα νήματα ακτίνης βρίσκονται στο κυτόπλασμα, το οποίο βρίσκεται στο εσωτερικό των ανθρώπινων κυττάρων. Επομένως, όταν το κύτταρο μολυνθεί από τη *Listeria monocytogenes*, το παθογόνο βακτήριο βρίσκεται στο εσωτερικό του κυττάρου και, κατά συνέπεια, καλύπτεται από έναν υψηλό αριθμό νημάτων ακτίνης. Η *Listeria* προσδένεται στην άκρη των νηματίων της ακτίνης, τα οποία οργανώνονται εκ νέου σχηματίζοντας πολικές ουρές. Ο σχηματισμός πολικών ουρών συνδέεται με την ενδοκυτταρική κίνηση και οδηγεί στη διακυτταρική μεταφορά. Η δημιουργία του συμπλέγματος ακτίνης και *Listeria* παράγει μια ψευδοποδική προβολή στη μεμβράνη, καθώς κινείται ταχύτατα στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή. Το γειτονικό κύτταρο διεγείρεται, όταν το ακουμπάει το ψευδόποδο, με αποτέλεσμα να προκαλέσει τη φαγοκυττάρωση της προβολής του παθογόνου βακτηρίου. Τότε χρησιμοποιείται η αιμολυσίνη της *Listeria*, ούτως ώστε να προκαλέσει τη διάλυση της διπλής κυτταρικής μεμβράνης που περιβάλλει το κύτταρο, διεισδύοντας, με αυτόν τον τρόπο, στο δεύτερο κύτταρο του ξενιστή. Με αυτές τις επαναλαμβανόμενες διεργασίες επιτυγχάνεται η διασπορά του παθογόνου. Σύμφωνα με έρευνες, η παρουσία μιας ειδικής φωσφολιπάσης, συγκεκριμένα της φωσφατιδυλοχολίνης (PCPLC), εικάζεται πως συνεισφέρει στην παραπάνω διαδικασία (Moser et al., 1997; Cabanes et al., 2002).



Εικόνα 1.4: Είσοδος της *Listeria monocytogenes* στα ανθρώπινα κύτταρα (https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.126?error=server_error).

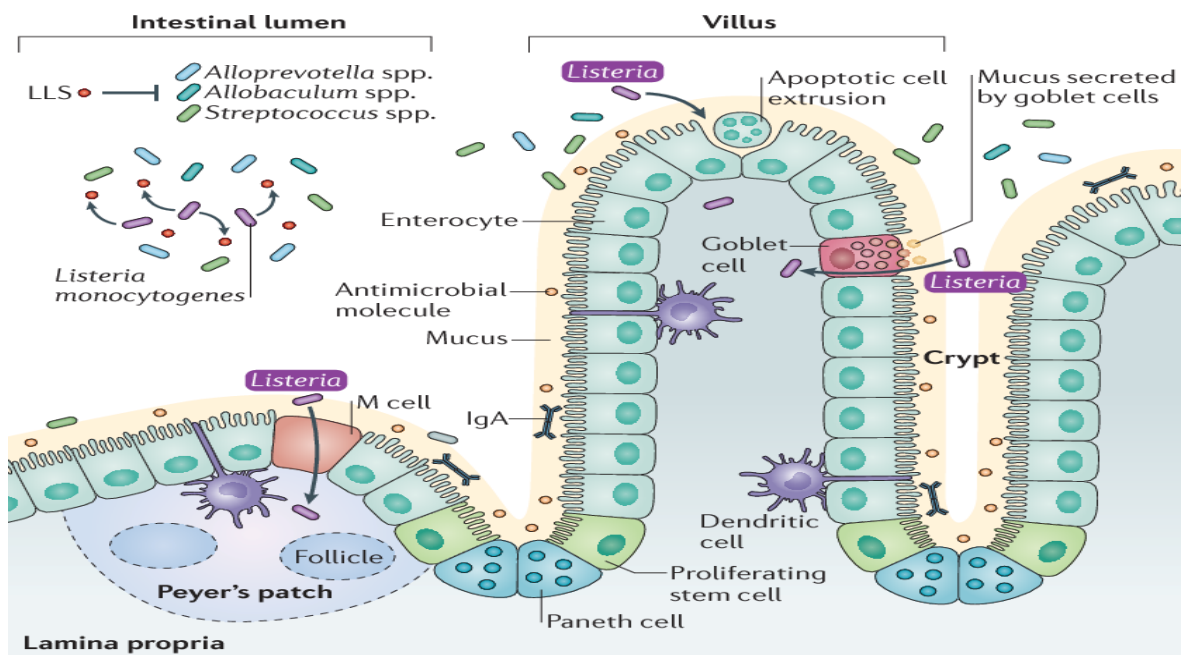
Όσον αφορά τα κύτταρα που μεταλλάχθηκαν, δεν έχουν τη δυνατότητα να δεσμεύσουν νημάτια ακτίνης. Ωστόσο, καταφέρνουν να διεισδύσουν στα μακροφάγα, να απελευθερωθούν στο κυτόπλασμα και να αναπτυχθούν σε αυτό. Όμως, ο διασκορπισμός των μεταλλαγμένων βακτηρίων στα υπόλοιπα μακροφάγα δεν μπορεί να επιτευχθεί. Τέλος, η χρήση της χλωραμφενικόλης, η οποία αποτελεί αναστολέα της πρωτεϊνσύνθεσης, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση της ακτίνης (ίσως PC-PLC) πραγματοποιείται από το υλικό που εκκρίνεται από το κύτταρο της *Listeria* και όχι από το μακροφάγο (Gerhardt, 1994).

Η ευαισθησία που παρουσιάζει το άτομο, που μολύνεται από τη *Listeria monocytogenes*, είναι, ίσως, ο σημαντικότερος παράγοντας εμφάνισης συμπτωμάτων της νόσου. Όπως προαναφέρθηκε, οι κατηγορίες ατόμων που παρουσιάζουν ευπάθεια προς τη λιστερίωση είναι άτομα, που κατά των λοιμώξεων, εμφανίζουν μειωμένη τη φυσική ανοσολογική τους άμυνα, αυτό κυρίως αφορά την κυτταρική ανοσία, και άτομα ανοσοκατεσταλμένα, λόγω νόσου, θεραπευτικής αγωγής και φαρμακοθεραπείας. Τέλος, ευπαθείς πληθυσμοί είναι οι εγκυμονούσες γυναίκες και άτομα που έχουν ξεπεράσει τα 65 έτη (Αρσένη, 1994).

Επίσης, έχει γίνει λόγος και για άλλους παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια. Ένας εξ αυτών είναι και η ύπαρξη μιας τοξίνης, η οποία προέρχεται από την *Listeria monocytogenes*. Αναφέρθηκε πρώτη φορά από τους Pearson και Marth, που την ονόμασαν cytotoxic toxin. Αυτή η τοξίνη έχει την ικανότητα να προκαλέσει λύση στα κύτταρα των ιστών του ανθρώπου, παραδείγματος χάριν στα ερυθροκύτταρα, με τον ίδιο τρόπο που η λιστεριολυσίνη O ευνοεί την παθογένεια του βακτηρίου στον οργανισμό.

Επιπρόσθετα, η δράση της φωσφατάσης, που διατίθεται από το βακτήριο *Listeria monocytogenes*, ενδέχεται να συμβάλλει και αυτή στην παθογένειά της (Pearson and Marth, 1990). Όσον αφορά τις ενώσεις σιδήρου, έχουν την ικανότητα να ευνοήσουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού in vitro. Αυτό επιτυγχάνεται όταν εμπλέκεται στη διαδικασία της μόλυνσης ο σίδηρος, ο οποίος μεταβολίζεται από τα κύτταρα του ξενιστή. Η συγκέντρωση του σιδήρου στον οργανισμό του ξενιστή είναι αντιστρόφως ανάλογη με την συγκέντρωση της αιμολυσίνης, που συνθέτει η *Listeria monocytogenes*. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειώνεται η συγκέντρωση σιδήρου, όσο αυξάνεται η σύνθεση της αιμολυσίνης από το βακτήριο. Επομένως, υπάρχει η ανάγκη εύρεσης σιδήρου, που μπορεί να προέρχεται από την αυξημένη λύση των ερυθροκυττάρων in vivo (Farber and Peterkin, 1991). Η ικανότητα της *L. monocytogenes* να επιβιώνει σε ποικίλες συνθήκες και ποικίλα υποστρώματα, την διαφοροποιεί σε μεγάλο βαθμό από την *L. innocua*. Αυτό αποδείχθηκε μέσω μελετών που ερευνήσαν τις πρωτεΐνες που βρίσκονται στην επιφάνεια της *Listeria monocytogenes*, οι οποίες επιβεβαίωσαν την αλληλεπίδραση του παθογόνου βακτηρίου με ένα μεγάλο αριθμό ποικίλων κυττάρων. Τέλος, η ομοιοπολική σύνδεση των επιφανειακών πρωτεϊνών της *L. monocytogenes* με την πεπτιδογλυκάνη, επιτυγχάνεται μέσω του καρβοξυ-τελικού άκρου των πρωτεϊνών. Η σύνδεση αυτή έχει ενοχοποιηθεί ότι ευνοεί την παθογένεια του μικροοργανισμού (Cabanés et al., 2002).

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες της παθογένειας του βακτηρίου είναι η θερμοκρασία ανάπτυξης της *L. monocytogenes*, η οποία επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την παραγωγή τοξικότητας του οργανισμού (Russell, 2002). Όταν η *L. monocytogenes* αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \approx 4^\circ\text{C}$), τότε αυξάνεται η τοξικότητά της, καθώς εγχέεται ενδοφλεβίως στα ποντίκια. Ωστόσο, ποντίκια που μολύνθηκαν δια του στόματος, δεν παρουσίασαν μεγάλη ευαισθησία στην τοξικότητα του βακτηρίου. Συνεπώς, η αύξηση της τοξικότητας σε θερμοκρασίες ψύξης είναι υπεύθυνη για την υψηλή συγκέντρωση τοξίνης στον οργανισμό, από κατανάλωση τροφίμων που συντηρούνται υπό ψύξη (Farber and Peterkin, 1991).



Εικόνα 1.5: Η εισβολή της *Listeria monocytogenes* στα εντερικά κύτταρα και η αλληλεπίδρασή της με την μικροχλωρίδα του εντέρου (https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.126?error=server_error).

Όπως ειπώθηκε προηγουμένως, τα συμπτώματα των ατόμων που είναι ευαίσθητα στην παθογένεια της *L. monocytogenes* διαφοροποιούνται ανάλογα με την κατηγορία των ασθενών. Ενδεικτικά, η λιστερίωση των νεογνών έχει ως αποτέλεσμα την εκδήλωση σηψαιμίας και μηνιγγίτιδας. Το νεογνό μολύνεται είτε ενδομήτρια, δηλαδή από κατάποση αμνιακού υγρού, είτε μπορεί να μολυνθεί κατά τον τοκετό από την επαφή του με τον κόλπο της μητέρας. Η απομόνωση της *L. monocytogenes*, συνήθως, γίνεται από το αίμα των νεογνών.

Όσον αφορά την εκδήλωση της νόσου στις εγκύους, εμφανίζεται ως γρίπη ελαφριάς μορφής, συνοδευόμενη από πυρετό και διάρροιες. Η πιθανότητα μόλυνσης του εμβρύου είναι υψηλή, με αποτέλεσμα να διακοπεί η κύηση, κυρίως, στους πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης. Τέλος, η μόλυνση από τη *L. monocytogenes* μπορεί να προκαλέσει την πρόωρη γέννηση ή, σε έσχατη περίπτωση, την γέννηση νεκρού νεογνού.

Άτομα με ασθενές ανοσοποιητικό σύστημα, όταν μολυνθούν από το παθογόνο βακτήριο, είναι επιρρεπείς σε ποικίλες λοιμώξεις, όπως είναι η αρθρίτιδα, η ενδοκαρδίτιδα, η πνευμονίτιδα και το απόστημα στον εγκέφαλο. Άτομα που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία. Και σε αυτή την περίπτωση η *L.monocytogenes* απομονώνεται από το αίμα.

Τέλος, η νόσος σε υγιείς ενήλικες προκαλεί διαταραχές στο κεντρικό νευρικό σύστημα, παραδείγματος χάριν εγκεφαλίτιδα με υψηλό ποσοστό θνησιμότητας. Σε σπανιότερες περιπτώσεις η νόσος εκδηλώνεται ως πνευμονία, πνευμονίτιδα, πλευρίτιδα, σηπτική αρθρίτιδα, ενδοκαρδίτιδα και περιτονίτιδα. Ωστόσο, συνήθως προκαλεί εγκεφαλίτιδα, μηνιγγίτιδα και εγκεφαλικό απόστημα (Αρσένη, 1994).

Όσον αφορά την διάγνωση του βακτηρίου *L. monocytogenes*, μπορεί να συμβεί σε οποιοδήποτε σημείο όπου υπάρχει και αναπτύσσεται το παθογόνο. Αναφορικά, η μόλυνση φυσιολογικών στειρών υλικών είναι εφικτή για τον μικροοργανισμό και αυτό έχει αποδειχθεί από την απομόνωση του παθογόνου στα υλικά αυτά. Ωστόσο, μεγάλη προσοχή πρέπει να δίνεται κατά τον διαχωρισμό της *L. monocytogenes* από άλλα gram-θετικά βακτήρια, ιδιαίτερα τα διφθεροειδή. Η πιθανότητα απομόνωσης του παθογόνου στα μολυσμένα δείγματα αυξάνεται με τη χρήση ειδικών εκλεκτικών εμπλουτιστικών υλικών (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011).

Η απομόνωση της *L.monocytogenes* από τα κύτταρα του ξενιστή, αναγνωρίζει την ύπαρξη της νόσου στον ανθρώπινο οργανισμό. Η λιστερίωση διαγιγνώσκεται μέσω της παρουσίας του παθογόνου βακτηρίου στο αίμα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) και, τέλος, στην περίπτωση των εγκύων και των νεογνών, στο αμνιακό υγρό. Όταν οι συνθήκες είναι φυσιολογικές, τα συγκεκριμένα σωματικά υγρά είναι στείρα από παθογόνους μικροοργανισμούς. Επιπλέον, η απομόνωση μπορεί να γίνει από το μηκόνιο, το γαστρικό έκπλυμα και από άλλα σημεία όπου μπορεί αναπτύσσεται το παθογόνο. Σε αντίθεση με τα παραπάνω σωματικά υγρά, τα οποία αποτελούν κριτήρια ύπαρξης της νόσου, τα κόπρανα και τα κοιλικά υγρά δεν χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικές καλλιέργειες. Αυτό συμβαίνει διότι, ακόμα και αν τα άτομα που ελέγχονται είναι υγιή, υπάρχει ένα ποσοστό της τάξεως του 5%, όπου οι καλλιέργειες των κοιλικών υγρών και των κοπράνων υγιών ατόμων, δίνουν θετικό αποτέλεσμα. Τέλος, ο μικροσκοπικός έλεγχος του ENY και του μηκωνίου θέτει την υποψία της λιστερίωσης (CDC; CFSPH). Ωστόσο, η διάγνωση της *L.monocytogenes* δεν είναι εφικτό να γίνει με τη χρήση ορολογικών δοκιμασιών. Οι ορολογικές δοκιμασίες δεν θεωρούνται αντικειμενικές, καθώς βασίζονται στην ύπαρξη και την ανάπτυξη των αντισωμάτων, τα οποία ευθύνονται για την καταστροφή των βακτηριακών κυττάρων της *L.monocytogenes* μέσα στον οργανισμό. Ο λόγος που ο ορολογικός έλεγχος έχει χαμηλή αξιοπιστία για την επίτευξη της ταυτοποίησης του παθογόνου είναι διότι η ύπαρξη των αντισωμάτων μπορεί να προέρχεται από μια προηγούμενη μόλυνση, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι τα άτομα αυτά νοσούν ακόμα. Επίσης, έναν ακόμα λόγο, για να μην χρησιμοποιηθούν οι ορολογικές δοκιμασίες, αποτελεί το γεγονός ότι δεν είναι δεδομένο πως αυξάνεται η συγκέντρωση των αντισωμάτων που δημιουργούνται στον οργανισμό, ακόμα και όταν το άτομο πάσχει από λιστερίωση (Pearson and Marth, 1990).

Όσον αφορά την θεραπεία της νόσου, υπάρχουν αρκετά περιστατικά λιστερίωσης, όπου δεν χρειαζόταν φαρμακευτική αγωγή για να ιαθεί ο ασθενής. Ωστόσο, στην πλειοψηφία των κρουσμάτων είναι απαραίτητη η έγκαιρη φαρμακευτική αγωγή και συγκεκριμένα η αντιβιοτική θεραπεία, προκειμένου να εξαλειφθεί η πιθανότητα μόνιμων βλαβών στον οργανισμό ή προκειμένου να αποφευχθεί ένας πιθανός θάνατος. Συνεπώς, η θεραπευτική αντιμετώπιση της λιστερίωσης περιλαμβάνει τη χορήγηση αντιβιοτικών και το χρονικό διάστημα που θα λαμβάνεται η αγωγή εξαρτάται από την διάγνωση της νόσου. Το αντιβιοτικό που έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα είναι η αμπικιλίνη, ενώ συχνά συνδυάζεται μαζί με τη γενταμικίνη (Heymann, 2008; HPA). Τέλος, όταν η λιστερίωση διαγνωστεί σε εγκύους, είναι απαραίτητη η άμεση χορήγηση αντιβιοτικής θεραπείας στη γυναίκα, ούτως ώστε να αποφευχθεί μια πιθανή λοίμωξη του εμβρύου ή του νεογνού. Στην περίπτωση εμφάνισης λοίμωξης στα νεογνά, χορηγείται η ίδια φαρμακευτική αγωγή που δίνεται και σε ενήλικες.

Πειράματα έδειξαν ότι αντιβιοτικά όπως είναι, η αμπικιλίνη, η ερυθρομυκίνη, η πενικιλίνη, η τετρακυκλίνη και η χλωραμφαινικόλη επηρέαζαν περισσότερο τους πληθυσμούς της *L.monocytogenes* σε in vitro καλλιέργειες (Farber and Peterkin, 1991). Η μικροβιοκτόνος δράση, καθώς και η ικανότητα διείσδυσης των αντιβιοτικών στα κύτταρα που έχουν προσβληθεί από το παθογόνο βακτήριο είναι οι κυριότερες λειτουργίες που πρέπει να εκτελούν τα αντιβιοτικά, ούτως ώστε να θεραπεύσουν τη νόσο της λιστερίωσης. Παρόλο που η πενικιλίνη αποδείχθηκε in vitro ότι είναι ικανή να καταστρέψει τα κύτταρα της *L.monocytogenes*, δεν είχε τη δυνατότητα να διεισδύσει σε βάθος, με αποτέλεσμα να μην καταφέρνει να θεραπεύσει όλα τα μολυσμένα κύτταρα του ξενιστή. Αυτή είναι και η κυριότερη αιτία που προτιμάται η χορήγηση της αμπικιλίνης. Όπως προαναφέρθηκε, ο συνδυασμός της αμπικιλίνης με τη γενταμικίνη προκύπτει διότι οι αμινογλυκοσίδες ευνοούν τη μικροβιοκτόνο δράση της αμπικιλίνης, ακόμη και της πενικιλίνης. Επιπροσθέτως, η πενικιλινο-συνδετική-πρωτεΐνη-3 (PKP-3) της *L. monocytogenes* αποδείχθηκε ότι δεν συνδέεται ισχυρά με τις κεφαλοσπορίνες, με αποτέλεσμα οι κεφαλοσπορίνες, ακόμα και της 3^{ης} γενεάς να μην αποτελούν κατάλληλη θεραπεία για τη λιστερίωση. Επίσης, το βακτήριο της *L.monocytogenes* παρουσίασε ανθεκτικότητα στη μοξαλακτάμη. Για να αντιμετωπιστεί η βαριάς μορφής λιστερίωση, οι συνδυασμοί που ήταν επιτυχείς είναι οι ακόλουθοι: αμινοπενικιλινών, ουρεΐδοπενικιλινών με αναστολείς βλακτασμάσης, ή καρμπαπενέμη. Τέλος, όπως ειπώθηκε προηγουμένως, για να αντιμετωπιστεί η λιστερίωση κατά την περίοδο της κύησης, απαραίτητη είναι η φαρμακευτική αγωγή με αντιβιοτικά, αλλιώς απαιτείται η απαλλαγή του εμβρύου (Αρσένη, 1994).

Όσον αφορά τη μετάδοση του νοσήματος της λιστερίωσης επιτυγχάνεται με ποικίλους τρόπους. Ωστόσο, οι σημαντικότεροι τρόποι μετάδοσης είναι μέσω της εντερο-στοματικής οδού, μέσω της επαφής με πάσχοντα ζώα ή με τις απεκκρίσεις τους και, τέλος, από τη μητέρα στο έμβryo. Αρχικά, μολύνεται η εγκυμονούσα γυναίκα και, εν συνεχεία, είτε μεταδίδει στο έμβryo το παθογόνο βακτήριο κατά τη διάρκεια της κύησης, είτε του το μεταδίδει κατά τον τοκετό. Στην περίπτωση της μετάδοσης μέσω της εντερο-στοματικής οδού ισχύει ότι η *L. monocytogenes* εισέρχεται στον

ανθρώπινο οργανισμό, μέσω μολυσμένων τροφίμων. Η μόλυνση των τροφίμων μπορεί να προέρχεται από την επαφή αυτών με ασυμπτωματικούς φορείς ή με ασθενείς της λιστερίωσης. Άτομα που ανήκουν στις ευπαθείς ομάδες έχουν αυξημένες πιθανότητες να νοσήσουν, εάν καταναλώσουν μολυσμένο τρόφιμο, ακόμα και αν το μικροβιακό φορτίο του τροφίμου δεν είναι υψηλό. Τα υγιή άτομα, ακόμα και αν καταναλώσουν μολυσμένα τρόφιμα, δεν είναι δεδομένο ότι θα εκδηλώσουν συμπτώματα και ότι θα νοσήσουν. Τέλος, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα τα λαχανικά να μολυνθούν από το παθογόνο βακτήριο, μέσω της επαφής του με το χώμα ή την κοπριά των ζώων, που χρησιμοποιείται ως λίπασμα. Η κατανάλωση λαχανικών που δεν έχουν καθαριστεί σωστά, έχει ως αποτέλεσμα την μετάδοση της *L. monocytogenes* στον καταναλωτή. Τα λαχανικά έχουν αυξημένο κίνδυνο μετάδοσης της νόσου, καθώς δεν προηγείται πάντα θερμική επεξεργασία πριν την κατανάλωσή τους (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011).

Σε όλες τις κατηγορίες τροφιμογενών νοσημάτων μεσολαβεί μια περίοδος επώασης της νόσου, έως ότου εκδηλωθούν τα συμπτώματα από τους πάσχοντες. Στην περίπτωση της λιστερίωσης ισχύει ότι η περίοδος επώασης είναι αυξημένη, συγκριτικά με τα υπόλοιπα τροφιμογενή νοσήματα. Αφού καταναλωθεί μολυσμένο τρόφιμο, μπορεί η λοίμωξη να αναπτυχθεί έπειτα από τρεις έως και επτά ημέρες. Άρα στις 3 εβδομάδες περίπου εκτιμάται η μέση περίοδος επώασης. Η διασπορά του παθογόνου από άτομα που έχουν μολυνθεί μπορεί να διαρκέσει αρκετούς μήνες, ιδιαίτερα στην περίπτωση που οι ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί και δεν γνωρίζουν ότι μεταδίδουν τη νόσο. Στο ποσοστό του 5% ανέρχονται οι ασυμπτωματικοί φορείς από τα συνολικά μολυσμένα άτομα. Ωστόσο, το ποσοστό αυτό αυξάνεται είτε λόγω των στενών επαφών με άτομα που νοσοούν, είτε στην περίπτωση που τα άτομα αυτά ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως είναι οι εργαζόμενοι σε σφαγεία και οι εργαζόμενοι σε εργαστήρια που έρχονται σε επαφή με δυνητικά μολυσμένα δείγματα (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011). Τέλος, το παθογόνο βακτήριο διασπείρεται από τις μητέρες των μολυσμένων νεογνών, για χρονικό διάστημα από επτά έως δέκα ημέρες μετά τη γέννηση του νεογνού, κυρίως μέσω των κοιλικών εκκρίσεων και των ούρων (Heymann, 2008).

1.2.3. Η λιστερίωση στην Ελλάδα

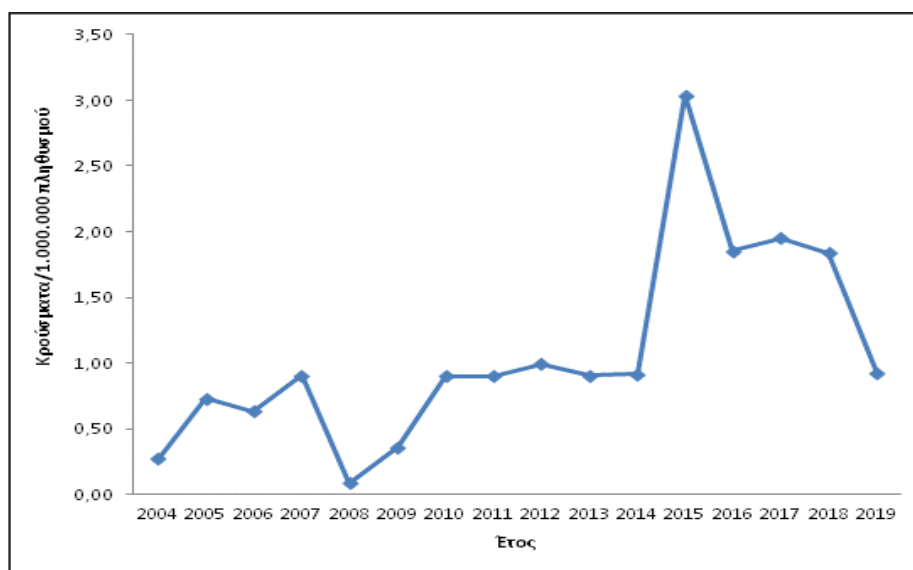
Στην Ελλάδα, η επιτήρηση της λιστερίωσης συνέβη πρώτη φορά το 2004, μέσω της χρήσης του συστήματος υποχρεωτικής δήλωσης των νοσημάτων. Τη χρονική περίοδο 2004 με 2011 συνολικά περάστηκαν στο σύστημα 52 κρούσματα λιστερίωσης (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2012). Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζεται η κατανομή των δηλωθέντων κρουσμάτων από το έτος 2004 έως και το 2011, καθώς και η επίπτωση που είχε το νόσημα της λιστερίωσης στην Ελλάδα.

Η ηλικιακή ομάδα που παρουσίασε την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης νόσου ήταν άτομα άνω των 65 ετών και η μέση ετήσια επίπτωση σε αυτή την ηλικιακή ομάδα ήταν 1,9 κρούσματα ανά 1.000.000 πληθυσμού. Έπειτα, ακολούθησε η ηλικιακή ομάδα των νεογνών (0 έως 4), όπου η μέση ετήσια επίπτωση σε αυτή την ηλικιακή ομάδα ήταν 0,5 κρούσματα ανά 1.000.000 πληθυσμού. Μεταξύ των δύο φύλων παρουσιάστηκε ελάχιστη διαφορά στην μέση ετήσια επίπτωση,

πιο συγκριμένα καταγράφηκαν 0,6 κρούσματα αντρών ανά 1.000.000 πληθυσμού και 0,5 κρούσματα γυναικών ανά 1.000.000 πληθυσμού (ΚΕΕΛΠΙΝΟ, 2012).

Πίνακας 1.1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων και επίπτωση της λιστερίωσης στην Ελλάδα (ΚΕΕΛΠΙΝΟ, 2012).

Έτος	Αριθμός κρουσμάτων	Ετήσια επίπτωση (ανά 1.000.000 πληθυσμού)
2004	3	0,27
2005	8	0,72
2006	7	0,62
2007	10	0,90
2008	1	0,10
2009	4	0,35
2010	10	0,90
2011	9	0,80



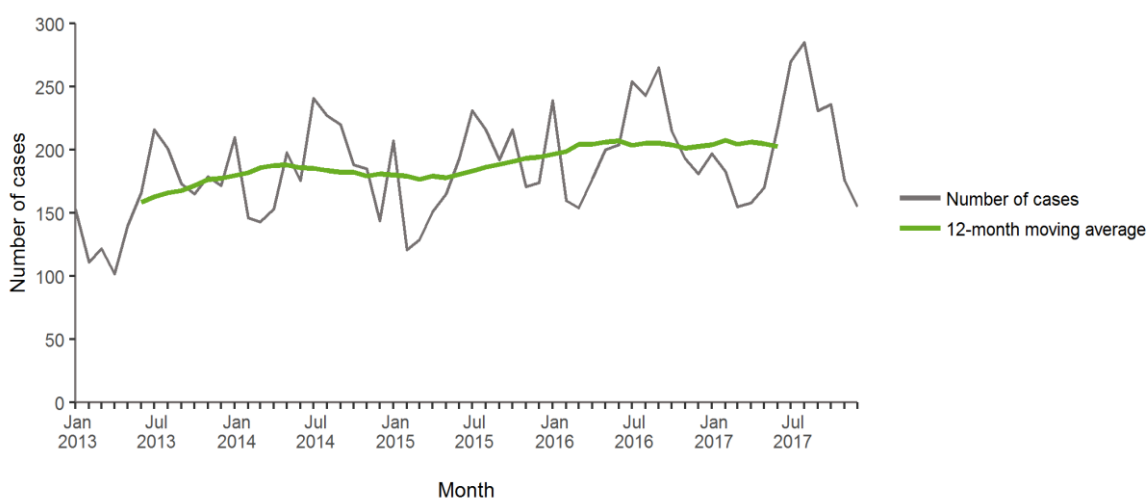
Σχήμα 1.1: Ετήσια δηλωθείσα επίπτωση της λιστερίωσης (αριθμός κρουσμάτων ανά 1.000.000 κατοίκους) στην Ελλάδα (ΕΟΔΥ, 2020).

1.2.4. Επιδημιολογικά δεδομένα λιστερίωσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση και στην Αμερική

Η λιστερίωση αποτελεί τροφιμογενές νόσημα με παγκόσμια κατανομή, ωστόσο σπάνια διαγιγνώσκεται. Παρόλο που αποτελεί νόσημα με μικρή επίπτωση, συμβάλει σημαντικά στην εκδήλωση σοβαρών συμπτωμάτων ή ακόμα και θανάτων στον πληθυσμό (Heymann, 2008). Στις Η.Π.Α, η μέση ετήσια επίπτωση της λιστερίωσης ανέρχεται σε 5,2 κρούσματα ανά 1.000.000 πληθυσμού, ενώ στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και των χωρών της ΕΕΑ/ΕΦΤΑ (European Economic Area/European Free Trade Association), σύμφωνα με τα δεδομένα του Ευρωπαϊκού

Κέντρου Ελέγχου Νοσημάτων (ECDC), το 2008 ήταν 3,1 κρούσματα ανά 1.000.000 πληθυσμού (ECDC, 2010). Το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου Λοιμώξεων (ECDC) είναι υπεύθυνο για την καταγραφή των επιδημιολογικών δεδομένων της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τα επιδημιολογικά δεδομένα που παρουσιάζονται το 2009 ήταν 1685 επιβεβαιωμένα κρούσματα λιστερίωσης από τα 1688 που δηλώθηκαν συνολικά από 28 χώρες της Ε.Ε. Η μέση ετήσια επίπτωση το 2009 ήταν 0,35 κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμού, με την υψηλότερη επίπτωση να εμφανίζεται στις Σκανδιναβικές χώρες. Τα περισσότερα επιβεβαιωμένα κρούσματα συνολικά τα παρουσίασαν η Γαλλία και Γερμανία. Από τα 1676 επιβεβαιωμένα κρούσματα, το ποσοστό του 58% αυτών εμφανίστηκαν σε ηλικίες άνω 65 ετών, με μέση ετήσια επίπτωση 1,21 κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμού. Έπειτα, ακολούθησαν τα νεογνά και οι ενήλικες ηλικίας 45 έως 64 ετών, με μέση ετήσια επίπτωση 0,31 κρούσματα ανά 100.000 πληθυσμού.

Μια από τις μεγαλύτερες εξάρσεις λιστερίωσης στην Ευρώπη προκλήθηκε από την κατανάλωση ημίσκληρου τυριού μολυσμένου από τη *L. monocytogenes*. Συνολικά υπήρξαν 34 επιβεβαιωμένα κρούσματα, όπου 25 ήταν στην Αυστρία, 8 στην Γερμανία και ένα στην Τσεχία. Η μέση ηλικία των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ήταν τα 72 έτη και 8 από τα κρούσματα είχαν θανατηφόρα κατάληξη. Στις Η.Π.Α, το 2011 υπήρξε ακόμα μια επιδημία της λιστερίωσης με περισσότερα από 100 κρούσματα σε 25 πολιτείες. Η κατανάλωση μη παστεριωμένου γάλακτος, μαλακών τυριών, λαχανικών και αλλαντικών είναι οι βασικότερες κατηγορίες τροφίμων που θεωρήθηκαν υπαίτιες για επιδημίες λιστερίωσης (Bundrant et al., 2011; Koch et al., 2007; Jackson et al., 2011). Ωστόσο, τα κρούσματα της λιστερίωσης στην πλειονότητά τους είναι σποραδικά (Heymann, 2008).



Σχήμα 1.2: Η κατανομή των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων λιστερίωσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση (EU/EEA) ανά μήνα για τα έτη 2013–2017 (ECDC, 2020).

Επιπροσθέτως, το 2015 στις Η.Π.Α, μαλακά τυριά ενοχοποιήθηκαν για πρόκληση της νόσου, όπου επιβεβαιώθηκαν 30 κρούσματα από τα οποία νοσηλεύτηκαν 28 άτομα και υπήρξαν 3

θάνατοι. Αποτέλεσμα ήταν η ανάκληση των προϊόντων. Τέλος, το πιο πρόσφατο παράδειγμα λιστερίωσης είναι η κατανάλωση του τυριού Queso Fresco το 2021, όπου επιβεβαιώθηκαν 13 κρούσματα από τα οποία νοσηλεύτηκαν 12 άτομα και υπήρξε ένας θάνατος. Η αιτία της εμφάνισης της νόσου είναι η πιθανή χρήση μη παστεριωμένου γάλακτος στην παρασκευή του τυριού (CDC, 2021).

1.2.5. Ευρωπαϊκή Νομοθεσία για το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes*

Ο Ευρωπαϊκός Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1/2005 της Επιτροπής στις 15/11/2005 και ο Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 της Επιτροπής στις 5/12/2007 θέσπισε την ισχύουσα νομοθεσία στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα. Η νομοθεσία αναφέρει απουσία του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* σε 25 γραμμάρια τροφίμου έτοιμου για κατανάλωση, το οποίο προορίζεται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς. Όσον αφορά τα υπόλοιπα τρόφιμα έτοιμα για κατανάλωση, που δεν προορίζονται για τις προηγούμενες κατηγορίες και αποτελούν υποστρώματα για την ανάπτυξη του παθογόνου, ορίζεται ως ανώτατο επιτρεπτό όριο τα 100 κύτταρα/g (cfu/g). Το όριο αυτό ισχύει υπό την προϋπόθεση ότι ο παρασκευαστής του τροφίμου μπορεί να αποδείξει, ικανοποιώντας την αρμόδια αρχή, ότι το προϊόν δε θα υπερβεί το όριο των 100 cfu/g καθ' όλη τη διάρκεια διατήρησης. Εάν δεν πληροί τις προϋποθέσεις που ορίζονται τότε εφαρμόζεται το κριτήριο “απουσία της *L. monocytogenes* σε 25 g, πριν το τρόφιμο αποδεσμευτεί από τον άμεσο έλεγχο του υπευθύνου της επιχείρησης τροφίμων που το παρήγαγε”.

Όσον αφορά τα προϊόντα έτοιμα προς κατανάλωση που δεν αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*, δεν απαιτείται εφαρμογή του παραπάνω εναλλακτικού κριτηρίου, δηλαδή ισχύει το όριο των 100 cfu/g. Τα προϊόντα με $pH \leq 4.4$, ή $a_w \leq 0.92$, τα προϊόντα με $pH \leq 5.0$ και $a_w \leq 0.94$, και τα προϊόντα με διάρκεια διατήρησης μικρότερη από πέντε ημέρες θεωρούνται αυτομάτως ότι ανήκουν σε αυτή την κατηγορία. Μπορούν να ανήκουν σ' αυτήν την κατηγορία και άλλες κατηγορίες προϊόντων, αρκεί να είναι επιστημονικά αποδεδειγμένο.

1.2.6. Μικροβιολογικά κριτήρια (Κανονισμός Ε.Ε. αριθ. 2073/2005) για τη *L. monocytogenes*

Ο Κανονισμός 2073/2005 εξεδόθη από την Ευρωπαϊκή Ένωση τον Νοέμβριο του 2005 και είναι ο κανονισμός που καθορίζει τα μικροβιολογικά όρια των τροφίμων. Σύμφωνα με τον κανονισμό αυτόν, μικροβιολογικά κριτήρια είναι τα κριτήρια που καθορίζουν το αποδεκτό ενός προϊόντος, μιας παρτίδας τροφίμων ή μιας διαδικασίας με βάση την απουσία, την παρουσία ή τον αριθμό μικροοργανισμών, ή και με βάση την ποσότητα των τοξινών ή μεταβολιτών τους ανά μονάδα μάζας, όγκου, επιφάνειας ανά παρτίδα.

Το άρθρο 4 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 852/2004 απαιτεί τα μικροβιολογικά όρια για τα τρόφιμα να αναλύουν δείγματα, να συγκρίνουν τα αποτελέσματα με τις τιμές που καθορίζονται για τα κριτήρια και να εφαρμόζουν διορθωτικές ενέργειες εάν είναι απαραίτητο. Το κεφάλαιο 1 του παραρτήματος I του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 (καθώς και οι τροποποιήσεις του, όπως ο

κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1019/20139) καθορίζει τα κριτήρια ασφάλειας των τροφίμων και τα κριτήρια υγιεινής της διαδικασίας.

Επιπροσθέτως, το αποδεκτό των τροφίμων και των διαδικασιών παρασκευής τους, χειρισμού τους και διανομής τους καθορίζεται από τα μικροβιολογικά κριτήρια του κανονισμού. Σε όλες τις εφαρμογές των διαδικασιών, που βασίζονται στο σύστημα HACCP και σε άλλα μέτρα ελέγχου υγιεινής, πρέπει να χρησιμοποιούνται απαραίτητως τα μικροβιολογικά κριτήρια. Η εφαρμογή των ορθών πρακτικών υγιεινής (GHP) και η εφαρμογή διαδικασιών, οι οποίες διέπονται από αρχές βασιζόμενες στην ανάλυση κινδύνων και κρίσιμων σημείων ελέγχου (CCP), διασφαλίζουν την ασφάλεια τροφίμων. Στο σύστημα HACCP και σε άλλα μέτρα ελέγχου της υγιεινής, τα μικροβιολογικά κριτήρια χρησιμοποιούνται για την επικύρωση και την επαλήθευση των διαδικασιών.

Πιο αναλυτικά, τα μικροβιολογικά κριτήρια που αφορούν τη *L. monocytogenes* στα τρόφιμα είναι τα ακόλουθα:

- i. Στα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (RTE), που προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς, πρέπει να υπάρχει πλήρης απουσία της *L. monocytogenes* σε 25 γραμμάρια τροφίμου. Η εφαρμογή του κριτηρίου είναι υποχρεωτική και κατά τη διάρκεια διατήρησης του προϊόντος. Υπάρχουν ορισμένες κατηγορίες τροφίμων έτοιμων προς κατανάλωση, όπου οι τακτικές δοκιμές αυτού του κριτηρίου δεν είναι πάντα χρήσιμες. Ενδεικτικά, σε αυτές τις κατηγορίες ανήκουν: α) τα τρόφιμα που έχουν υποστεί θερμική ή άλλη επεξεργασία αποτελεσματική για να σκοτώσει τη *L. monocytogenes*, όταν δεν είναι δυνατή η επιμόλυνση ύστερα από την επεξεργασία αυτή (όπως προϊόντα που υποβάλλονται σε θερμική επεξεργασία μέσα στην τελική τους συσκευασία), β) τα νωπά, ατεμάχιστα και μη επεξεργασμένα λαχανικά και φρούτα, εκτός από τους σπόρους με φύτρο, γ) το ψωμί, τα μπισκότα και παρόμοια προϊόντα, δ) το εμφιαλωμένο ή συσκευασμένο νερό, τα αναψυκτικά, η μπίρα, ο μηλίτης, το κρασί, τα αλκοολούχα ποτά και τα παρόμοια προϊόντα και δ) η ζάχαρη, το μέλι και τα είδη ζαχαροπλαστικής, συμπεριλαμβανομένου του κακάο και των προϊόντων σοκολάτας.
- ii. Στα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (RTE), που δεν προορίζονται για βρέφη και για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς, πρέπει να υπάρχει ανώτατο όριο 100 cfu/gr. Εάν ο παρασκευαστής μπορεί να αποδείξει στις αρμόδιες αρχές ότι το προϊόν δε θα υπερβεί το όριο των 100 cfu/gr καθ' όλη τη διάρκεια διατήρησης του προϊόντος, τότε μπορεί να εφαρμοστεί το συγκεκριμένο κριτήριο. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, ο υπεύθυνος της επιχείρησης τροφίμων είναι ικανός να ορίσει ενδιάμεσα όρια. Αυτά τα όρια πρέπει να είναι αρκετά χαμηλά, ούτως ώστε να εξασφαλίζεται ότι δεν υπερβαίνεται το όριο των 100 cfu/gr, κατά τη λήξη της διάρκειας διατήρησης. Ωστόσο, στην ίδια ομάδα τροφίμων εξακολουθεί να ισχύει η πλήρης απουσία της *L. monocytogenes* σε 25 γραμμάρια τροφίμου. Επιπροσθέτως, στην περίπτωση που ο υπεύθυνος της επιχείρησης τροφίμων δεν μπορεί να αποδείξει στην αρμόδια αρχή, μέσω του άμεσου ελέγχου που διεξάγεται

πριν την αποδέσμευσή τους, ότι το προϊόν δε θα υπερβαίνει το όριο των 100 cfu/gr καθ' όλη τη διάρκεια της διατήρησης, το παραπάνω κριτήριο είναι απαραίτητο να εφαρμόζεται.

- iii. Στα έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα, τα οποία δεν μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* και διαφοροποιούνται από τα τρόφιμα που προορίζονται για βρέφη και ειδικούς ιατρικούς σκοπούς, το ανώτατο όριο είναι 100 cfu/gr. Σε αυτήν την κατηγορία εντάσσονται τα τρόφιμα που διατηρούνται για λιγότερο από πέντε ημέρες, καθώς και τα προϊόντα με pH <4.4 ή a_w 0.92 και τα προϊόντα με pH <5.0 και a_w 0.94. Τέλος, άλλες κατηγορίες προϊόντων μπορούν να ανήκουν σε αυτή την κατηγορία, εφόσον αποδεικνύεται επιστημονικά.

Η FSAI, πριν από την έκδοση του παραπάνω Κανονισμού, είχε υποδείξει ότι η παρουσία περισσότερων αποικιών από 100 cfu *L. monocytogenes* ανά γραμμάριο τροφίμου είναι μη αποδεκτή (FSAI, 2001). Ενδεικτικά, στην Γερμανία είχε αποφασιστεί ότι τρόφιμα που περιέχουν 100 έως 1.000 cfu ανά γραμμάριο τροφίμου θα πρέπει να επεξεργάζονται εκ νέου.

Όσον αφορά τις Ασιατικές χώρες, ακόμα δεν έχουν θεσπιστεί νομοθεσίες για τα επίπεδα της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα (FSAI 2005). Η απαίτηση της απουσίας της *L. monocytogenes* σε 25 γραμμάρια ή σε 25 ml τροφίμου υπάρχει σε Αμερική, Αυστραλία, Νέα Ζηλανδία, Ιταλία και Αυστρία (USFDA, 2001). Η *L. monocytogenes*, σύμφωνα με τη νομοθεσία της Δανίας και του Καναδά, σε ορισμένα τρόφιμα θα πρέπει να είναι απύσχα, ενώ σε άλλα τρόφιμα είναι αποδεκτή η παρουσία της σε πληθυσμό μικρότερο από 100 cfu ανά γραμμάριο τροφίμου, ανάλογα με το αν το τρόφιμο ευνοεί την ανάπτυξη του παθογόνου ή αν η διάρκεια ζωής του στο ράφι είναι μεγάλη. Προϊόντα με χαμηλό pH ή με χαμηλή ενεργότητα νερού (a_w), τρόφιμα που καταψύχονται και έπειτα θερμαίνονται πριν καταναλωθούν ή συσκευάζονται ζεστά σε θερμοκρασίες, στις οποίες θανατώνεται η *L. monocytogenes*, ή επεξεργάζονται θερμικά στα δοχεία όπου πωλούνται, θεωρούνται τρόφιμα μειωμένου κινδύνου (Lou and Yousef, 1999).

Η απομόνωση της *L. monocytogenes* από μία επιφάνεια όπου τα τρόφιμα έρχονται σε επαφή, θεωρείται μολυσμένη επιφάνεια και, κατά συνέπεια, επιφέρεται η επιμόλυνση των τροφίμων. Απουσία της *L. monocytogenes* τόσο από το τελικό προϊόν, όσο και από τις επιφάνειες με τις οποίες έρχεται σε επαφή το τρόφιμο αποτελούν συνήθη πολιτική που εφαρμόζεται στην Αμερική (Tomprkin, 2002).

Παρόλο που η πλήρης απουσία της *L. monocytogenes* από τα RTE τρόφιμα θεωρείται η σωστότερη πολιτική διασφάλισης τροφίμων, μπορεί να δημιουργήσει λανθασμένα αίσθημα ασφάλειας. Ο δειγματοληπτικός έλεγχος που πραγματοποιείται στην εκάστοτε παρτίδα τροφίμου, δεν μπορεί να οδηγήσει σε ακριβή συμπεράσματα για την ύπαρξη ή όχι της *L. monocytogenes* στο σύνολο της παρτίδας. Ωστόσο, δεν είναι εφικτό σε όλες τις επεξεργασίες τροφίμων να εξασφαλιστεί η πλήρης απουσία της *L. monocytogenes*. Η Ορθή Υγιεινή Πρακτική (GHP) και η Ορθή Βιομηχανική Πρακτική (GMP) σε συνδυασμό με ένα πρόγραμμα HACCP και με έλεγχο του περιβάλλοντος, συμβάλλουν στην διασφάλιση του προϊόντος περισσότερο από ότι ο τελικός έλεγχος του τροφίμου πριν την διανομή (FSAI, 2005).

Τέλος, όσον αφορά τις γαλακτοβιομηχανίες ισχύει ότι η *L. monocytogenes* βρίσκεται στο γενικό περιβάλλον και στις εγκαταστάσεις παραγωγής γάλακτος και μπορεί να επιμολώνει τα προϊόντα γαλακτοκομικών. Ενώ η συγκέντρωση του παθογόνου είναι αρκετά χαμηλή, κάτω από το νόμιμο όριο ασφάλειας των 100 κυττάρων ανά γραμμάριο σε προϊόντα γαλακτοκομικών, ενδέχεται ευπαθείς ομάδες να παρουσιάσουν ευαισθησία. Η προστασία των καταναλωτών εξαρτάται από την εφαρμογή μέτρων για την πρόληψη της διασταυρούμενης μόλυνσης, την αποθήκευση υπό αυστηρές συνθήκες ψύξης, την εξασφάλιση επαρκούς διάρκειας ζωής και κατανάλωσης εντός αυτής. Παρόλο που η *Listeria monocytogenes* είναι ένα ψυχρότροφο βακτήριο ικανό να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες ψύξης, ο ρυθμός ανάπτυξης της μειώνεται σημαντικά σε χαμηλότερες θερμοκρασίες ή σε θερμοκρασίες κατάψυξης.

1.3.1. *Listeria monocytogenes* και εισαγωγή της τεχνολογίας εμποδίων

Ορισμένες ποικιλίες τροφίμων, όπως είναι τα μαγειρεμένα προϊόντα, τα προπαρασκευασμένα και τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (RTE), αποτελούν συχνά υποστρώματα για την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*. Τα επιβεβαιωμένα κρούσματα λιστερίωσης προήλθαν από την κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων από το παθογόνο βακτήριο. Ενδεικτικά, στα τρόφιμα που ενοχοποιήθηκαν για αυτήν την μόλυνση συμπεριλήφθηκαν προπαρασκευασμένες λαχανοσαλάτες με σάλτσα, διάφορα μαλακά τυριά, σοκολατούχο γάλα, μαγειρεμένο κοτόπουλο και καπνιστά μύδια (Αρσένη, 1994; American Public Health Association, 2001). Η αδρανοποίηση της *L. monocytogenes* και των λειτουργιών της αποτέλεσε αντικείμενο περαιτέρω έρευνας, ούτως ώστε να θεσπιστούν νέες νομοθετικές πολιτικές ικανές να εξαλείψουν το παθογόνο βακτήριο, καθ' όλη τη διαδικασία παραγωγής και συντήρησης του τροφίμου. Πολλές χώρες και η International Commission on Microbiological Specifications έχουν ορίσει ως αποδεκτό και ασφαλές τρόφιμο εκείνο που η επιτρεπόμενη δόση του έχει ανώτατο όριο τα 100 cfu *L. monocytogenes* ανά γραμμάριο τροφίμου (Gerhardt et al., 2000; Jones et al., 2002; Edgcomb et al., 2000). Για την αδρανοποίηση του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* και την εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων είναι απαραίτητη η χρήση της τεχνολογίας εμποδίων, η οποία συνδυάζει ποικίλες μεθόδους επεξεργασίας τροφίμων, ούτως ώστε να επιφέρει το βέλτιστο αποτέλεσμα.

1.3.2. Αρχή της τεχνολογίας εμποδίων

Η χρήση των ποικίλων επεξεργασιών των τροφίμων υπήρχε ανέκαθεν, ούτως ώστε να διασφαλιστεί η ποιότητα και η ασφάλεια τους για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η ορολογία που χρησιμοποιούνταν για την περιγραφή των μεθόδων ήταν κοινή με την τωρινή ορολογία, παραδείγματος χάριν η θέρμανση, η αποξήρανση, το αλάτισμα, η οξίνιση, κ.α. Ωστόσο, σύμφωνα με ορισμένες μελέτες, παρατηρήθηκε ότι υπήρξαν επεξεργασίες τροφίμων, οι οποίες αντί να αδρανοποιήσουν τους μικροοργανισμούς, συνέβαλαν ελαφρώς στην αναστολή τους ή ακόμα και ευνοήσαν, σε κάποιες περιπτώσεις, την ανάπτυξη ποικίλων παθογόνων μικροοργανισμών. Παράλληλα, η εκτεταμένη χρήση ορισμένων επεξεργασιών είχε ως αποτέλεσμα την μεταβολή ή και την καταστροφή θρεπτικών συστατικών και επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στα συγκεκριμένα τρόφιμα (Jones et al., 2002). Με αφορμή αυτά τα δεδομένα, μέσω της επιστημονικής έρευνας, γεννήθηκε η ανάγκη ανάπτυξης της τεχνολογίας συνδυασμού μεθόδων και επιπρόσθετων παραγόντων διατήρησης, ούτως ώστε να βελτιστοποιηθούν τα αποτελέσματα των τροφίμων. Τέλος, αυτοί οι παράγοντες διατήρησης τροφίμων ονομάστηκαν εμπόδια (hurdles) και η τεχνολογία των εμποδίων αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της παραγωγής τροφίμων.

Επομένως, όλες οι κατηγορίες επεξεργασιών τροφίμων και όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί των μεθόδων διατήρησης τροφίμων συμπεριλαμβάνονται στον όρο της τεχνολογίας εμποδίων. Η τεχνολογία εμποδίων έχει σαν στόχο να εξασφαλίσει, όχι μόνο την ασφάλεια και την σταθερότητα του εκάστοτε προϊόντος, αλλά και ταυτόχρονα να μειώσει το μικροβιακό φορτίο του τροφίμου. Αυτό

επιτυγχάνεται με την τροποποίηση και βελτιστοποίηση της τεχνολογίας εμποδίων, η οποία πρέπει να προσαρμόζεται ανάλογα με το είδος του παθογόνου μικροοργανισμού και με την κατηγορία του τροφίμου. Κάθε τρόφιμο πρέπει να μεταχειρίζεται ανάλογα με την σύστασή του και με το μικροβιακό του φορτίο. Συνεπώς, εκτός από την μικροβιολογική ασφάλεια και σταθερότητα, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην ποιότητα, στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, καθώς και στη θρεπτική αξία, κατά την παραγωγική διαδικασία ενός τροφίμου. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της τεχνολογίας εμποδίων είναι η γνώση της φύσης και της χημείας του τροφίμου που επεξεργάζεται, με αποτέλεσμα να έχει την δυνατότητα να επιλέξει τη ρύθμιση των παραγόντων, που είναι υπεύθυνοι για την αλλοίωση του τροφίμου (Russell, 2002; Edgcomb et al., 2000; Tsakirakis et al., 1999).

Η ελάττωση του pH, η προσθήκη οργανικών οξέων (π.χ. γαλακτικό οξύ, φαινολικά οξέα) ή αλάτων τους (διοξικό νάτριο, γαλακτικό νάτριο), οι βακτηριοσίνες (π.χ. νισίνη) και τα αιθέρια έλαια (π.χ. καρβακόλη) αποτελούν συνθήκες που αναφέρονται στην παγκόσμια βιβλιογραφία ως τεχνολογικά εμπόδια για την ανάπτυξη και την επιβίωση των μικροοργανισμών.

Η τεχνολογία συνδυασμού εμποδίων αυτή τη στιγμή κυριαρχεί στο διεθνές ερευνητικό στερέωμα. Ο σχεδιασμός ήπιων επεξεργασιών, οι οποίες θα συνδυάζουν τη μέγιστη ασφάλεια του τροφίμου με τις απαιτήσεις του καταναλωτή για προϊόντα πλούσια σε θρεπτικά στοιχεία, επιτυγχάνεται με τη διερεύνηση των μορφολογικών, φυσιολογικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών των βακτηρίων, καθώς και με την απόκρισή τους σε παράγοντες που τους προκαλούν στρες (Beals, 2004).

Πίνακας 1.2: Χρήση φυσικών και φυσικοχημικών παραμέτρων στη συντήρηση τροφίμων.

ΦΥΣΙΚΑ ΕΜΠΟΔΙΑ	ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΕΜΠΟΔΙΑ
Θερμική επεξεργασία (π.χ. αποστείρωση, παστερίωση, λεύκανση)	a_w
	pH
Ψύξη	ERH
Ακτινοβόληση	NaCl
Ηλεκτρομαγνητική ενέργεια	NaNO ₂
Υψηλή υδροστατική πίεση (UHP)	CO ₂
Παλλόμενα ηλεκτρικά πεδία (PEF)	Οργανικά οξέα
Υπέρηχοι	Συντηρητικά
MAP	Κάπνισμα
Ασηπτική συσκευασία	Μπαχαρικά
Μικροϋφή	Ανταγωνιστική μικροχλωρίδα
	Βακτηριοσίνες

1.3.3. Μέτρα ελέγχου για την αδρανοποίηση της *L. monocytogenes*

Η θερμική επεξεργασία και η ακτινοβόληση αποτελούν τις συνηθέστερες και αποτελεσματικότερες από όλες τις τεχνικές επεξεργασίας για τον χειρισμό των τροφίμων, αλλά και για τον έλεγχο της *L. monocytogenes*. Η δράση τους είναι καθοριστική, καθώς συμβάλλουν στην αδρανοποίηση και την καταστροφή πολλών παθογόνων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένου και του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*. Η μείωση του μικροβιακού φορτίου της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα επιτυγχάνεται κυρίως με τις παραπάνω επεξεργασίες. Οι υπόλοιπες μέθοδοι αποτελούν δευτερεύουσες επεξεργασίες και δεν μπορούν να ελέγξουν αποτελεσματικά την αδρανοποίηση του παθογόνου βακτηρίου.

Όπως ειπώθηκε παραπάνω, η τεχνολογία εμποδίων αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της παραγωγικής διαδικασίας των τροφίμων, καθώς συμβάλλει στην επίτευξη του ελέγχου επιμόλυνσης των τελικών προϊόντων. Η εφαρμογή συνδυαστικών μέτρων διασφαλίζει την ασφάλεια και την ποιότητα του τροφίμου και ο συνδυασμός τους λειτουργεί πιο ολοκληρωμένα από ότι το εκάστοτε μέτρο ελέγχου ξεχωριστά. Τα μέτρα ελέγχου θεωρούνται εμπόδια στην επιβίωση και ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Τα φυσικά και φυσικοχημικά εμπόδια συμπεριλαμβάνουν τη θερμοκρασία, την a_w (ξήρανση, προσθήκη ζάχαρης/αλατιού), το pH, τα συντηρητικά (όπως προσθήκη αλατιού) και την εφαρμογή άλλων μέτρων (Arthur, 2002).

Η χρήση ήπιων μεθόδων επεξεργασίας εξυπηρετεί τις απαιτήσεις των καταναλωτών για τρόφιμα ελαφρώς επεξεργασμένα, τα οποία διατηρούν τα θρεπτικά τους συστατικά και τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Παραδείγματος χάριν, το προσυσκευασμένο και κομμένο σε φέτες χοιρινό κρέας, το οποίο συνδυάζει την θερμική επεξεργασία, με τη συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) και την συντήρηση του τροφίμου υπό ψύξη.

Τα μέτρα πρέπει να είναι ικανά τόσο στη μείωση του μικροβιακού φορτίου και του ελέγχου της *L. monocytogenes*, όσο και στη μείωση του κινδύνου επιμόλυνσης των τροφίμων από το περιβάλλον επεξεργασίας τους. Πρόκληση για την βιομηχανία τροφίμων αποτελεί ο περιβαλλοντικός έλεγχος κατά τη διαδικασία παραγωγής του τροφίμου. Η Ορθή Υγιεινή Πρακτική (GHP) και η Ορθή Βιομηχανική Πρακτική (GMP) σε συνδυασμό με ένα πρόγραμμα HACCP και με έλεγχο του περιβάλλοντος, συμβάλλουν στην παρακολούθηση και τον έλεγχο της μόλυνσης από τη *L. monocytogenes*.

1.3.4. Διασταυρούμενη μόλυνση και αποφυγή αυτής

Η άμεση ή έμμεση μεταφορά βακτηρίων και ιών σε ένα μη μολυσμένο τρόφιμο που έρχεται σε επαφή με ένα μολυσμένο, ορίζεται ως διασταυρούμενη μόλυνση (cross contamination). Η διασταυρούμενη μόλυνση μπορεί να προέλθει και από την επαφή του μη μολυσμένου τροφίμου με μια μολυσμένη επιφάνεια, από μια επιφάνεια σε ένα τρόφιμο μέσω υγρών και, τέλος, μέσω του αέρα στο προϊόν. Το ποσοστό μεταφοράς κυττάρων από την επιφάνεια δότη στην επιφάνεια αποδέκτη, χαρακτηρίζεται ως ποσοστό μεταφοράς και δίνεται από τους τύπους (Pérez-Rodríguez et al., 2008):

$$TR = \frac{CFU_{\text{αποδέκτη}}}{CFU_{\text{δότη}}} \times 100$$

Η επικύρωση της αποδοτικότητας ανάκτησης των μικροοργανισμών από την επιφάνεια δότη στην επιφάνεια αποδέκτη πραγματοποιείται με τη χρήση μιας επιφάνειας αναφοράς (μάρτυρας), η οποία εμβολιάζεται με την ίδιο πληθυσμό μικροοργανισμών, χωρίς να συμμετέχει στην μεταφορά τους. Η αποδοτικότητα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{Log μεταφερόμενων μικροοργανισμών} = \frac{\log(CFU_{\text{δότη}} + CFU_{\text{αποδέκτη}})}{\log(CFU_{\text{control}})}$$

Η απόδοση της ανάκτησης είναι ανάλογη του log μεταφερόμενων μικροοργανισμών. Επομένως, όταν ο λόγος του log είναι χαμηλός, χαμηλή είναι και η απόδοση. Το μικρό κλάσμα του log προκύπτει είτε λόγω της χαμηλής απόδοσης, είτε λόγω της μείωσης των βακτηρίων, που προήλθε από το περιβαλλοντικό στρες. Στην περίπτωση που το περιβαλλοντικό στρες δεν συνυπολογίζεται ως παράγοντας, τότε υπάρχει μεγάλη πιθανότητα υπερεκτίμησης της δυνατότητας μεταφοράς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να θεσπιστεί ο βαθμός ανάπτυξης (baseline):

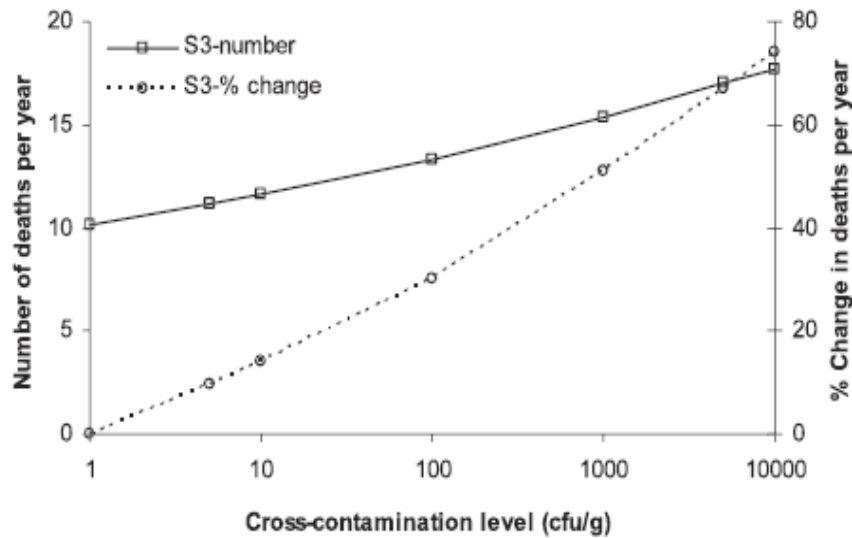
$$\text{Βαθμός ανάπτυξης} = \frac{CFU_{\text{control}} \text{ μετά την επώαση}}{CFU_{\text{control}} \text{ πριν την επώαση}}$$

Και εν συνεχεία το νέο TR:

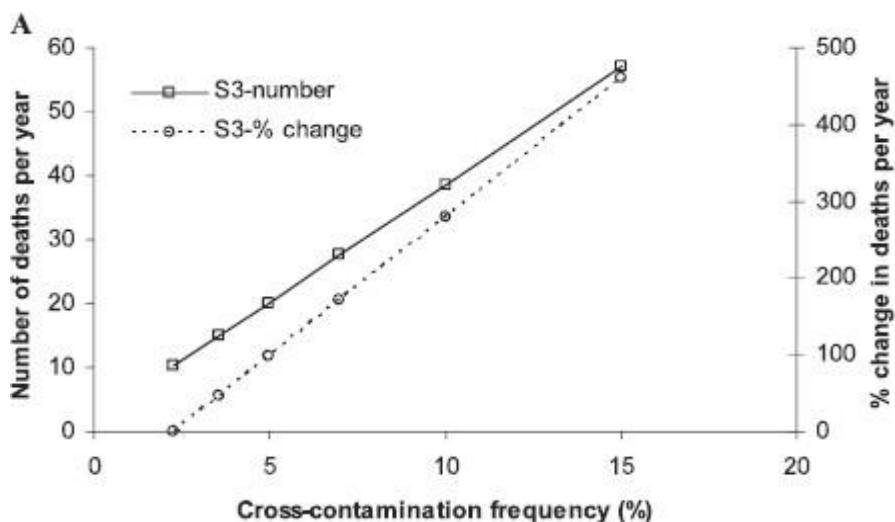
$$TR = \frac{CFU_{\text{αποδέκτη}} \times 100}{\text{Baseline}}$$

Οι Pradhan et al., (2011) για να προβλέψουν το ενδεχόμενο διασταυρούμενης μόλυνσης και τον πιθανό αριθμό θανάτων από τη λιστερίωση, δημιούργησαν 3 σενάρια διασταυρούμενης μόλυνσης σε καταστήματα λιανικής, χρησιμοποιώντας δεδομένα από προηγούμενες έρευνες τους για τον ρυθμό ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* (Pradhan et al., 2008). Στην πρώτη περίπτωση ίσχυε ότι δεν υπήρξε καμία επιπρόσθετη επιμόλυνση, στη δεύτερη υπήρξε ένα ποσοστό 2,3% προϊόντων γαλοπούλας και ζαμπόν, τα οποία επιμολύνθηκαν από επαφή με άλλα ήδη μολυσμένα τρόφιμα, και στην τρίτη περίπτωση το ποσοστό του 2,3% προϊόντων γαλοπούλας και

ζαμπόν προήλθε από την επιμόλυνση των τροφίμων από το εξωτερικό περιβάλλον του καταστήματος. Στην δεύτερη περίπτωση, ο σχετικός κίνδυνος λιστερίωσης που προκαλούσε θανάτους καταμετρήθηκε στο 5,9 για την γαλοπούλα και στο 6,1 για το ζαμπόν. Στα σχήματα 1.3 και 1.4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της τρίτης περίπτωσης, όπου ο σχετικός κίνδυνος λιστερίωσης που προκαλούσε θανάτους καταμετρήθηκε στο 4,9 για την γαλοπούλα και στο 5,8 για το ζαμπόν. Το συμπέρασμα της έρευνας ήταν ότι ο σχετικός κίνδυνος λιστερίωσης που προκαλούσε θανάτους επηρεάζεται με την συχνότητα της διασταυρούμενης μόλυνσης των μαγαζιών λιανικής.



Σχήμα 1.3: Η επίδραση των επιπέδων της *L. monocytogenes* στον αριθμό θανάτων ανά έτος και η επίδραση μιας ενδεχόμενης αλλαγής στα επίπεδα διασταυρούμενης μόλυνσης, σύμφωνα με την τρίτη περίπτωση (S3) (Pradhan et al., 2011).

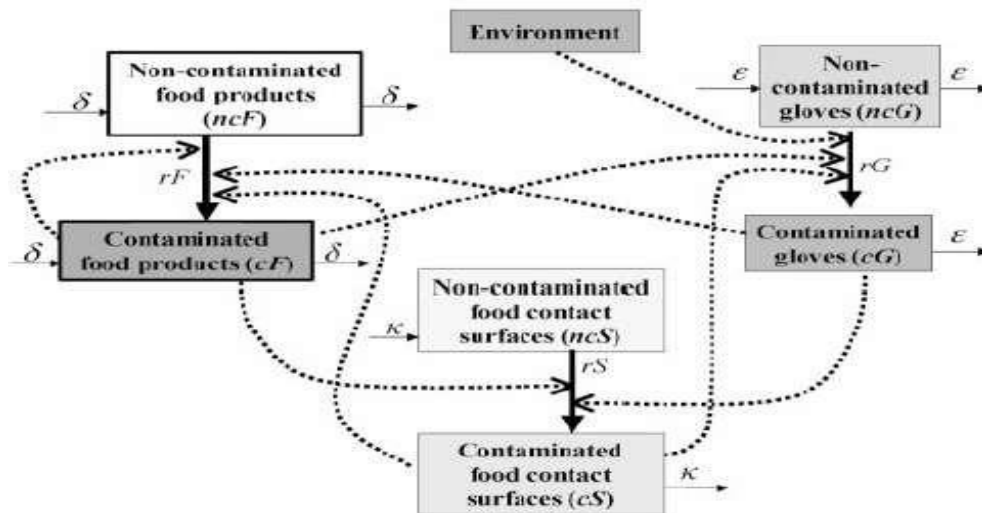


Σχήμα 1.4: Η επίδραση της αλλαγής συχνότητας (2,3%) της διασταυρούμενης μόλυνσης στους θανάτους ανά έτος, σύμφωνα με την τρίτη περίπτωση (S3). Μια αύξηση της τάξεως του 2,7% (2,3 στο 5%) στην συχνότητα της διασταυρούμενης μόλυνσης, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των θανάτων ανά έτος κατά 100+ % (Pradhan et al., 2011).

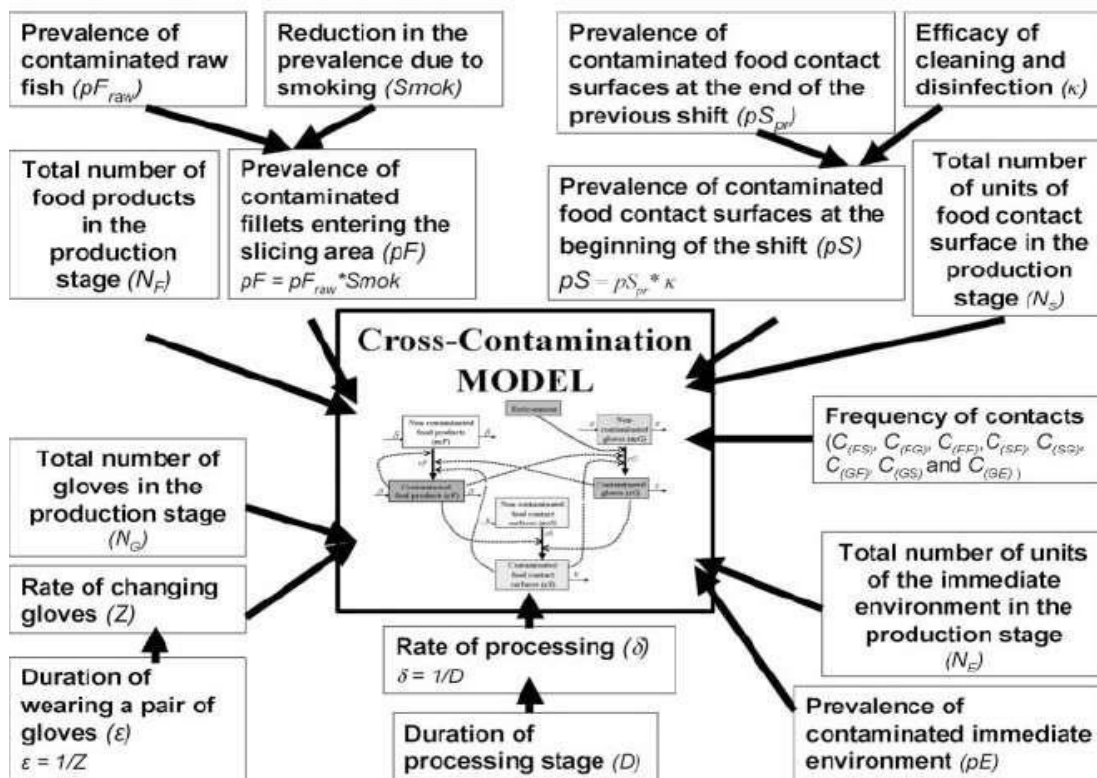
Υπήρξαν πολλές μελέτες με αντικείμενο την διασταυρούμενη μόλυνση και την προσπάθεια αποφυγής της. Μια εξ αυτών πραγματευόταν την διασταυρούμενη μόλυνση και την ανάλυση επικινδυνότητας της *L. monocytogenes*, καθώς και την αιτία των θανάτων που προκαλούσε η λιστερίωση. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η επιμόλυνση προερχόταν από τα μαγαζιά λιανικής και, κυρίως, από την κατανάλωση ζαμπόν και γαλοπούλας, τα οποία δεν περιείχαν αναστολείς ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*. Το ποσοστό επιμόλυνσης από τα μαγαζιά λιανικής ανέρχεται στο 76%, εκ των οποίων το 63% των κρουσμάτων και των θανάτων ηλικιωμένων προέρχεται από την κατανάλωση του ζαμπόν και της γαλοπούλας. Επιπροσθέτως, είναι γεγονός ότι η θερμοκρασία ψύξης κάτω των 7 °C αναστέλλει την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* (Pradhan et al., 2010). Η χρήση μολυσμένων μαγειρικών εξοπλισμών από την *L. monocytogenes*, όπως ενός μαχαιριού, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την μεταφορά του παθογόνου μικροοργανισμού, μέσω της επαφής της μολυσμένης επιφάνειας με τα τρόφιμα, σε ποσοστό από 1 έως 15% (Hoelzer et al., 2012).

Οι Papadopoulou et al., (2012) ενοφθάλμισαν μπιφτέκια με το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις, ούτως ώστε να αξιολογήσουν την πιθανότητα διασταυρούμενης μόλυνσης, καθώς και το ποσοστό μεταφοράς του βακτηρίου από την μηχανή του κιμά στο μπιφτέκι. Οι συγκεντρώσεις του εμβολίου με το παθογόνο βακτήριο ήταν 3, 5 και 7 log/g μπιφτεκιού. Το μολυσμένο δείγμα 30 λεπτά αργότερα τοποθετήθηκε στην μηχανή του κιμά και έπειτα ακολούθησε η εισαγωγή άλλων 6 μη μολυσμένων δειγμάτων, ανά επίπεδο. Τα αποτελέσματα ήταν ότι στα δείγματα όλων των επιπέδων μόλυνσης προκλήθηκε διασταυρούμενη μόλυνση με ελάχιστη μείωση της τάξεως των 2 log/g από το πρώτο έως το τελευταίο δείγμα.

Τέλος, για την εντόπιση της προέλευσης της διασταυρούμενης μόλυνσης από το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* σε εργοστάσιο επεξεργασίας ψαριών, οι Ivanek et al., (2004) ανέπτυξαν ένα μαθηματικό μοντέλο. Παράγοντες που αποτέλεσαν την κυριότερη αιτία επιμόλυνσης των τροφίμων ήταν η συχνότητα χρήσης των γαντιών που χρησιμοποιούσαν οι εργαζόμενοι για να επεξεργαστούν τα προϊόντα, η συχνότητα αλλαγής των γαντιών και, τέλος, η συχνότητα επαφής των τροφίμων με τις επιφάνειες. Η ανάπτυξη του μοντέλου συνέβαλε στον υπολογισμό του αριθμού των μολυσμένων και μη μολυσμένων τροφίμων, καθώς και στην πρόβλεψη μολυσμένων τροφίμων, επιφανειών και γαντιών ως προς το σύνολο αυτών ανά βάρδια (Ivanek et al., 2004). Συνεπώς, το μαθηματικό μοντέλο απέδειξε ότι η διασταυρούμενη μόλυνση προέκυψε από τη χρήση γαντιών και επιφανειών που ήρθαν σε επαφή με τα τρόφιμα και ο ιδανικός χρόνος για τον έλεγχο των τελικών προϊόντων, των αναλώσιμων και των επιφανειών είναι στο τέλος της ημερήσιας βάρδιας.

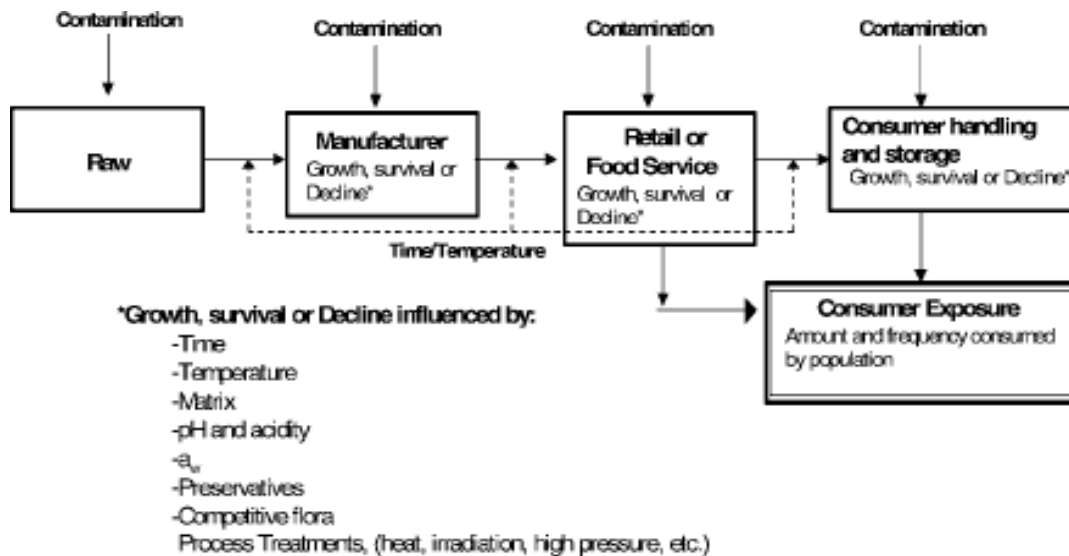


Σχήμα 1.5: Οι πορείες που μπορεί να ακολουθήσει μια ενδεχόμενη διασταυρούμενη μόλυνση από το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* σε εργοστάσιο επεξεργασίας ψαριών. Οι συμπαγείς γραμμές παρουσιάζουν την αλλαγή από τη μη επιμολυσμένη κατάσταση στην επιμολυσμένη, ενώ οι διακεκομμένες γραμμές αναπαριστούν τις επιρροές αυτών των αλλαγών (Ivanek et al., 2004).



Σχήμα 1.6: Αναλυτική παρουσίαση όλων των πιθανών παραμέτρων, που ελήφθησαν υπόψη για την ανάπτυξη του μαθηματικού μοντέλου διασταυρούμενης μόλυνσης από το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* σε εργοστάσιο επεξεργασίας ψαριών (Ivanek et al., 2004).

Στο σχήμα 1.7 παρουσιάζονται, σύμφωνα με τον Walls, (2005), οι παράγοντες που επηρεάζουν την επιμόλυνση των τροφίμων από τη *L. monocytogenes* και παράλληλα προτείνονται μέθοδοι για την αποφυγή των κρουσμάτων της λιστερίωσης.



Σχήμα 1.7: Παράγοντες που επηρεάζουν την επιμόλυνση των τροφίμων από τη *L. monocytogenes* (Walls, 2005).

Υπάρχουν ποικίλες μέθοδοι που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αποφυγή της διασταυρούμενης μόλυνσης και, κατά συνέπεια, την αποφυγή των κρουσμάτων της λιστερίωσης. Αρχικά, προτείνεται στις ευπαθείς ομάδες να ενημερώνονται για την ύπαρξη τροφίμων αυξημένου ρίσκου, για τις θερμοκρασίες της συντήρησης αυτών των τροφίμων, καθώς και για τον τρόπο επίτευξης της αποφυγής μιας διασταυρούμενης μόλυνσης. Σε ιδανικές περιπτώσεις, θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμο οι ομάδες υψηλού κινδύνου να γνωρίζαν ορισμένες από τις ιδιότητες τροφίμων υψηλού ρίσκου. Πιο αναλυτικά, αν υπάρχει πιθανότητα επαφής του τροφίμου με τα βακτηριακά κύτταρα της *L. monocytogenes*, αν αυτά τα προϊόντα είναι ικανά υποστρώματα για την ανάπτυξη του βακτηρίου, αν αποτελούν τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (RTE), αν η συντήρησή τους γίνεται υπό ψύξη και, τέλος, αν η αποθήκευσή τους γίνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα. Επομένως, ο διαχωρισμός των τροφίμων σε προϊόντα υψηλού και χαμηλού κινδύνου είναι απαραίτητος.

Επιπροσθέτως, εκτός από τους καταναλωτές, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται και από τις βιομηχανίες τροφίμων και από καταστήματα λιανικής. Ενδεικτικά, προτείνεται η πρόληψη για την αποφυγή της ανάπτυξης της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα, η πρόληψη για την αποφυγή εκτεταμένου πολλαπλασιασμού της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα, καθώς και συνεχής εκπαίδευση του εμπλεκόμενου προσωπικού για την επικινδυνότητα του εκάστοτε παθογόνου μικροοργανισμού, μέσω επιστημονικών σεμιναρίων. Επιπλέον, είναι απαραίτητη η χρήση συστημάτων ελέγχου από το προσωπικό, το οποίο πρέπει να εκπαιδεύεται κατάλληλα, ούτως ώστε να διασφαλίζεται η ασφάλεια και η ποιότητα των τροφίμων. Η ορθή βιομηχανική πρακτική (GMP) και η ορθή υγιεινή πρακτική (GHP), καθώς και η ανάλυση κινδύνου και ο έλεγχος των κρίσιμων σημείων (HACCP)

ελαχιστοποιούν την πιθανότητα περιβαλλοντολογικής μόλυνσης, αποτρέποντας την διασταυρούμενη μόλυνση των τροφίμων.

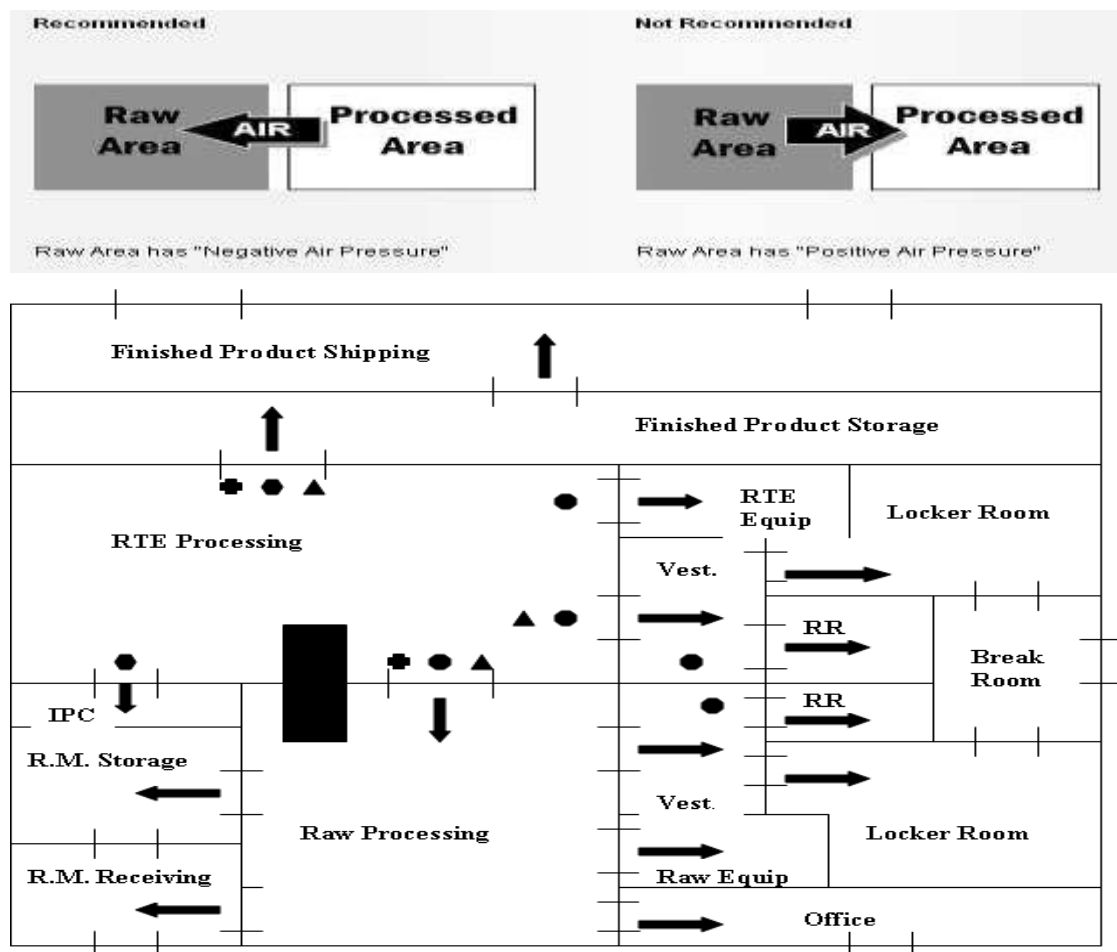
Ο δειγματοληπτικός έλεγχος εκτιμά την πιθανότητα μόλυνσης σε έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (RTE) στους χώρους επεξεργασίας τροφίμων και αποτελεί ειδικό πρόγραμμα, το οποίο πρέπει να εφαρμόζεται από βιομηχανίες τροφίμων που παράγουν τρόφιμα υψηλού κινδύνου. Η πρόληψη της συγκέντρωσης του πληθυσμού του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* πρέπει να επικεντρώνεται κυρίως σε τρόφιμα υψηλού ρίσκου και η παρακολούθηση για τον καθορισμό της συγκέντρωσης του παθογόνου πρέπει να είναι συνεχής. Επομένως, απαραίτητα θεωρούνται τα εκπαιδευτικά προγράμματα που επικεντρώνονται στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα υψηλού κινδύνου, ενημερώνοντας τον τελικό χρήστη για τον χειρισμό αυτών των προϊόντων, για την απολύμανση και τον καθαρισμό τους, καθώς και τον χρόνο διατηρησιμότητας του τροφίμου. Τέλος, η εκπαίδευση πρέπει να επικεντρώνεται και στη θερμοκρασία ψύξης των τροφίμων, η οποία δεν επιτρέπεται να ξεπερνά τους 4 °C, και να επιβεβαιώνεται με την χρήση θερμομέτρων.

Άτομα που εμπλέκονται άμεσα με τα τρόφιμα, όπως οι χειριστές τροφίμων σε νοσοκομεία και καταστήματα εστίασης, θα πρέπει να έχουν εκπαιδευτεί κατάλληλα και να έχουν κατανοήσει εις βάθος τον ορθό χειρισμό του εκάστοτε τροφίμου. Εκτός από το προσωπικό, πρέπει να υπάρχουν και οι αρμόζουσες εγκαταστάσεις που να διασφαλίζουν την ασφάλεια των προϊόντων. Τέλος, κατάλληλα καταρτισμένο υγειονομικό προσωπικό θα πρέπει να συμβουλεύει τα ευπαθή άτομα για την επικινδυνότητα της κατανάλωσης τροφίμων υψηλού κινδύνου.

Η εμφάνιση επιμόλυνσης των τροφίμων από το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* στις βιομηχανίες τροφίμων προκαλείται με ποικίλους τρόπους. Αρχικά, υπάρχει το ενδεχόμενο να προήλθε από μια μεταφορά ή μια σημαντική τροποποίηση της γραμμής συσκευασίας. Έπειτα, μπορεί να οφείλεται σε χρήση μεταχειρισμένων ή χρησιμοποιημένων μηχανημάτων που προήλθαν από άλλο εργοστάσιο στο διάγραμμα ροής της παρασκευής ενός τροφίμου. Άλλος ένας παράγοντας επιμόλυνσης των τροφίμων είναι εξαιτίας μιας μηχανικής βλάβης ενός μηχανήματος. Οι επισκευές και οι τροποποιήσεις, όπως για παράδειγμα η αντικατάσταση καταψυκτικών, πατωμάτων ή τοίχων, που γίνονται εντός του χώρου παρασκευής έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων αποτελούν αιτία επιμόλυνσης. Επιπλέον, η πρόσληψη μη καταρτισμένου προσωπικού σχετικά με την *L. monocytogenes* στον χώρο παρασκευής τροφίμων ή η πρόσληψη μη εκπαιδευμένου προσωπικού για τον καθαρισμό μηχανημάτων στους χώρους επεξεργασίας τροφίμων αποτελεί κίνδυνο διασταυρούμενης μόλυνσης από το παθογόνο. Επομένως, είναι απαραίτητο το προσωπικό που χειρίζεται τα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση να είναι άρτια εκπαιδευμένο και να γνωρίζει τα συστήματα ελέγχου. Η επαναλαμβανόμενη χρήση γαντιών που μπορεί να έχουν έρθει σε επαφή με μολυσμένες επιφάνειες, όπως κάδους και δάπεδα, ή η έλλειψη προσωπικής υγιεινής από τους υπαλλήλους είναι συχνή αιτία επιμόλυνσης. Επιπρόσθετα, ο ελλιπής καθαρισμός σε περιόδους μεγάλης παραγωγής, η διαρροή στις εγκαταστάσεις και η ύπαρξη μολυσμένων αιωρούμενων σωματιδίων που έρχονται σε επαφή με συσκευές επιμολύνουν τα τρόφιμα. Όταν τα ωμά προϊόντα

και τα προϊόντα υπό επεξεργασία αποθηκεύονται σε χώρους με μαγειρεμένα τρόφιμα, όταν γίνεται εναλλαγή του προσωπικού από χώρους μη επεξεργασμένων τροφίμων σε χώρους επεξεργασμένων τροφίμων και όταν πραγματοποιούνται συχνές αλλαγές τροφίμων στην γραμμή συσκευασίας, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του φιλμ της γραμμής συσκευασίας, των καλουπιών και της ταχύτητας γραμμής, προκαλείται συχνά μόλυνση στα τρόφιμα από τη *L. monocytogenes*. Επίσης, υπάρχει υψηλή πιθανότητα επιμόλυνσης σε περίπτωση που είναι αυξημένη η παραγωγή, εξαναγκάζοντας την χρήση υγρού καθαρισμού σε ορισμένα μηχανήματα, που συνυπάρχουν με μηχανήματα που την ίδια χρονική στιγμή χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τροφίμων. Όταν μέρη του εξοπλισμού, όπως κόσκικα και σκάφες, πλένονται στο πάτωμα ή όταν κάδοι απορριμμάτων στον χώρο την παραγωγής δεν είναι σωστά καθαρισμένοι και διατηρημένοι αυξάνεται η πιθανότητα επιμόλυνσης. Τέλος, όταν οι αντλίες επανακυκλοφορίας και οι γραμμές δεν είναι κατάλληλα καθαρισμένες και απολυμασμένες, όταν γίνεται ακατάλληλη χρήση των συστημάτων υψηλής πίεσης καθαρισμού και όταν χρησιμοποιούνται σπρέι νερού από τα οχήματα (τροχούς) μεταφοράς στα υπό επεξεργασία τρόφιμα υπάρχει υψηλός κίνδυνος ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* στα τελικά προϊόντα (FDA, 2008).

Στο σχήμα 1.8 παρουσιάζεται η προτεινόμενη διαμόρφωση του χώρου για την αποφυγή επιμόλυνσης από τη *L. monocytogenes*. Ο προτεινόμενος καθαρισμός παρουσιάζεται στους πίνακες 1.3 και 1.4.





Σχήμα 1.8: Προτεινόμενη διαμόρφωση χώρου, για την αποφυγή επιμόλυνσης από το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes*, ανά διαμερίσματα σε βιομηχανία τροφίμων (FDA, 2008).

Πίνακας 1.3: Προτεινόμενο πρόγραμμα καθαρισμού και απολύμανσης για τις επιφάνειες που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (FDA, 2008).

Θερμοκρασία δωματίου όπου βρίσκεται η επιφάνεια (°C)	Συχνότητα καθαρισμού
≤ 5	Μικρότερη ή ίση με 24 ώρες
5-7	Μικρότερη ή ίση με 20 ώρες
7-10	Μικρότερη ή ίση με 16 ώρες
10-13	Μικρότερη ή ίση με 10 ώρες
Μεγαλύτερη από 13	Μικρότερη ή ίση με 4 ώρες

Πίνακας 1.4: Προτεινόμενο πρόγραμμα καθαρισμού και απολύμανσης για επιφάνειες, περιοχές και εξοπλισμό που δεν έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (Tomrkin et al, 1999).

Τύπος επιφανείας ή περιοχής	Συχνότητα καθαρισμού*
Αποχέτευση ή τοίχοι	Καθημερινά
Παλέτες	Καθημερινά
Κάδοι απορριμμάτων	Καθημερινά
Εργαλεία καθαρισμού	Καθημερινά
Δίσκοι συμπυκνωμάτων	Εβδομαδιαία
Θέσεις μοτέρ, σωληνώσεις, εξωτερικές επιφάνειες και κλειστά συστήματα επεξεργασίας	Μηνιαία
Οροφές και τοίχοι**	Μηνιαία
Καταψύκτες ωμών τροφίμων έτοιμα για κατανάλωση	Εξαμηνιαία
Παγομηχανές***	Εξαμηνιαία
Επιφάνειες όπου μπορούν δυναμικά να γίνουν πηγές επιμόλυνσης από <i>L. monocytogenes</i> , επιφάνειες όπου αγγίζονται από τους εργαζόμενους κατά την διάρκεια παραγωγής ή μπορεί να υπάρξει συσσώρευση υγρασίας	Καθημερινά

*: Αν οι περιβαλλοντολογικές αναλύσεις ή ο έλεγχος υποδηλώνουν πρόβλημα με την παρουσία *L. monocytogenes* προτείνεται η αύξηση της συχνότητας

** : Αν οι επιφάνειες μπορούν δυναμικά να γίνουν πηγές επιμόλυνσης από *L. monocytogenes* προτείνεται η αλλαγή της συχνότητας σε καθημερινή βάση

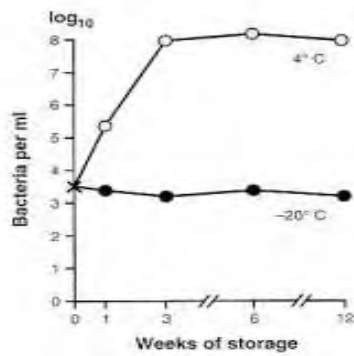
*** : Αν ο κατασκευαστής προτείνει άλλη συχνότητα καθαρισμού, θα πρέπει να υπάρχει ταύτιση

1.4.1. Η ανάπτυξη της *L. monocytogenes* και οι παράγοντες που την επηρεάζουν

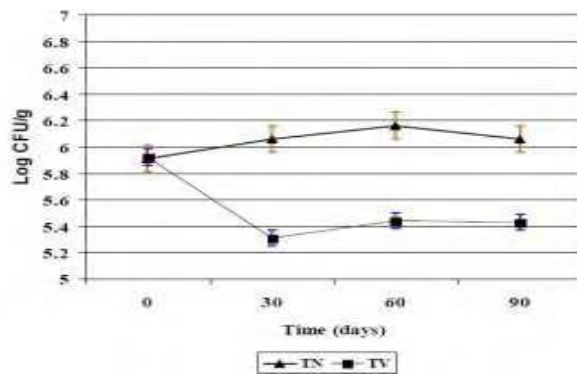
Ο βαθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα τρόφιμα είναι υπεύθυνος για τη ρύθμιση της συμπεριφοράς των μικροοργανισμών, οι οποίοι είναι ικανοί να προκαλέσουν τροφιογενείς λοιμώξεις. Η θερμοκρασία, η ενεργότητα νερού (water activity- a_w), η παρουσία αλατιού, η παρουσία οξυγόνου και η οξύτητα (pH) αποτελούν ορισμένους από τους παράγοντες που επηρεάζουν τον ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών (McMeekin et al., 1997).

Επειδή η *L. monocytogenes* ανήκει στην κατηγορία των ψυχρότροφων βακτηρίων, έχει τη δυνατότητα να αναπτύσσεται και να επιβιώνει ακόμα και σε τρόφιμα που συντηρούνται υπό θερμοκρασίες ψύξης, με αποτέλεσμα να δημιουργείται πρόβλημα στην βιομηχανία τροφίμων και να αναζητούνται μέθοδοι αδρανοποίησης του παθογόνου (Ramaswamy et al., 2007; Cosentino et al., 2012; Collins et al., 2011). Στα παρακάτω σχήματα 1.9 και 1.10 παρουσιάζεται η ικανότητα του βακτηρίου να επιβιώνει σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, ακόμα και στους $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (Hof, 1996), καθώς και η επιβίωση της *L. monocytogenes* σε δείγμα καπνιστής γαλοπούλας που συντηρείται σε θερμοκρασία $-20\text{ }^\circ\text{C}$ και για χρονικό διάστημα 90 ημερών, ανεξαρτήτως παρουσίας ατμοσφαιρικού αέρα ή συσκευασίας υπό κενό (Beverly, 2004). Ο μηχανισμός λειτουργίας της μεμβράνης του κυτταρικού τοιχώματος και η δράση των ενώσεων του κυτταρικού τοιχώματος της *L. monocytogenes*, όπως για παράδειγμα η βεταΐνη και η καρνιτίνη που δρουν ωσμο-προστατευτικά και κρύο-προστατευτικά, μελετήθηκαν ούτως ώστε να διευκρινιστούν οι παράγοντες που ευνοούν την επιβίωση του παθογόνου σε τόσο χαμηλές θερμοκρασίες (Ko et al., 1994; Angelidis and Smith, 2003a; Angelidis and Smith, 2003b).

Επιπροσθέτως, η δυνατότητα της *L. monocytogenes* να επιβιώνει σε τόσο χαμηλές θερμοκρασίες οφείλεται στις μεμβράνες των φωσφολιπιδίων. Οι μεμβράνες βρίσκονται σε υγρο-κρυσταλλική κατάσταση, ούτως ώστε να διατηρήσουν την ρευστότητά τους, καθώς και να ευνοήσουν την ανάπτυξη του βακτηρίου σε αυτές τις χαμηλές θερμοκρασίες (Lado, 2003). Οι μεμβράνες αποτελούνται από λιπαρά οξέα και επομένως, η σύσταση των λιπαρών οξέων είναι υπεύθυνη για την υγρο-κρυσταλλική κατάσταση των μεμβρανών. Η αναλογία των διακλαδισμένων αλυσίδων των λιπαρών οξέων (branch-chain fatty acids, σχήμα 1.12) είναι περισσότερο από το 96% της συνολικής σύστασης της μεμβράνης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*. Η πλειονότητα των λιπαρών οξέων βρίσκεται στερεοχημικά σε κατάσταση ισομερούς $C_{15:0}$ (41-52%), $C_{17:0}$ (24-51%) και $C_{15:0}$ (2-18%), όταν το βακτήριο αναπτύσσεται στους $37\text{ }^\circ\text{C}$, ενώ όταν αναπτύσσεται στους $5\text{ }^\circ\text{C}$, η στερεοχημική κατάσταση ισομερούς $C_{15:0}$ επικρατεί στο σύνολο των λιπαρών οξέων (65-85 % του συνόλου των λιπαρών οξέων). Οι δυνάμεις Van den Waals μειώνονται, όταν αυξάνονται οι ασυμμετρικές διακλαδώσεις και όταν μειώνεται η αναλογία των μεγάλων αλφατικών αλυσίδων (C_{17}). Η διατήρηση της ρευστότητας των μεμβρανών της *L. monocytogenes* ευθύνεται για την επιβίωση του βακτηρίου και επιτυγχάνεται μέσω του σφικτού «πακεταρίσματος» των μεμβρανών των φωσφολιπιδίων που συμβαίνει στις χαμηλές θερμοκρασίες.

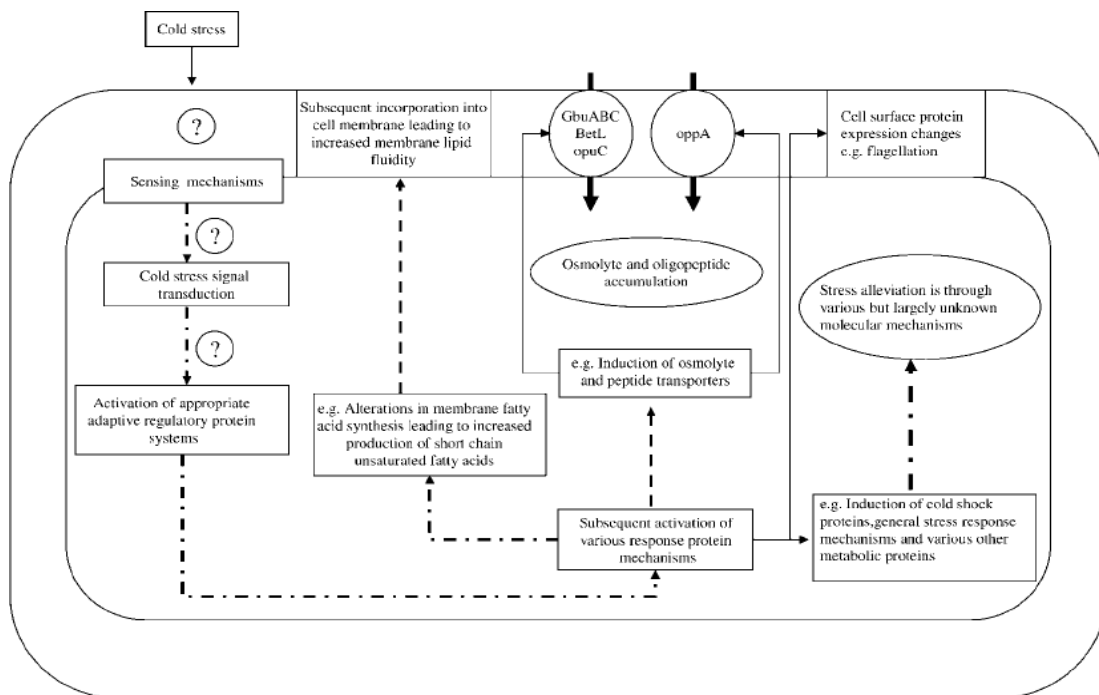


Σχήμα 1.9: Η επιβίωση της *L. monocytogenes* στους -20 °C (Hof, 1996).



Σχήμα 1.10: Η επιβίωση *L. monocytogenes* στους -20 °C υπό κενό και παρουσία αέρα (Beverly, 2004).

Στο παρακάτω σχήμα 1.11 φαίνονται συγκεντρωτικά οι παράγοντες που επιδρούν στην αντοχή της *L. monocytogenes* στο ψύχος.

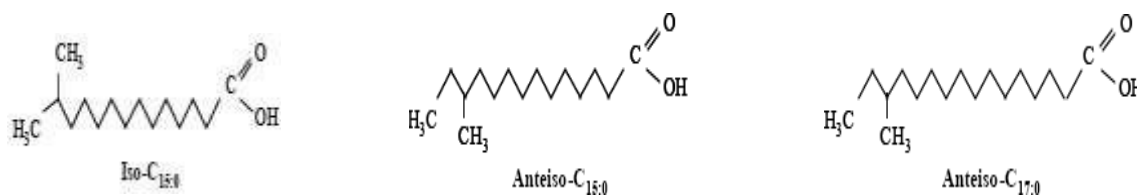


Σχήμα 1.11: Κατά την διαδικασία ενεργοποίησης της αντοχής στο ψύχος από την *L. monocytogenes*, πραγματοποιείται η παραπάνω ακολουθία μοριακών γεγονότων. Στην αντοχή της *L. monocytogenes* στο ψύχος συμμετέχει ένα πρωτεϊνικό δίκτυο, το οποίο ενεργοποιείται όταν γίνει αντιληπτό το ψύχος από τα ριβοσώματα. Τα διακεκομμένα βέλη υποδηλώνουν τα στάδια που ενδεχομένως εμπλέκονται στην εφαρμογή των μηχανισμών που αντιστέκονται στο ψύχος. Τα στάδια, τα οποία ευθύνονται για την αλλαγή της δομής των λιπαρών οξέων, αλλά και για τους μηχανισμούς συσσώρευσης των οσμοπροστατευτικών ουσιών παρουσιάζονται με τα συνεχή βέλη (Tasara and Stephan, 2006).

Στον πίνακα 1.5 που ακολουθεί φαίνονται τα γονίδια που ενεργοποιούν αυτές τις λειτουργίες.

Πίνακας 1.5: Γονίδια που συμμετέχουν στον μηχανισμό αντοχής στο ψύχος της *L. monocytogenes* (Tasara and Stephan, 2006).

Τύποι γονιδίων	Γονίδια
Γονίδια που σχετίζονται με τις κυτταρικές μεμβράνες	oppA, glubABC, betL, opuC, flaA, fbp
Προσαρμοστικά γονίδια σε ψυχτικό στρες	Orxf, sigB, rpoN, blgG, hfg, degU, yycJ
Γονίδια πρωτεϊνών υπό καθεστώς ψυκτικού Σοκ	cspLA, fri
Γονίδια που απαντώνται σε καθεστώς ψύχους	groEL, clpP, cplB



Σχήμα 1.12: Μοριακές δομές των λιπαρών οξέων των μεμβρανών της *L. monocytogenes* (Lado, 2003).

Οι Miladi et al., (2013) απέδειξαν τη σημαντικότητα του anteiso C_{15:0}, συγκρίνοντας τρία διαφορετικά στελέχη της *L. monocytogenes* που ήταν αποθηκευμένα σε διαφορετικές θερμοκρασίες των 37, των 4 και των -20 °C. Τα αποτελέσματα παρουσίασαν ότι η αύξηση του anteiso C_{15:0} και η αντίστοιχη μείωση του (C₁₇) ήταν διαφορετικές και για τα τρία στελέχη. Συνεπώς, κατάφεραν να αποδείξουν ότι μετά την κατάψυξη υπήρχε διαφοροποίηση στην αναπροσαρμογή των μεμβρανών μεταξύ και των τριών στελεχών.

Το εύρος ανάπτυξης της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση (ready to eat), σύμφωνα με τον οργανισμό υγείας του Καναδά, κυμαίνεται από -0,4 έως 45 °C (Canadian Health Federal Department, 2011). Ωστόσο, σύμφωνα με τον Todar, (2012b), η ελάχιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι στον 1 °C, η βέλτιστη θερμοκρασία κυμαίνεται από τους 30 έως τους 37 °C και, τέλος, η μέγιστη είναι στους 45 °C. Στον πίνακα 1.6 παρουσιάζονται οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*, σύμφωνα με την επιστημονική επιτροπή μέτρων δημόσιας υγείας, υπό την εντολή της Ευρωπαϊκής Επιτροπής υγείας.

Πίνακας 1.6: Όρια ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* (European Commission, 1999).

Παράγοντας	Ελάχιστο	Βέλτιστο	Μέγιστο
Θερμοκρασία °C	-0,4	37	45
pH	4,39	7,0	9,4
NaCl	-	-	10%
a _w	(0,90) γλυκερόλη 30°C	-	-
a _w	0,92 (NaCl)	-	-
a _w	0,93 (σουκρόζη)	-	-

Τρόφιμα όπως είναι το ωμό κρέας, τα απαστερίωτα γαλακτοκομικά, τα μαλακά τυριά, τα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα και τα ακαθάριστα ή ημιτελώς καθαρισμένα φρούτα ή λαχανικά έχουν ενοχοποιηθεί για την ανάμιξή τους σε περιστατικά λιστερίωσης (Taillefer et al., 2010). Είναι δεδομένο πως η ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στο εκάστοτε τρόφιμο είναι διαφορετική, διότι οι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη του βακτηρίου στο εκάστοτε υπόστρωμα έχουν σχέση με την πολυπλοκότητά του ίδιου του υποστρώματος, καθώς και με τις συνθήκες αποθήκευσης του τροφίμου. Πίνακες έχουν εκδοθεί τόσο από την Ε.Ε, όσο και από το FDA (Food and Drug Administration) των Η.Π.Α και αφορούν ποικίλα τρόφιμα και διάφορους παράγοντες που εμπλέκονται με την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* και την επηρεάζουν.

Πίνακας 1.7: Χρόνος διπλασιασμού *L. monocytogenes* σε γαλακτοκομικά είδη (European Commission, 1999).

Προϊόν	Χρόνος διπλασιασμού (h)	Θερμοκρασία °C	pH*	NaCl g/L*
Αποβουτυρωμένο γάλα	12,5	8	6,40	0,5
Κρέμα γάλακτος	6	13	6,40	0,5
Γάλα UHT	18,5 ¹	5	6,60	0,5
Χάλα χαμηλών λιπαρών	12	7	6,40	0,5
Τυρί camembert	18	6	6,10	2,4

1: Μέσος όρος σε διάστημα 13-24 h; * Υποθετικά υπολογιζόμενα

Πίνακας 1.8: Χρόνος διπλασιασμού *L. monocytogenes* σε κρεατοσκευάσματα (European Commission, 1999).

Προϊόν	Χρόνος διπλασιασμού (h)	Θερμοκρασία °C	pH	NaCl g/L	NaNO ₂ mg/L
Μπιφτέκι σε κενό	30	5,3	5,60	0,5*	0
Μαγειρεμένος κιμάς	10,8	8	5,80	0,5*	0
Ακατέργαστο κρέας χοιρινού	3,6	15	6,30	2	40
Κιμάς μπιφτεκιού	18,1	5	6,27	0,5*	0
Ζαμπόν σε κενό	16,4	10	6,63	2,77	170
Λουκάνικα Φρανκφούρτης	9	15	5,80	3,2	156
Μπούτι κοτόπουλο	19,3	6	6,52	0,5*	0

* Υποθετικά υπολογιζόμενα

Πίνακας 1.9: Ρυθμός ανάπτυξης *L. monocytogenes* σε καπνιστά θαλασσινά (FDA, 2003).

Προϊόν	Θερμοκρασία °C	Ρυθμός ανάπτυξης (LogCfu/g)	Εκθετικός ρυθμός ανάπτυξης στους 5°C (Cfu/ημέρα)
Καπνιστά Θαλασσινά			
Σολωμός (Ψ)	4	2,1 log σε 28 ημέρες	0,107
Σολωμός (Ψ)	8	5,4 log σε 21 ημέρες	0,116
Πέστροφα (Θ)	4	0,5 log σε 20 ημέρες	0,035
Πέστροφα (Θ)	8-10	6,5 log σε 20 ημέρες	0,120

όπου Ψ: ψυχρό κάπνισμα, Θ: Θερμό κάπνισμα

Πίνακας 1.10: Ρυθμός ανάπτυξης *L. monocytogenes* σε ποικίλες κατηγορίες τροφίμων (FDA, 2003).

Προϊόν	Θερμοκρασία °C	Ρυθμός ανάπτυξης (Log Cfu/g)	Εκθετικός ρυθμός ανάπτυξης στους 5°C(Cfu/ημέρα)
Έτοιμα για κατανάλωση			
Καβουρόψιχα παστεριωμένη	5	3 log σε 10 ημέρες	0,300
Λαχανικά			
Μπρόκολο	4	0,25 έως 0,5 log από 14 σε 21 ημέρες	0,059
Σαλάτα φρούτων	4	0,30 log σε 10 ημέρες	0,160
Φρούτα			
Χυμός πορτοκαλιού	4	1 log σε 35 ημέρες(pH=5)	0.041
Φέτες μήλου	10	2 log σε 6 ημέρες	0,102 (συσκευασμένα σε αέρα)
Φέτες μήλου	10	2,8 log σε 10 ημέρες	0,086(0,5% O ₂ , 15% CO ₂)
Γαλακτοκομικά			
Τυρί cottage	8	0,59 log σε 18 ημέρες	0,015
Τυρί cottage	4	0,39 log σε 24 ημέρες	0,023
Τελεμές	8	2,2 log σε 36ημέρες	0,028
Τελεμές	4	0,42 log μείωση σε 36ημέρες	-0,017
Κρέμα τυριού	4	2 log μείωση σε 36ημέρες	-0,030
Φέτα	4	Επιβίωση >90 ημερών, 3,07 log μείωση σε 90ημέρες	0 -0,034
Φέτα	4	>2 log μείωση σε 8ημέρες	-0,250
Blue cheese	5	>2 log μείωση σε 36ημέρες	-0,056
Cheddar	4	1.17 log μείωση σε 34ημέρες	-0,049
Παστεριωμένο γάλα	4	2 log σε 7 ημέρες	0,407

1.4.2. Ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* σε ποικίλους φυσικούς και χημικούς παράγοντες

Η επίτευξη της διαχείρισης της μόλυνσης από τη *L. monocytogenes* στα τρόφιμα πραγματοποιείται μέσω της απαραίτητης ενημέρωσης και κατανόησης των παραγόντων που επηρεάζουν είτε θετικά, είτε αρνητικά, την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου στο περιβάλλον επεξεργασίας και στα τρόφιμα.

1.4.2.1. Επιβίωση και ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα

Τα εσωτερικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, όπως η ενεργότητα νερού και το pH, σε συνδυασμό με το εξωτερικό περιβάλλον γύρω από το τρόφιμο, παραδείγματος χάριν η θερμοκρασία αποθήκευσης και η σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας, αλλά και συνδυαστικά με τις ποικίλες μεθόδους επεξεργασίας του τροφίμου, συμπεριλαμβανομένων της θερμικής επεξεργασίας, του μαγειρέματος, κ.α, αποτελούν τους κυριότερους παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στα τρόφιμα. Τα όρια ανάπτυξης και επιβίωσης του παθογόνου βακτηρίου παρουσιάζονται στον πίνακα 1.11.

Πίνακας 1.11: Όρια ανάπτυξης και επιβίωσης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* (FSAI, 2005).

Παράγοντες	Ελάχιστο	Μέγιστο	Βέλτιστο	Ικανότητα επιβίωσης (χωρίς ανάπτυξη) ¹
Θερμοκρασία (°C)	-1.5 έως +3	45	30 - 37	-18 ²
pH	4.2 - 4.3	9.4 - 9.5	7.0	3.3 - 4.2
Ενεργότητα νερού (a _w)	0.90 - 0.93	> 0.99	0.97	< 0.90
Αλατότητα (%)	< 0.5	12 - 16	-	> 20

¹ η διάρκεια επιβίωσης του βακτηρίου ποικίλλει και εξαρτάται από την φύση των τροφίμων αλλά και από άλλους παράγοντες.

² για να μειωθούν τα κύτταρα της *L. monocytogenes*, κατά 6 δεκαδικούς λογαρίθμους, απαιτείται θερμοκρασία 70 °C για 2 λεπτά.

Τα παραπάνω όρια είναι αποτέλεσμα παλαιότερων ερευνών που διεκπεραιώθηκαν σε εργαστήρια. Οι εσωτερικές αντιδράσεις και αλληλεπιδράσεις του τροφίμου αποδεικνύουν την πολυπλοκότητα του υποστρώματος, συγκριτικά με το περιβάλλον το εργαστηριακό. Επομένως, τα ερευνητικά αποτελέσματα της ανάπτυξης και της επιβίωσης της *L. monocytogenes* στο εργαστηριακό περιβάλλον ήταν σαφώς καλύτερα από τα ερευνητικά αποτελέσματα που θα λαμβάνονταν από έρευνες που θα διενεργούνταν μέσα στο ίδιο το τρόφιμο. Επιπρόσθετα, η αναστολή της ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* επιτυγχάνεται όταν το pH κυμαίνεται από 5 έως 5.5 και η a_w είναι μικρότερη από 0.95. Επίσης, η αναστολή της ανάπτυξης επιτυγχάνεται και όταν το pH ισούται με 5 και η a_w έχει μια οποιαδήποτε τιμή και, τέλος, όταν η a_w είναι μικρότερη από 0.92 σε οποιαδήποτε τιμή pH (FSAI, 2005).

Όπως παρουσιάζεται και στον πίνακα 1.11, η *L. monocytogenes* αναπτύσσεται βέλτιστα σε θερμοκρασίες από 30 έως 37 °C σε ουδέτερο ή ελαφρώς αλκαλικό pH, αλλά έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται και σε θερμοκρασίες ψύξης, μικρότερες των 5 °C, λόγω του ότι είναι ψυχρότροφο βακτήριο. Ο ρυθμός ανάπτυξης του βακτηρίου είναι μικρότερος σε θερμοκρασίες κάτω των 5 °C και η φάση προσαρμογής του βακτηρίου στα υποστρώματα κυμαίνεται από 1 έως 33 ημέρες (Junttila et al., 1988; Adams and Moss, 2000). Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία αποθήκευσης του τροφίμου, τόσο μειώνονται η φάση προσαρμογής και ο χρόνος διπλασιασμού του παθογόνου βακτηρίου. Αυτό αποδεικνύεται και μέσω ενός πειράματος, το οποίο έγινε σε ζωμό από κοτόπουλο, και έδειξε ότι η φάση προσαρμογής του βακτηρίου διήρκησε από 1 έως 2 ημέρες και ο χρόνος διπλασιασμού ήταν 19 ώρες στους 5 °C, ενώ στους 7.5 °C η φάση προσαρμογής του βακτηρίου διήρκησε 1 ημέρα και ο χρόνος διπλασιασμού ήταν 9 ώρες αντίστοιχα (Walker et al., 1990). Το pH, η αλατότητα και η παρουσία οξυγαλακτικών βακτηρίων, κυρίως αυτών που παράγουν τις βακτηριοσίνες, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου στις χαμηλές θερμοκρασίες (Hoover, 1993).

Η ανθεκτικότητα του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* έναντι της γ-ακτινοβολίας είναι παρόμοια με αυτή των άλλων Gram θετικών βακτηρίων, ενώ η ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι σχετικά μειωμένη. Η επιβίωση του βακτηρίου, όταν αυτό βρεθεί σε αντίξοες συνθήκες, ευνοείται από την αφυδάτωση των κυττάρων, καθώς έχει αποδειχθεί ότι όταν αφυδατώνονται τα κύτταρα παρουσιάζουν αντοχή στην υπεριώδη ακτινοβολία 2,5 με 4 φορές μεγαλύτερη από αυτή που παρουσιάζουν τα κανονικά κύτταρα (ICMSF, 1980).

Ένας από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* είναι η ενεργότητα νερού. Για να επιτευχθεί η ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου πρέπει το κατώτερο όριο της ενεργότητας νερού στο τρόφιμο να είναι περίπου 0.90, σε συνδυασμό με θερμοκρασία αποθήκευσης στους 30 °C και παρουσία γλυκερόλης, η οποία είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση της a_w του τροφίμου (Farber et al., 1992). Η ικανότητα της *L. monocytogenes* να επιβιώνει και να αναπτύσσεται σε τόσο χαμηλή ενεργότητα νερού την καθιστά ένα ιδιαίτερα επικίνδυνο παθογόνο βακτήριο. Είναι γεγονός ότι ελάχιστα παθογόνα βακτήρια έχουν την δυνατότητα να μην αναστέλλονται σε τόσο δυσμενείς συνθήκες και η *L. monocytogenes* αποτελεί ένα από αυτά. Τα όρια της ενεργότητας νερού (a_w) εξαρτώνται από τις συνολικές συγκεντρώσεις ολικών στερεών του τροφίμου, όπως για παράδειγμα της συγκέντρωσης της σακχαρόζης και του αλατιού. Σε περίπτωση προσθήκης σακχαρόζης, το όριο της a_w ισούται με 0.92, ενώ όταν προστεθεί NaCl, το όριο της a_w ισούται με 0.93 (Farber et al., 1992; Miller, 1992). Σύμφωνα με τους Chen και Shelef (1992), το όριο ανάπτυξης της *L. monocytogenes* σε υπόστρωμα κρέατος ήταν για την a_w 0.93 και για την θερμοκρασία οι 20 °C. Εκτός από τη *L. monocytogenes*, παρόμοια όρια για την a_w ισχύουν και για τα άλλα Gram θετικά βακτήρια (ICMSF, 1980). Τέλος, υπήρξε και ακόμα μια πειραματική έρευνα, στην οποία η *L. monocytogenes* επιβίωσε για 40 ημέρες σε ιχθυηρά με χαμηλά ποσοστά υγρασίας, που κυμαίνονταν από 2 έως 2,35% (ICMSF, 1998).

Ένα ακόμα χαρακτηριστικό της *L. monocytogenes* είναι η ικανότητά της να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος pH. Στον πίνακα 1.11 παρουσιάζονται τα όρια ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου στα μικροβιολογικά εργαστήρια, τα οποία κυμαίνονται από 4.2 έως 9.5, με βέλτιστο pH το 7. Η *L. monocytogenes*, σύμφωνα με τους Parish και Higgins (1989), επιβίωσε για 21 ημέρες σε χυμό πορτοκαλιού, ο οποίος είχε pH 3.6, ενώ όταν το pH του χυμού ήταν 5.8, το παθογόνο βακτήριο επιβίωσε για περισσότερες από 90 ημέρες. Και στις δύο περιπτώσεις ο χυμός πορτοκαλιού ήταν αποθηκευμένος σε θερμοκρασία 4 °C. Είναι γεγονός ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία αποθήκευσης, τόσο μειώνεται η ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* στο χαμηλό pH.

Επιπροσθέτως, το επίπεδο της ανθεκτικότητας, που παρουσιάζει το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes*, διαφοροποιείται ανάλογα με τα οξέα (Ashamed and Marth, 1990; Conner et al., 1990; O' Driscoll et al., 1996; Sorrels et al., 1989). Σε ζυμούμενα τυριά και κρέατα, τα οποία αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες ψύξης, για να ελεγχθεί η ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου, είναι σχεδόν απαραίτητη η προσθήκη οξέων. Επομένως, τα οξέα επηρεάζουν την ανάπτυξη του βακτηρίου στα ζυμούμενα τρόφιμα που αποθηκεύονται υπό ψύξη, λόγω και της ψυχρότροφης φύσης της *L. monocytogenes* (Ryser and Donnelly, 2001).

Το αλάτι είναι ένας από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων. Ωστόσο, η ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* στο αλάτι είναι ιδιαίτερα υψηλή (Lou and Yousef, 1999). Στην περίπτωση που για παράδειγμα η συγκέντρωση του άλατος στο τρόφιμο φτάσει το 10% και, κατά συνέπεια, η ενεργότητα νερού είναι στο 0.90, η *L. monocytogenes* έχει την ικανότητα να επιβιώσει και να αναπτυχθεί στο τρόφιμο, ανεξάρτητα από τις δυσμενείς συνθήκες που επικρατούν (Miller, 1992). Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι η *L. monocytogenes* έχει καταφέρει να επιβιώσει για ένα χρόνο σε τρόφιμο με συγκέντρωση NaCl 16 % και με pH 6.0 (Adams and Moss, 2000).

Τα απολυμαντικά είναι απαραίτητα για τις βιομηχανίες τροφίμων, καθώς και για την οικιακή χρήση από τους καταναλωτές, ούτως ώστε να επιτυγχάνεται ο εκτεταμένος καθαρισμός των επιφανειών που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα. Μεγάλη ποικιλία απολυμαντικών αδρανοποιεί ή εξουδετερώνει αποτελεσματικά την *L. monocytogenes*. Το υποχλωριώδες νάτριο, το ιώδιο, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, αλλά και οι αμμωνιακές ενώσεις είναι ορισμένα από τα απολυμαντικά που δρουν ενάντια του παθογόνου βακτηρίου. Ωστόσο, η παρουσία οργανικής ύλης αδρανοποιεί την δράση του υποχλωριώδες νατρίου, με αποτέλεσμα η εφαρμογή του απολυμαντικού στα λαχανικά να απαιτεί ποσότητα τουλάχιστον 200 ppm χλωρίου. Συνεπώς, η ανάπτυξη του βακτηρίου στο εργαστήριο αναστέλλεται από μια ποικιλία χημικών αντιμικροβιακών, όταν οι οργανικοί διαλύτες απουσιάζουν. Τέλος, η *L. monocytogenes* παρουσιάζει μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στα απολυμαντικά, όταν οι επιφάνειες, στις οποίες βρίσκεται, είναι στεγνές (Best et al., 1990).

1.4.2.2. Επιβίωση και ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στο περιβάλλον

Στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων και ιδιαίτερα στο περιβάλλον επεξεργασίας τροφίμων έτοιμων προς κατανάλωση (RTE) υπήρχε ανέκαθεν η ανάγκη για περαιτέρω έρευνες σχετικά με την ανάπτυξη και την επιβίωση των παθογόνων μικροοργανισμών και, κυρίως, της *L. monocytogenes*. Η *L. monocytogenes* αποτελεί ένα παθογόνο βακτήριο με ικανότητα να επιβιώνει και να αναπτύσσεται σε ποικίλες θερμοκρασίες και σε μεγάλο εύρος pH (Πίνακας 1.11). Συνεπώς, η επικινδυνότητα της είναι υψηλή και στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων η παρουσία της είναι ιδιαίτερα επίφοβη. Η ικανότητα προσαρμογής του βακτηρίου όταν βρεθεί σε κατάσταση στρες (stress response), καθώς και ο σχηματισμός ενός βιοφίλμ από τη *L. monocytogenes* είναι δύο από τις κυριότερες ιδιότητες, που συμβάλλουν στην επιβίωση του παθογόνου βακτηρίου στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων.

Πιο αναλυτικά, η *L. monocytogenes* έχει την ικανότητα απόκρισης στο στρες (stress response), στην περίπτωση που εκτεθεί σε αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος, και καταφέρνει να επιβιώσει και να αναπτυχθεί ανεξαρτήτως συνθηκών. Επομένως, ακόμα και σε πολύ όξινες συνθήκες ή σε υποθανατηφόρες θερμοκρασίες, ο κίνδυνος επιμόλυνσης από το βακτήριο εξακολουθεί να υπάρχει (Lou and Yousef, 1999; Marron et al., 1997). Κατά τον έλεγχο της *L. monocytogenes* και της προσπάθειας διαχείρισής της, είναι απαραίτητο να συνυπολογίζεται η ικανότητα προσαρμογής του βακτηρίου, όταν βρεθεί σε κατάσταση στρες. Ενδεικτικά, στην περίπτωση που γίνει χρήση απολυμαντικών σε υποθανατηφόρα δόση, υπάρχει το ενδεχόμενο να αναπτυχθεί η ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes*, με αποτέλεσμα την υψηλή πιθανότητα μόλυνσης του τροφίμου από τα πιο ανθεκτικά στελέχη του βακτηρίου, που επιβίωσαν και αναπτύχθηκαν στο περιβάλλον επεξεργασίας (Arthur, 2002). Είναι γεγονός πως ο βαθμός ανθεκτικότητας της *L. monocytogenes* έναντι των οξέων, του αλατιού, της ενεργότητας νερού, της θέρμανσης και της ψύξης ποικίλει. Συνεπώς, ο έλεγχος της ικανότητας ανάκαμψης των τραυματισμένων κυττάρων της *L. monocytogenes* σε τρόφιμα, έπειτα από την εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας, είναι ιδιαίτερα σημαντικός, καθώς υπάρχουν ενδείξεις επιβίωσης του βακτηρίου ακόμα και μετά από υποθανατηφόρες βλάβες, που προκλήθηκαν από θέρμανση, κατάψυξη, αφυδάτωση, ακτινοβολήση ή έκθεση σε χημικά αντιμικροβιακά (Ryser and Donnelly, 2001).

Τέλος, η δημιουργία ενός βιοφίλμ (biofilm) αποτελεί μια ικανότητα, την οποία έχουν ορισμένα βακτηριακά κύτταρα, μεταξύ άλλων και της *L. monocytogenes*. Πιο αναλυτικά, ένας εξωκυτταρικός πολυσακχαρίτης έχει την δυνατότητα να παγιδεύσει τις αποικίες κυττάρων που είναι προσκολλημένες σε μια επιφάνεια, στις οποίες μπορεί να αναπτυχθεί η *L. monocytogenes*, σχηματίζοντας με αυτόν τον τρόπο το βιοφίλμ (Rayner et al., 2004). Όταν το παθογόνο βακτήριο σχηματίσει το βιοφίλμ, παρουσιάζει υψηλότερη ανθεκτικότητα σε παράγοντες χημικούς και φυσικούς και ταυτόχρονα επιβιώνει για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους, ανεξαρτήτως παρουσίας θρεπτικών συστατικών στο υπόστρωμα. Αιτίες μόλυνσης των τροφίμων από τη *L. monocytogenes* αποτελούν οι ενδεχομένως ακαθάριστες ή ημιτελώς καθαρισμένες επιφάνειες, στις οποίες έχουν

δημιουργηθεί τέτοια βιοφίλμ από το παθογόνο βακτήριο (Rayner et al., 2004; Gibson et al., 1999; Kumar and Anand, 1998).

1.4.3. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξή της

Η ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*, σύμφωνα με τις περισσότερες αναφορές και έρευνες, γίνεται σε θερμοκρασίες από 0 έως 45 °C. Παρόλο που σε άλλα είδη *Listeria* δεν έχει παρατηρηθεί και επιβεβαιωθεί ανάπτυξη σε θερμοκρασίες κάτω των 0 °C, η ελάχιστη θερμοκρασία που παρουσιάζει ανάπτυξη η *L. monocytogenes* είναι στους -1,5 °C. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου στα τρόφιμα, καθώς και την έκταση της ανάπτυξης, είναι η θερμοκρασία και το θρεπτικό μέσο, δηλαδή το υπόστρωμα. Είναι γεγονός πως η ανάπτυξη των μικροοργανισμών επιβραδύνεται και μειώνεται, όσο ελαττώνεται η θερμοκρασία του τροφίμου. Όταν μειώνεται η θερμοκρασία, η ανάπτυξη των μικροοργανισμών επηρεάζεται άμεσα και από τις τιμές του pH του τροφίμου. Επομένως, στις χαμηλές θερμοκρασίες το pH του τροφίμου είναι ιδιαίτερα σημαντικό.

Επιπροσθέτως, ένα χαρακτηριστικό που εμφανίζουν τα ποικίλα στελέχη του βακτηρίου είναι η μεταβλητότητα, η οποία είναι περισσότερο εμφανής, όταν τα βακτήρια βρεθούν σε θερμοκρασίες περιοριστικές. Ενδεικτικά, το βακτήριο έχει την ικανότητα να επιβιώνει σε θερμοκρασία κάτω των 0 °C, ωστόσο ένα ποσοστό του αρχικού του πληθυσμού θανατώνεται, λόγω της υποτίμησης της τιμής της θερμοκρασίας. Η σύσταση του τροφίμου, δηλαδή του υποστρώματος, καθώς και η ταχύτητα ελάττωσης της θερμοκρασίας κατάψυξης αποτελούν τους κυριότερους παράγοντες που ευθύνονται για τον τραυματισμό και την επιβίωση των κυττάρων του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes*, κατά την αποθήκευση των τροφίμων σε θερμοκρασίες κατάψυξης (Swaminathan et al., 2007).

Η βέλτιστη θερμοκρασία, στην οποία αναπτύσσεται η *L. monocytogenes*, κυμαίνεται από τους 30 έως τους 37 °C. Η αδρανοποίηση και η πιθανή θανάτωση του παθογόνου βακτηρίου συμβαίνει, όταν η θερμοκρασία ξεπερνά τους 50 °C (Lado and Yousef, 2007). Παρόλα αυτά, υπάρχουν ενδείξεις ότι το βακτήριο μπορεί να προσαρμοστεί, στην περίπτωση που η θερμοκρασία είναι υψηλότερη των 43 °C. Η προσαρμογή αυτή επιτυγχάνεται μέσω της κινητοποίησης των αρμόδιων φυσιολογικών μηχανισμών του βακτηρίου, που καθιστούν τα βακτηριακά κύτταρα ανθεκτικότερα στις υψηλές θερμοκρασίες, σε σύγκριση με τα κύτταρα που αναπτύσσονται στην βέλτιστη θερμοκρασία (Lado and Yousef, 2007).

1.4.4. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση του ψύχους στην ανάπτυξή της

Μία από τις πιο κυριότερες παραμέτρους για την επιβίωση και την ανάπτυξη του μικροοργανισμού στο τρόφιμο αποτελεί το ιστορικό των συνθηκών θερμοκρασίας, που αναπτύχθηκε ο μικροοργανισμός. Πιο αναλυτικά, οι επιπτώσεις που μπορούν να υπάρξουν στον χρόνο προσαρμογής του βακτηρίου (lag phase) προέρχονται ενδεχομένως από τις ποικίλες θερμοκρασίες,

που αντιμετωπίζουν οι μικροοργανισμοί στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων. Φυσιολογικές και μορφολογικές αλλαγές, μεταβολική ανισορροπία, καθώς και διακοπή της ανάπτυξης των βακτηρίων, εξαιτίας της ευπάθειας ορισμένων ρυθμιστικών μεταβολικών διεργασιών, μπορούν να προκληθούν όταν οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε κατώτερες θερμοκρασίες από την βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης. Επιπροσθέτως, ορισμένα συστατικά που υπό φυσιολογικές συνθήκες ήταν ρευστά, λόγω πτώσης της θερμοκρασίας, σχηματίζουν πηκτή, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζουν τις λειτουργίες των πρωτεϊνών. Συνεπώς, η διάρρηξη της μεμβράνης των μικροοργανισμών και, κατά συνέπεια, η καταστολή της είναι αποτέλεσμα της λανθασμένης λειτουργίας των πρωτεϊνών. Στην περίπτωση της *Listeria monocytogenes*, η επιβίωση της προέρχεται από την ικανότητά της να προσαρμόζει την μεμβράνη της, όταν βρεθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες. Η αλλαγή της μεμβράνης επιτυγχάνεται με την μεταβολή στη σύσταση των λιπαρών οξέων, κατά τέτοιο τρόπο που να μην επηρεάζονται οι λειτουργικές ιδιότητες της (Mastronicolis et al., 2006; Russell, 2002; Mastronicolis et al., 1998).

Ο μικροβιολογικός έλεγχος στους χώρους παραγωγής τροφίμων, αλλά και στα ίδια τα τρόφιμα, βελτιώνεται, όταν το εμπλεκόμενο προσωπικό έχει κατανοήσει εις βάθος τον μηχανισμό προσαρμογής του εκάστοτε μικροοργανισμού (Beals, 2004). Επιπροσθέτως, η υψηλή απαίτηση σε μεγάλα ποσά ενέργειας, ούτως ώστε να προσαρμοστούν τα βακτηριακά κύτταρα στη χαμηλή θερμοκρασία, προκαλεί την αναστολή της κυτταρικής διαίρεσης, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης των βακτηρίων (Beals, 2004; Gandhi and Chikindas, 2007).

Η προσαρμογή των μικροοργανισμών σε χαμηλή θερμοκρασία σημαίνει ότι η ανάπτυξη του μηχανισμού αντίστασης των μικροοργανισμών έχει επιτευχθεί, με αποτέλεσμα να είναι ικανά να επιμολύνουν ένα τρόφιμο, το οποίο συντηρείται σε τέτοιες θερμοκρασίες. Από τη στιγμή που το βακτήριο έχει προσαρμοστεί στη θερμοκρασία, ευνοείται η ανάπτυξη του στο επιμολυσμένο τρόφιμο, με αποτέλεσμα η διάρκεια της φάσης προσαρμογής του βακτηρίου μέσα στο υπόστρωμα να έχει μειωθεί. Επομένως, όταν ο μικροοργανισμός έχει προσαρμοστεί σε χαμηλές θερμοκρασίες, η ανάπτυξή του στα ψυχρά τρόφιμα είναι ταχύτερη, ελαττώνοντας έτσι τη χρονική διάρκεια της ασφάλειας του τροφίμου. Αντίθετα, όταν ο μικροοργανισμός έχει αναπτυχθεί υπό κανονικές συνθήκες και επιμολύνει το ίδιο ψυχρό τρόφιμο, έχει ως αποτέλεσμα η ανάπτυξή του εντός του τροφίμου να είναι επιβραδυνόμενη συγκριτικά με τον μικροοργανισμό που έχει αναπτυχθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες (Mastronicolis et al., 2011).

1.4.5. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση της ενεργότητας νερού στην ανάπτυξή της

Όσον αφορά τις τιμές της ενεργότητας νερού ενός τροφίμου έχει παρατηρηθεί ότι πρέπει να είναι υψηλότερες από 0.97, ούτως ώστε το υπόστρωμα να θεωρηθεί ικανό για να αναπτυχθούν οι μικροοργανισμοί. Ωστόσο, αυτό δεν ισχύει για τα περισσότερα στελέχη *L. monocytogenes*, όπου η ελάχιστη τιμή της ενεργότητας νερού, στην οποία παρατηρείται ανάπτυξη του βακτηρίου, είναι 0.93.

Τέλος, υπάρχουν και ελάχιστα βακτήρια, τα οποία είναι ικανά να αναπτυχθούν και σε τιμές ενεργότητας 0.90.

Επιπρόσθετα, η *L. monocytogenes* έχει αποδειχθεί ότι έχει την δυνατότητα να επιβιώνει για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα ακόμα και σε τιμές που είναι κατώτερες του 0.83 (Swaminathan et al., 2007). Είναι δεδομένο πως ορισμένοι από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ενεργότητα του νερού είναι η σύσταση του υποστρώματος, οι φυσικές του ιδιότητες, καθώς και η ουσία που προστίθεται για να τη ρυθμίσει (Jay et al., 2005; Swaminathan et al., 2007; Stecchini et al., 2004). Τέλος, η ωσμωπροστατευτική δράση είναι αποτέλεσμα των συμβατών διαλυτών ουσιών, οι οποίες προσλαμβάνονται και συσσωρεύονται από τον μικροοργανισμό. Ο μικροοργανισμός για να προσαρμοστεί στις συνθήκες υπερωσμωτικού στρες δεν βιοσυνθέτει, αλλά χρησιμοποιεί αυτές τις συμβατές διαλυτές ουσίες (Ko et al., 1994).

1.4.6. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση της ωσμωτικής πίεσης στην ανάπτυξή της

Μία από τις σημαντικότερες μεθόδους για τη συντήρηση των τροφίμων αποτελεί η αύξηση της ωσμωτικής πίεσης, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης της ενεργότητας νερού του τροφίμου. Η χρήση της ωσμωτικής πίεσης έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση του διαθέσιμου νερού του εκάστοτε μικροοργανισμού. Όπως προαναφέρθηκε, όλοι οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ένα ελάχιστο όριο a_w , το οποίο αν ξεπεραστεί αναστέλλει την ανάπτυξη των βακτηρίων. Επομένως, η ενεργότητα νερού ενός τροφίμου επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την ανάπτυξη ή την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών. Τα άλατα, όπως NaCl και KCl, τα σάκχαρα, όπως γλυκόζη και σακχαρόζη, και η γλυκερόλη αποτελούν είδη διαλυμένης ουσίας που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, ούτως ώστε να ελαττωθεί η τιμή της a_w (Beals, 2004).

Οι πολικές κεφαλές των μεμβρανικών λιποειδών είναι αυτές που επηρεάζονται, κυρίως, από την απόκριση της αλατότητας. Όταν προστεθεί διάλυμα 2% NaCl (w/v) στο θρεπτικό υλικό, ο λόγος διφωσφατιδυλογλυκερόλης προς φωσφατιδυλογλυκερόλη αυξάνεται συγκριτικά με τις καλλιέργειες ελέγχου. Αυτή η αύξηση είναι αποτέλεσμα της αντίδρασης της *Listeria monocytogenes* στην προσθήκη διαλύματος αλατιού. Επιπροσθέτως, οι ωσμωλύτες είναι ορισμένα μόρια προστάτες, τα οποία όταν συσσωρευτούν, αποτελούν μια από τις κυριότερες ωσμωρυθμιστικές μεταβολές. Η γλυκίνη βεταΐνη αποτελεί ένα εκ των σημαντικότερων μορίων προστάτων. Τέλος, ακόμα και αν ελαττωθεί η ενεργότητα ύδατος, η σταθεροποίηση ορισμένων πρωτεϊνών και ενδοκυτταρικών ενζύμων επιτυγχάνεται από την παρουσία των ωσμωλυτών, οι οποίοι επιτρέπουν στις πρωτεΐνες και στα ένζυμα να συνεχίσουν κανονικά τις λειτουργίες τους (Ζερφυρίδης, 1989; Parker and Hutkins, 1997).

1.4.7. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση της θερμικής επεξεργασίας στην ανάπτυξή της

Αφορμή για περαιτέρω έρευνα, η οποία αφορούσε την ανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* στις θερμικές επεξεργασίες, αποτέλεσε η λιστερίωση που προκλήθηκε στη Μασαχουσέτη το 1983 και

συνδέθηκε με την κατανάλωση παστεριωμένου γάλακτος. Οι έρευνες, που ακολούθησαν, επικεντρώθηκαν στην αδρανοποίηση ή στην καταστροφή της *L. monocytogenes* από την θερμική επεξεργασία της παστερίωσης (high temperature, short time, HTST, 71.7 °C για 15 sec). Τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών υποστηρίζουν ότι η διαδικασία της παστερίωσης δεν είναι πολλές φορές ικανή να καταστρέψει το παθογόνο βακτήριο. Ενδεικτικά, υπήρξε περιστατικό όπου η *L. monocytogenes* απομονώθηκε από επιμολυσμένο γάλα, το οποίο είχε υποβληθεί σε παστερίωση δύο ημέρες μετά την επιμόλυνσή του από το παθογόνο βακτήριο. Αρχικά, αμέσως μετά την παστερίωση του γάλακτος, δεν υπήρξε η δυνατότητα απομόνωσης του βακτηρίου, ωστόσο αργότερα και για ένα χρονικό διάστημα περίπου τριών εβδομάδων, η απομόνωση του βακτηρίου ήταν ξανά εφικτή. Συνεπώς, πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή στις τεχνικές ανάκτησης, οι οποίες χρησιμοποιούνται σε καταπονημένους οργανισμούς από θερμικές επεξεργασίες. Υπάρχουν ισχυρισμοί από τους μικροβιολόγους του Center for Disease Control and Prevention (CDC) ότι η *Listeria* βρίσκεται μέσα στα μακροφάγα κύτταρα του μαστού του ζώου, γεγονός που της επιτρέπει να επιβιώσει μέσα στο παστεριωμένο γάλα. Τα κύτταρα του αίματος δεν καταστρέφονται στη θερμοκρασία της παστερίωσης του γάλακτος. Επιπλέον, σε παγωτά από παστεριωμένο γάλα, καθώς και σε σκόνη γάλα κατάφεραν να απομονώσουν το παθογόνο βακτήριο *L. monocytogenes* (Farber and Peterkin, 1991).

Τέλος, τα βακτηριακά κύτταρα της *L. monocytogenes* αποκτούν υψηλή θερμοανθεκτικότητα, στην περίπτωση που εκτεθούν σε μη θανατηφόρες θερμοκρασίες για το βακτήριο, όπως για παράδειγμα σε θερμοκρασίες 44 έως 48 °C για 20 με 60 min, προτού υποβληθούν στην τελική θερμοκρασία και στον τελικό χρόνο της παστερίωσης. Οι πρωτεΐνες που χαρακτηρίζονται ως ‘‘heat-shock’’, καθώς και η ημίρρευστη μεμβράνη του βακτηρίου είναι δύο από τους παράγοντες που συμβάλλουν στη θερμοανθεκτικότητα της *L. monocytogenes* (Farber and Peterkin, 1991).

1.4.8. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση του pH στην ανάπτυξή της

Ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την μικροβιακή ανάπτυξη και επιβίωση των βακτηρίων του γένους *Listeria* είναι το pH. Το βέλτιστο pH για την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* κυμαίνεται από 6 έως 8, ενώ η ελάχιστη τιμή του pH, στην οποία αναπτύσσεται και επιβιώνει το παθογόνο βακτήριο, αποτέλεσε αντικείμενο για περαιτέρω έρευνα (Jay et al., 2005). Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ανάπτυξη του βακτηρίου *L. monocytogenes* έχει ένα μεγάλο εύρος pH και οι τιμές του είναι από 4.4 έως και 9.6, ωστόσο κάποιοι υποστηρίζουν πως η ελάχιστη τιμή του pH είναι στο 4.0 (Swaminathan et al., 2007; Lado and Yousef, 2007). Η θερμοκρασία επώασης του μικροοργανισμού, η ενεργότητα ύδατος, η συγκέντρωση χλωριούχου νατρίου (NaCl) και άλλων αλάτων ή ανασταλτικών ουσιών, η σύνθεση του υποστρώματος, καθώς και το είδος του οξέος, που είναι υπεύθυνο για την ρύθμιση του pH, είναι οι κυριότεροι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η τελική τιμή του ελάχιστου pH που αναπτύσσεται το παθογόνο βακτήριο (Jay et al., 2005). Το στέλεχος που εξετάζεται και το μέγεθος

του αρχικού ενοφθαλμίσματος αποτελούν επιπροσθέτους παράγοντες που επηρεάζουν την τιμή του ελάχιστου pH (Boziaris and Nychas, 2006). Υπάρχει ένα κατώτατο όριο pH που αν ξεπεραστεί τα βακτηριακά κύτταρα ορισμένων οργανισμών είναι ικανά να επιβιώσουν, αλλά όχι και να αναπτυχθούν (Swaminathan et al., 2007). Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν πως η ανασταλτική αλληλεπίδραση του pH σε συνδυασμό με το αλάτι χαρακτηρίζεται ως προσθετική και όχι ως συνεργιστική, ενώ ορισμένοι άλλοι υποστηρίζουν πως είναι ξεκάθαρα συνεργιστική (Jay et al., 2005; Bereksi et al., 2002).

Η επίδραση των όξινων συνθηκών (acid tolerance response - ATR) στην ανάπτυξη της *L. monocytogenes* έχει μελετηθεί εκτενώς (Conte et al., 2000; Cotter et al., 2000). Η συμπεριφορά των προσαρμοσμένων κυττάρων του βακτηρίου συχνά μελετάται πρώτα σε ήπιο όξινο περιβάλλον (stress adaptive response), στο οποίο εκτίθεται το βακτήριο, και έπειτα εξετάζεται η απόκριση του μικροοργανισμού στις όξινες συνθήκες (Eom et al., 2009). Όταν τα βακτηριακά κύτταρα έχουν καλλιεργηθεί πρώτα σε μετρίως χαμηλό pH ή όταν έχουν εκτεθεί πρώτα σε χαμηλό pH για ορισμένο χρονικό διάστημα, τότε τα βακτήρια έχουν καταφέρει να αποκτήσουν ανθεκτικότητα στο χαμηλό pH, δηλαδή επιδεικνύουν αντοχή σε όξινες συνθήκες. Τα βακτήρια που δεν έχουν καταφέρει να προσαρμοστούν στις όξινες συνθήκες, θανατώνονται στις οριακές τιμές του pH, ενώ τα προσαρμοσμένα βακτηριακά κύτταρα παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε αυτές τις τιμές. Ταυτόχρονα, αυξημένη αντοχή παρουσιάζουν τα προσαρμοσμένα βακτήρια και σε άλλους περιοριστικούς παράγοντες (Hill et al., 2002). Η φυσιολογική κατάσταση των κυττάρων, καθώς και η θερμοκρασία ανάπτυξης των μικροοργανισμών επηρεάζουν το φαινόμενο της προσαρμογής των κυττάρων (Lado and Yousef, 2007). Τέλος, μελέτες που διεξήχθησαν για την επίδραση της προσαρμογής κυττάρων της *L. monocytogenes* σε όξινες συνθήκες, σε σύγκριση με κύτταρα του παθογόνου βακτηρίου που δεν κατάφεραν να προσαρμοστούν έδωσαν διφορούμενα αποτελέσματα, ως προς την ανάπτυξη και την επιβίωση του μικροοργανισμού (Calicioglu et al., 2003).

1.4.9. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση του χαμηλού pH στην ανάπτυξή της

Είναι γεγονός ότι οι ζύμες και οι μύκητες έχουν την ικανότητα να αναπτυχθούν και να επιβιώσουν σε μεγαλύτερο εύρος pH από ότι τα βακτήρια, τα οποία αναπτύσσονται και επιβιώνουν σε τιμές pH που κυμαίνονται από 4 έως 8. Η πτώση του pH αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα ελέγχου της μικροβιακής ανάπτυξης, διότι ο εκάστοτε μικροοργανισμός αναπτύσσεται και επιβιώνει σε συγκεκριμένα όρια εξωτερικού pH. Στις αλλαγές του εσωτερικού pH (pHi) παρουσιάζουν οι μικροοργανισμοί μεγαλύτερη ευαισθησία από ότι στις αλλαγές του εξωτερικού pH (pHo). Ωστόσο, η απώλεια της βιωσιμότητας μπορεί να προέλθει και από εσωτερικό και από το εξωτερικό pH, στην περίπτωση που οι αλλαγές είναι αυξημένης σημασίας. Για την αποτελεσματική συντήρηση των τροφίμων απαιτούνται αρκετά μεγάλες αλλαγές στο εξωτερικό pH (pHo), διότι τα ισχυρά οξέα δεν επηρεάζουν το pH του κυτοπλάσματος στον ίδιο βαθμό με τα ασθενή οξέα. Όμως, οι μεγάλες αλλαγές στο εξωτερικό pH μπορούν να επιφέρουν στο τρόφιμο ανεπιθύμητα οργανοληπτικά

χαρακτηριστικά. Τέλος, τα βακτηριακά κύτταρα έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν σε συνθήκες χαμηλού pH και να είναι μεταβολικά ενεργά, παρόλο που μπορεί η ανάπτυξη του βακτηρίου να έχει ανασταλεί, λόγω των όξινων συνθηκών (Beals, 2004).

Η δράση των ισχυρών οξέων επικεντρώνεται κυρίως στο εξωτερικό pH (pH_o) και στην ελάττωσή του. Τα ισχυρά οξέα δεν έχουν την δυνατότητα να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη, με αποτέλεσμα να μην είναι ικανά να ιονίζονται στο κύτταρο, παρέχοντας πρωτόνια που οξινίζουν το εσωτερικό του κυττάρου. Αντιθέτως, τα αδίαστατα ασθενή οξέα διαχέονται ελεύθερα, αφού πρώτα διαπεράσουν την μεμβράνη, και ιονίζονται στο εσωτερικό του κυττάρου, παρέχοντας πρωτόνια που οξινίζουν το εσωτερικό του. Επιπροσθέτως, τα ασθενή οξέα μετουσιώνουν τα ένζυμα της κυτταρικής επιφάνειας και ελαττώνουν το εσωτερικό pH (pH_i), λόγω της αυξημένης διαπερατότητας πρωτονίων, που συμβαίνει όταν η διαφορά pH_o – pH_i εντός και εκτός της κυτταρικής μεμβράνης είναι υψηλή. Με αυτόν τον τρόπο καταφέρνουν τα ασθενή οξέα να αποκτήσουν την αντιμικροβιακή τους δράση. Συνεπώς, η παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών επιτυγχάνεται με την πτώση του εσωτερικού pH (pH_i) και, κατά συνέπεια, ελαττώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροοργανισμών και επιμηκύνεται η λανθάνουσα φάση ή αλλιώς η φάση προσαρμογής του βακτηρίου (lag phase). Στη διατήρηση της ομοιόστασης του pH βασίζονται οι ποικίλοι μηχανισμοί προσαρμογής των μικροοργανισμών σε χαμηλό pH. Η προσαρμογή των βακτηρίων σε όξινο περιβάλλον επιφέρει την επιβίωσή τους, ρυθμίζοντας το pH_i των κυττάρων. Η ρύθμιση του εσωτερικού pH (pH_i) από τα βακτήρια επιτυγχάνεται με την ελεγχόμενη κίνηση των κατιόντων διαμέσου της μεμβράνης. Ο συνδυασμός ενεργητικών και παθητικών μηχανισμών μεταφοράς είναι η κυριότερη αιτία διατήρησης της ομοιόστασης του pH, δηλαδή τα βακτήρια καταφέρνουν να φτάσουν το ουδέτερο για αυτά pH, με αποτέλεσμα να επιβιώνουν (Beals, 2004).

Μια ακόμα διαδικασία προσαρμογής του βακτηρίου σε χαμηλό pH είναι η πιθανή αλλαγή της μεμβρανικής λιποειδικής σύστασης, η οποία μπορεί να επηρεαστεί από το pH του μέσου ανάπτυξης, όπως συνέβη και στην περίπτωση προσαρμογής του βακτηρίου με τη χαμηλή ή την υψηλή θερμοκρασία. Έχει παρατηρηθεί ότι ο λόγος των ακόρεστων προς τα κορεσμένα λιπαρά οξέα μειώνεται, όταν είναι παρόντες μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε χαμηλό pH. Επιπλέον, παρουσιάζεται αύξηση του ποσού των κυκλοπροπανικών λιπαρών οξέων στην κυτταρική μεμβράνη. Η μεταβολή αυτή στην κυτταρική μεμβράνη έχει ως αποτέλεσμα να ελαττωθεί η ρευστότητά της, προστατεύοντας με αυτόν τον τρόπο το κύτταρο από το χαμηλό pH (Beals, 2004).

Σύμφωνα με έρευνα που διεξήχθη, έδειξε ότι η σύσταση των λιπιδίων της μεμβράνης είναι εφικτό να αλλάξει από το βακτήριο, στην περίπτωση που αυτό βρεθεί σε κατάσταση μετά από όξινο στρες (Mastronicolis et al., 2010). Κατά την προσαρμογή της *Listeria monocytogenes* σε χαμηλό pH (5.5), το οποίο προερχόταν από διάφορα οξέα, όπως για παράδειγμα το οξικό ή το γαλακτικό οξύ, παρατηρήθηκαν και μελετήθηκαν οι μεταβολές των φωσφολιπιδίων και των ουδέτερων λιπιδίων, καθώς και των λιπαρών οξέων τους, που προκλήθηκαν από το βακτήριο. Σύμφωνα με τα

αποτελέσματα, η μεταβολή της σύστασης των λιπαρών οξέων είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των λιπαρών οξέων σε ευθεία αλυσίδα ατόμων C₁₆ ή C₁₈ (κορεσμένων λιπαρών οξέων) και την ελάττωση των διακλαδισμένων (ακόρεστων λιπαρών οξέων). Συνεπώς, αποδείχθηκε ότι το χαμηλό pH ενίσχυσε την αντιμικροβιακή δράση ενός οξέος και ότι η επεξεργασία με οποιοδήποτε από τα χρησιμοποιούμενα οξέα είναι υπεύθυνη για την μεταβολή της σύστασης της μεμβράνης.

1.4.9.1. Η χρήση ασθενών οξέων ως συντηρητικά και η επίδρασή τους στη *L. monocytogenes*

Η διατήρηση της μικροβιακής σταθερότητας των όξινων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των χυμών, των κρασιών, των λαχανικών (τουρσί) και της μαγιονέζας, καθώς και η βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων είναι αποτελέσματα της χρήσης των ασθενών λιπόφιλων οξέων, τα οποία εμπεριέχονται με τη φυσική τους μορφή σε ποικίλα λαχανικά και φρούτα. Η μεταφορά των υποστρωμάτων αποτρέπεται από τα ασθενή οξέα, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζονται οι μεταβολικές διεργασίες. Ορισμένα ασθενή οξέα συμβάλλουν πιο αποτελεσματικά στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης των βακτηρίων, ωστόσο η πλειοψηφία των ασθενών οξέων αποτελούν κυρίως παράγοντες μνητοστατικούς.

Διάφοροι τύποι ασθενών οξέων, όπως είναι το οξικό και το γαλακτικό οξύ, έχουν υψηλή αντιμικροβιακή δράση συγκριτικά με άλλα οξέα και είναι υπεύθυνα για την αναστολή της προσαρμογής των βακτηριακών κυττάρων στις όξινες συνθήκες. Η προσαρμογή των βακτηριακών κυττάρων σε συγκεντρώσεις ασθενών οξέων επιτυγχάνεται με την σταδιακή έκθεση των μικροοργανισμών αρχικά σε μικρές συγκεντρώσεις οξέος, ούτως ώστε να προσαρμοστούν στο στρες, και εν συνεχεία σε ισχυρότερες δόσεις του ασθενούς οξέος, ούτως ώστε να επέλθει η αντοχή του βακτηρίου στις όξινες αυτές συνθήκες (Beals, 2004).

Είναι αποδεδειγμένο ότι τα Gram θετικά βακτήρια παρουσιάζουν μικρότερη ανθεκτικότητα στα ασθενή οξέα, σε σύγκριση με τα Gram αρνητικά βακτήρια που εμφανίζουν μεγαλύτερη αντοχή. Η κυριότερη αιτία που συμβαίνει αυτό είναι επειδή τα εξωτερικά στρώματα των κυττάρων παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις στη χημική και στη δομική τους σύσταση. Επομένως, αυτές οι μεμβράνες είναι ικανές να προστατέψουν το Gram αρνητικό βακτήριο, περιορίζοντας την είσοδο του συντηρητικού σε αυτό. Η αντιμικροβιακή δράση των ασθενών οξέων είναι τόσο pH-εξαρτώμενη, όσο και μη pH-εξαρτώμενη. Επιπροσθέτως, τα οξέα συμβάλλουν στην αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτονίων (H⁺), τα οποία ευθύνονται για την ελάττωση του εσωτερικού pH (pHi). Επιπλέον, είναι αποδεδειγμένο πως η χρήση των οξέων παρεμποδίζει όλες τις βασικές μοριακές αντιδράσεις στους μικροοργανισμούς. Η τελική ελάττωση του εσωτερικού pH (pHi) είναι ουσιαστικά ο λόγος που τα ασθενή οξέα αναστέλλουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Το ποσοστό της υδρόφοβης (αδιάσπαστης) μορφής στο μέσο καθορίζεται από την σταθερά διάστασης pK_a του ασθενούς οξέος και από το pH του περιβάλλοντος (εξωτερικό pH_o). Τέλος, η αποτελεσματικότητα του οξέος αποδεικνύεται μέσω του ποσοστού της υδρόφοβης μορφής στο μέσο.

Η pKa των ασθενών οξέων είναι πολύ υψηλότερη σε σύγκριση με την pKa των ισχυρών οξέων. Παραδείγματος χάριν, η pKa του HCl είναι πολύ μικρότερη συγκριτικά με του γαλακτικού οξέος. Τα ασθενή οξέα έχουν αδιάστατη μορφή, όταν βρίσκονται στο φυσιολογικό εύρος του pH, το οποίο κυμαίνεται από 3 έως 6 στα τρόφιμα, ενώ σε αντίθεση τα ισχυρά οξέα διίστανται. Τα ασθενή οξέα καταφέρνουν να εισέλθουν στο κύτταρο του μικροοργανισμού, λόγω της ικανότητας που έχει η αδιάστατη μορφή, στην οποία βρίσκονται, να διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη. Αρχικά, στο εσωτερικό του κυττάρου το pH είναι ελεγχόμενο, λόγω της παρουσίας των κυτταρικών ρυθμιστικών διαλυμάτων. Ωστόσο, στη συνέχεια ελαττώνεται το pH από τα ασθενή οξέα, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών από την οξίνιση στο εσωτερικό του κυττάρου. Επομένως, η αντιμικροβιακή δράση των ασθενών οξέων είναι ανάλογη με το ποσοστό του οξέος που βρίσκεται σε αδιάστατη μορφή και η αδιάστατη μορφή των ασθενών οξέων είναι υπεύθυνη για την ελάττωση του pH στο εσωτερικό του κυττάρου. Άρα, όσο αυξάνεται το ποσοστό που βρίσκεται σε αδιάστατη μορφή, τόσο μειώνεται το pH και, κατά συνέπεια, τόσο αυξάνεται η αντιμικροβιακή δράση. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η ελάττωση του εσωτερικού pH (pHi) είναι αποτέλεσμα τόσο της δισταμένης, όσο και της αδιάστατης μορφής των οξέων.

Είναι δεδομένο πως όταν το εσωτερικό pH (pHi) ελαττώνεται αισθητά, εξαιτίας της παρουσίας των ασθενών οξέων, παρεμποδίζεται η ανάπτυξη του εκάστοτε μικροοργανισμού, με αποτέλεσμα να αυξάνεται και ο χρόνος που διαρκεί η λανθάνουσα φάση (Beals, 2004). Τέλος, η βέλτιστη λειτουργία ποικίλων σημαντικών κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης και της δράσης των ενζύμων, επιτυγχάνεται όταν οι ζύμες και τα βακτήρια διατηρούν το ουδέτερο pH τους.

1.4.10. Η ικανότητα προσκόλλησης σε αδρανείς επιφάνειες - biofilms από τη *L. monocytogenes* και άλλα βακτήρια

Ο σχηματισμός biofilms αποτελεί μια από τις βασικότερες αιτίες που αναπτύσσονται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί στα τρόφιμα. Στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στις επιφάνειες ως κυτταρικές μονάδες ή σχηματίζουν biofilms. Οι μικροοργανισμοί που σχηματίζουν biofilms εμφανίζουν μια υψηλή αντοχή στα απολυμαντικά, αντιβιοτικά και αντιμικροβιακά παρασκευάσματα, καθιστώντας ιδιαίτερα περίπλοκη την αδρανοποίησή τους. Επιπλέον, ο ρυθμός ανάπτυξης αυτών των μικροοργανισμών είναι ιδιαίτερα υψηλός, με αποτέλεσμα να απειλεί την ασφάλεια των τροφίμων (Gandhi and Chikindas, 2007; Gianotti et al., 2008).

Είναι γεγονός πως οι πρώτες ύλες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την παρασκευή των τροφίμων, δεν αποτελούν αυξημένο κίνδυνο για την επιμόλυνση τους, σε αντίθεση με το περιβάλλον επεξεργασίας τους, που στην πραγματικότητα είναι η κυριότερη πηγή επιμολύνσεων. Επιπροσθέτως, η μόλυνση των επεξεργασμένων τροφίμων, καθώς και η πιθανή διάβρωση των μεταλλικών επιφανειών επεξεργασίας τροφίμων είναι αποτέλεσμα της δημιουργίας των biofilms στον εξοπλισμό κατεργασίας τροφίμων από τους παθογόνους μικροοργανισμούς (Beech and Gaylarde, 1989).

Η παραγωγή εξωκυτταρικών υλικών, τα οποία είναι μακρομοριακά πολυμερή και συγκεκριμένα εξωκυτταρικές πολυμερείς ενώσεις (EPS) πολυσακχαρικής φύσεως, το φορτίο του βακτηρίου, καθώς και η κίνηση των βακτηρίων, μέσω των βλεφαρίδων που διαθέτουν, είναι άμεσα συνδεδεμένα με την προσκόλληση και τον σχηματισμό biofilms από τα παθογόνα βακτήρια (Czechowski, 1990). Η προσαρμογή των βακτηρίων σε αντίξοες συνθήκες επιτυγχάνεται με την τροποποίηση της σύστασης των λιπαρών οξέων της κυτταρικής μεμβράνης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την μεταβολή του φορτίου του μικροοργανισμού. Επομένως, η προσκόλληση των βακτηριακών κυττάρων στις επιφάνειες επεξεργασίας τροφίμων ευνοείται από αυτή την μεταβολή του βακτηριακού φορτίου (Meelheuc et al., 2006).

Η σύσταση των λιπαρών οξέων των ολικών λιπιδίων, σύμφωνα με έρευνα που διεξήχθη, μεταβάλλεται όταν χρησιμοποιούνται απολυμαντικά τύπου Benzalkonium chloride. Η μεταβολή που πραγματοποιήθηκε στη σύσταση, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των κορεσμένων λιπαρών οξέων με 16 και 18 άτομα άνθρακα και την διαφοροποίηση των φωσφολιπιδίων (Bisbiroulas et al., 2011). Ωστόσο, οι φυσικοχημικές ιδιότητες του βακτηρίου, όπως για παράδειγμα η υδροφοβικότητα και η προσφορά ή η αποδοχή ηλεκτρονίων, καθώς και το ηλεκτρικό φορτίο του βακτηρίου επηρεάστηκαν από τη μεταβολή στη σύσταση των λιπιδίων και των πολυσακχαριτών της βακτηριακής μεμβράνης. Συνεπώς, η αλληλεπίδραση των βακτηριακών κυττάρων με τις αδρανείς επιφάνειες των εξοπλισμών και τις επιφάνειες επεξεργασίας των τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των τοίχων και των δαπέδων, εξαρτάται από τις προαναφερθείσες μεταβολές στις συστάσεις των μεμβρανών.

Ο σχηματισμός biofilms σε επιφάνειες επεξεργασίας τροφίμων είναι ιδιαίτερα σημαντικός και με υψηλή επικινδυνότητα για τη δημόσια υγεία, καθώς είναι υπεύθυνος για την επιμόλυνση των τροφίμων, όταν τα τρόφιμα έρθουν σε επαφή με εκείνες τις μολυσμένες επιφάνειες. Ακόμα και αν οι συνθήκες ανάπτυξης των βακτηρίων δεν είναι οι ιδανικές ή ακόμα και αν οι συνθήκες είναι αντίξοες, οι προσκολλημένοι μικροοργανισμοί στους οργανικούς ιστούς, ενδεικτικά στο κρέας και το ψάρι, έχουν την δυνατότητα να μεταφέρονται σε αδρανείς επιφάνειες (Beech and Gaylarde, 1989).

Όπως έχει ειπωθεί προηγουμένως, η απομόνωση του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* έχει πραγματοποιηθεί σε ποικίλα προϊόντα, όπως είναι το τυρί, το παγωτό, το γάλα και άλλα τρόφιμα ψυγείου. Επομένως, λόγω της συχνής παρουσίας του μικροοργανισμού σε βιομηχανίες τροφίμων και μονάδες παραγωγής, είναι απαραίτητο να ακολουθούνται τα πρωτόκολλα υγιεινής και ο καθαρισμός της μονάδας και του εξοπλισμού να είναι επαρκής και σε τακτά χρονικά διαστήματα (Campbell et al., 2001).

Όσον αφορά το σχηματισμό biofilms από την *L. monocytogenes*, έχει αποδειχθεί ότι είναι ικανή να σχηματίσει μονοκαλλιέργεια biofilms, διαφορετικά μπορεί να αποτελεί τμήμα ενός μικτού πληθυσμού με βακτήρια, όπως συμβαίνει και με το βακτήριο *Flavobacterium*. Σύμφωνα με μελέτες, υπήρξε ο σχηματισμός δύο διαφορετικών biofilms, στα οποία εμπεριέχονταν οι πληθυσμοί της *L. monocytogenes*, ούτως ώστε να επιτευχθεί ο καθορισμός του επιπέδου επικόλλησης του παθογόνου βακτηρίου στις επιφάνειες ανοξείδωτου χάλυβα. Στην πρώτη περίπτωση, ο σχηματισμός biofilms

προερχόταν αποκλειστικά από καθαρό πληθυσμό της *L. monocytogenes*, ενώ στην δεύτερη περίπτωση προερχόταν από μικτό πληθυσμό, που εμπεριείχε το *Flavobacterium* σε συνδυασμό με τη *L. monocytogenes*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι επικολλήθηκε στις επιφάνειες ανοξειδωτου χάλυβα ένας σημαντικά υψηλότερος αριθμός κυττάρων της *L. monocytogenes*, όταν αυτή προερχόταν από τη μικτή αποικία, σε σύγκριση με τον αριθμό που επικολλήθηκε, όταν προερχόταν από την καθαρή αποικία της. Επιπλέον, τα κύτταρα της *L. monocytogenes*, που προήλθαν από τη μικτή αποικία, επιβίωναν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Αυτή η διαπίστωση είναι μεγάλης σημασίας, καθώς η συνύπαρξη της *L. monocytogenes* με άλλα βακτήρια στα τρόφιμα είναι σχεδόν δεδομένη και με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται η πιθανότητα δημιουργίας μικτών biofilms (Beals, 2004; Gandhi and Chikindas, 2007).

1.4.10.1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ικανότητα προσκόλλησης των βακτηρίων

Ποικίλοι είναι οι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητα προσκόλλησης των βακτηρίων σε αδρανείς επιφάνειες. Αρχικά, όταν τα βακτήρια βρίσκονται στη φάση ανάπτυξης, τότε, κατά τη λογαριθμική και στάσιμη φάση, η προσκόλληση στις επιφάνειες είναι εντονότερη.

Επιπροσθέτως, η βιωσιμότητα των βακτηρίων αποτελεί έναν παράγοντα, που επηρεάζει την προσκόλληση στις επιφάνειες. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα νεκρά κύτταρα έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται και να σχηματίζουν ένα στρώμα στις επιφάνειες, το οποίο ευνοεί την προσκόλληση των ζωντανών κυττάρων, δρώντας και ως προστασία έναντι των επιδράσεων των απολυμαντικών.

Ένας άλλος παράγοντας είναι η θερμοκρασία και ο χρόνος επαφής των κυττάρων με τις επιφάνειες. Είναι αποδεδειγμένο ότι η προσκόλληση των βακτηρίων στις επιφάνειες γίνεται ταχύτατα. Οι θερμοκρασίες που συναντώνται στις βιομηχανίες τροφίμων, στις οποίες τα βακτήρια έχουν τη δυνατότητα να προσκολληθούν κανονικά στον εξοπλισμό κατεργασίας τροφίμων, είναι συνήθως οι 5, οι 11 και οι 25 °C. Ωστόσο, ισχύει ότι όταν οι θερμοκρασίες είναι υψηλότερες, ο αριθμός των βακτηρίων και ο βαθμός της προσκόλλησης τους είναι μεγαλύτερος. Τέλος, η *L. monocytogenes* και ορισμένα άλλα βακτήρια έχουν την ικανότητα να προσκολληθούν σε επιφάνειες ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Η συγκέντρωση στις επιφάνειες του εξοπλισμού του “αραιωμένου γάλακτος” αποτελεί ακόμα έναν παράγοντα, που επηρεάζει την ικανότητα προσκόλλησης των βακτηρίων. Η αύξηση αυτής της συγκέντρωσης προέρχεται από τα κατάλοιπα του αραιωμένου γάλακτος, τα οποία συσσωρεύονται στις γραμμές παραγωγής, λόγω ελλιπούς καθαρισμού και έκπλυσης των επιφανειών. Επιπροσθέτως, ισχύει ότι η προσκόλληση στις επιφάνειες και στον εξοπλισμό των βακτηρίων που προέρχονται από τα διαλύματα του μη αραιωμένου γάλακτος είναι ασθενέστερη, σε σύγκριση με την προσκόλληση των βακτηρίων που προέρχονται από τα διαλύματα του “αραιωμένου γάλακτος” (Beals, 2004; Gandhi and Chikindas, 2007; Sinde and Carballo, 2000).

Τέλος, η προσκόλληση των βακτηρίων στις αδρανείς επιφάνειες επηρεάζεται και από την ηλεκτραρνητικότητα ή την ηλεκτροθετικότητα, που παρουσιάζει η επιφάνεια προσκόλλησης των μικροοργανισμών. Οι επιφανειοδραστικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται για την διαφοροποίηση της ηλεκτραρνητικότητας από την ηλεκτροθετικότητα στις επιφάνειες προσκόλλησης. Αυτός ο διαχωρισμός επηρεάζει και την ικανότητα των βακτηριακών κυττάρων να προσκολληθούν στις επιφάνειες και να σχηματίσουν τα biofilms. Ενδεικτικά, η προσκόλληση βακτηρίων, όπως είναι τα *Pseudomonas fluorescens* και *Lactobacillus helveticus*, στις επιφάνειες προκαλεί τη διαφοροποίηση της ηλεκτραρνητικότητας ή της ηλεκτροθετικότητας, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η προσκόλληση των παθογόνων βακτηρίων στις επιφάνειες αυτές και να αποτρέπεται ο σχηματισμός των biofilms (Meelheuc, 2006).

1.4.11. Η *L. monocytogenes* και η επίδραση της τροποποιημένης ατμόσφαιρας (MAP) στην ανάπτυξή της

Είναι αποδεδειγμένο πως η ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* είναι ανεξάρτητη από την ατμόσφαιρα, δηλαδή μπορεί να συμβεί είτε σε αναερόβιες, είτε σε αερόβιες συνθήκες και επιτυγχάνεται ακόμη και όταν το τρόφιμο, που επιμολύνεται από το βακτήριο, συντηρείται υπό ψύξη. Ωστόσο υπάρχουν διαφοροποιήσεις στους ρυθμούς ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου, οι οποίες είναι ανάλογες με τις συνθήκες που επικρατούν στο εσωτερικό και στο εξωτερικό του περιβάλλον (Lado and Yousef, 2007; ICMSF, 1996). Η ασφάλεια των τροφίμων, που συσκευάζονται σε τροποποιημένες ατμόσφαιρες (MAP) ή υπό κενό, απειλείται σε μεγάλο βαθμό από αυτές τις ιδιότητες του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* (Lado and Yousef, 2007).

Επιπροσθέτως, η ανάπτυξη του βακτηρίου επηρεάζεται ελάχιστα από τις συνθήκες της ατμόσφαιρας και από τον ανασταλτικό παράγοντα της υψηλής συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα, ο οποίος επηρεάζει την ανάπτυξη του παθογόνου μικροοργανισμού, κυρίως, στην περίπτωση που επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες. Συνεπώς, οι ρυθμοί ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου σε αερόβιες, μικροαερόφιλες και αναερόβιες συνθήκες είναι σχεδόν παρόμοιοι, με ελάχιστες αποκλίσεις (ICMSF, 1996). Ωστόσο, σύμφωνα με μελέτες, υπάρχουν βάσιμες ενδείξεις ότι ατμόσφαιρες με υψηλή συγκέντρωση CO₂ είναι ικανές να προκαλέσουν αναστολή της ανάπτυξης της *L. monocytogenes*. Επομένως, ακόμα και αν οι έρευνες παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, όσον αφορά την επιβίωση και την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου *L. monocytogenes* υπό την επίδραση των τροποποιημένων ατμοσφαιρών, υπερισχύει η άποψη των περισσότερων μελετών, που συγκλίνουν στο παραπάνω συμπέρασμα (Mano et al., 1995; Nilsson et al., 1997; Szabo and Cahill, 1998). Επιπλέον, μεταβολές στο εσωτερικό pH του κυττάρου, στην ενζυμική δραστηριότητα και στις συστάσεις των μεμβρανών, αλλά και οι συνδυασμοί όλων των παραπάνω, ενδέχεται να προκαλούνται από την παρουσία του διοξειδίου του άνθρακα στις ατμόσφαιρες και τη δράση του έναντι των μικροοργανισμών (Jydegaard-Axelsen et al., 2005).

Όσον αφορά τη συσκευασία των έτοιμων προς κατανάλωση τροφίμων, ισχύει ότι στην Ευρώπη η σύσταση της ατμόσφαιρας στο εσωτερικό της συσκευασίας είναι 70% CO₂ και 30% O₂. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις CO₂ στη σύσταση της ατμόσφαιρας στο εσωτερικό της συσκευασίας μπορεί να είναι και άνω του 80% και χρησιμοποιούνται για την αδρανοποίηση ή την επιβράδυνση της ανάπτυξης του μικροοργανισμού (Lado and Yousef, 2007; Nissen et al., 2000).

Η σύνοψη συγκεκριμένων μελετών από προηγούμενους ερευνητές, καθώς και οι έρευνες που διεξήχθησαν για την επίδραση του CO₂ σε τροποποιημένες συνθήκες έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών, βοήθησαν στη διαπίστωση ορισμένων συμπερασμάτων (Carlin et al., 1996). Αρχικά, η αποτελεσματικότητα της χρήσης του CO₂ στην ατμόσφαιρα του εσωτερικού της συσκευασίας των τροφίμων εξαρτάται από το είδος και τη φύση του τροφίμου. Ωστόσο, το διοξείδιο του άνθρακα αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στα εργαστηριακά μέσα. Επιπροσθέτως, είναι αποδεδειγμένο ότι η επίδραση του CO₂ είναι εντονότερη σε χαμηλές θερμοκρασίες, δηλαδή όταν τα τρόφιμα συντηρούνται υπό ψύξη. Ένα ακόμα συμπέρασμα ήταν ότι οι συγκεντρώσεις διοξειδίου του άνθρακα κάτω του 30% αποδείχθηκαν αναποτελεσματικές, όσον αφορά την αντιμικροβιακή τους δράση. Τέλος, υπάρχει και το ενδεχόμενο ακόμη και οι συγκεντρώσεις CO₂ κοντά στο 70%, υπό ορισμένες συνθήκες, να αποδειχθούν αναποτελεσματικές.

Παράγοντες, όπως για παράδειγμα το pH και η θερμοκρασία, επηρεάζουν την επίδραση της τροποποιημένης ατμόσφαιρας (Liserre et al., 2002). Όταν αυξάνεται η θερμοκρασία περιβάλλοντος, τότε μειώνεται η διαλυτότητα του CO₂, το οποίο αποτελεί και το κυριότερο αέριο που ευθύνεται για οποιαδήποτε άμεση αντιμικροβιακή δράση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η επίδραση του διοξειδίου του άνθρακα να είναι λιγότερο έντονη (King et al., 2003).

Τέλος, μεγαλύτερη ευαισθησία παρουσιάζει ο παθογόνος μικροοργανισμός έναντι της δράσης βακτηριοσινών, όταν η ατμόσφαιρα της συσκευασίας είναι τροποποιημένη, δηλαδή όταν υπάρχει CO₂ (Liserre et al., 2002). Πιο αναλυτικά, ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν την δυνατότητα να αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες ψύξης και να παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στο CO₂, με αποτέλεσμα να ευνοείται η παραγωγή αντιμικροβιακών παραγόντων και, εν τέλει, τα οξυγαλακτικά βακτήρια να αποκτούν προβάδισμα και να πολλαπλασιάζονται ταχύτερα από τη *L. monocytogenes* (Masniyom et al., 2006).

1.5.1. Η παρουσία της *Listeria monocytogenes* στο τυρί

Όσον αφορά το τυρί, θεωρείται από πολλούς ερευνητές ένα από τα ασφαλέστερα και πιο λειτουργικά τρόφιμα, με μεγάλη διατροφική αξία. Ωστόσο, έχουν διαπιστωθεί αρκετά περιστατικά τροφιμογενών λοιμώξεων στο παρελθόν, τα οποία οφείλονταν στην κατανάλωση μολυσμένων τυριών. Ενδεικτικά, μια επιδημία που είχε συμβεί στην Ευρώπη το 2006, για την οποία ευθυνόταν η κατανάλωση μολυσμένου τυριού, έφτασε το ποσοστό του 0,4% των συνολικών τροφιμογενών επιδημιών (Kousta et al., 2010; EFSA, 2008). Επιπροσθέτως, τα τρόφιμα έτοιμα προς κατανάλωση είναι αυξημένης επικινδυνότητας, καθώς δεν υποβάλλονται σε περαιτέρω επεξεργασίες, με αποτέλεσμα να έχουν υψηλή πιθανότητα επιμόλυνσης από παθογόνους μικροοργανισμούς. Συνεπώς, το υψηλό ποσοστό των επιμολύνσεων σε αυτά τα τρόφιμα καθιστά την ασφαλή κατανάλωσή τους υπό αμφισβήτηση. Στα έτοιμα προς κατανάλωση τρόφιμα (RTE) ανήκει και η κατηγορία των τυριών. Η χρήση νεπού γάλακτος για την παρασκευή των τυριών, η προσθήκη άλμης, το δάπεδο, τα υλικά συσκευασίας, το καλούπι, το τυρόπανο, το μαχαίρι κοπής του τυροπήγματος, τα ψυγεία και γενικότερα ο εξοπλισμός και οι εγκαταστάσεις των βιομηχανιών είναι ορισμένες μόνο από τις ποικίλες πηγές επιμόλυνσης των τυριών (Temelli et al., 2006; Brito et al., 2008).

Επιπλέον, είναι αποδεδειγμένο ότι η πλειοψηφία των ελληνικών παραδοσιακών τυριών παράγεται συνήθως σε μικρές γαλακτοκομικές μονάδες και όχι σε μεγάλες γαλακτοβιομηχανίες, στις οποίες ακολουθείται μια τυποποιημένη διαδικασία παραγωγής τυριών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να διαφέρει σε μικροβιολογικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, λόγω των διαφορετικών διαδικασιών παραγωγής, οι οποίες εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό και από τη γεωγραφική περιοχή (Freitas and Malcata, 1999).

Κατά την διαδικασία παραγωγής και ωρίμανσης ποικίλων τυριών έχει αποδειχθεί ότι ο κίνδυνος επιμόλυνσης από τη *L. monocytogenes* είναι αυξημένος, καθώς το παθογόνο βακτήριο έχει την δυνατότητα να επιβιώνει και να αναπτύσσεται σε αυτές τις συνθήκες. Ιδιαίτερα στην περίπτωση παρασκευής μαλακών και ημίσκληρων τυριών έχει διαπιστωθεί παρουσία της *L. monocytogenes* σε ποσοστό που κυμαίνεται από 0,5 έως και 15% και οι πληθυσμοί που έχουν αναφερθεί είναι της τάξεως των 10^5 και 10^7 cfu/g τροφίμου. Τυριά τύπου Camembert αποτελούν υποστρώματα, στα οποία το ποσοστό επιβίωσης της *L. monocytogenes* είναι αρκετά υψηλό, ενώ σε τυριά Cottage το ποσοστό επιβίωσης είναι μειωμένο. Η υψηλότερη συγκέντρωση του παθογόνου βακτηρίου βρίσκεται στο τυρόπηγμα, σε αντίθεση με τη συγκέντρωσή της στο τυρόγαλο, όπου είναι ελάχιστη.

Επιπροσθέτως, υπάρχουν βάσιμες ενδείξεις ότι η προσθήκη οξυγαλακτικών βακτηρίων, που χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης στην παρασκευή του τυριού, επιβραδύνουν την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών, αλλά δεν την αναστέλλουν. Η μόλυνση στα μαλακά τυριά περιορίζεται αποκλειστικά στην επιδερμίδα, δηλαδή στην επιφάνεια των τυριών. Αυτό συμβαίνει διότι κατά τη διαδικασία της ωρίμανσης στην επιφάνεια του τυριού αυξάνεται το pH και λαμβάνει χώρα η διαδικασία της πρωτεόλυσης των πρωτεϊνών, που βρίσκονται στην επιφάνεια. Σύμφωνα με ορισμένες μελέτες που έγιναν σε μαλακά και ημίσκληρα τυριά, αποδείχθηκε ότι τα

τυριά που παρασκευάζονται από παστεριωμένο γάλα είχαν ποσοστό επιμόλυνσης περίπου στο 2%, ενώ τα τυριά που δημιουργούνται από νωπό γάλα παρουσιάζουν αυξημένο ποσοστό επιμόλυνσης, που φτάνει μέχρι και το 42%. Ωστόσο, άλλες μελέτες έδειξαν ότι το ποσοστό επιμόλυνσης των τυριών που παρασκευάζονται από νωπό γάλα δεν είχε ουσιαστική διαφορά με το ποσοστό των τυριών που παρασκευάζονται από γάλα παστεριωμένο (Farber and Peterkin, 1991; Farber and Peterkin, 2000).

Ένας σημαντικός παράγοντας, που επηρεάζει την πιθανότητα επιμόλυνσης του τελικού τροφίμου από την *L. monocytogenes*, είναι ο αριθμός των χειρισμών του τυριού κατά τη διαδικασία παρασκευής του, δηλαδή ο αριθμός των διεργασιών και των επεξεργασιών του τροφίμου, πριν αυτό αποκτήσει την τελική του μορφή (Farber and Peterkin, 1991; Farber and Peterkin, 2000). Υψηλής σημασίας για την ενδεχόμενη παρουσία της *L. monocytogenes* στο τυρί αποτελούν οι φυσικές, οι βιοχημικές και οι μικροβιολογικές ιδιότητες του εκάστοτε τροφίμου. Είναι γεγονός πως το τυρί αποτελεί ένα τρόφιμο ιδιαίτερα περίπλοκο και σε αυτό συμβάλλουν ορισμένοι παράγοντες, οι οποίοι δρουν κατά τη διαδικασία παρασκευής και ωρίμανσής του και επηρεάζουν ταυτόχρονα την επιβίωση και την ανάπτυξη της *L. monocytogenes* στο τελικό προϊόν. Αρχικά, η προστιθέμενη καλλιέργεια, η οποία χρησιμοποιείται ούτως ώστε να δημιουργηθεί το τυρόπηγμα από το γάλα, είναι υψίστης σημασίας, όπως είναι άλλωστε και το είδος της, η δραστηρότητάς της, αλλά και η ποσότητα που προστίθεται. Επιπροσθέτως, το pH αποτελεί έναν ακόμα παράγοντα και κυρίως η ρύθμισή του από ποικίλα οξέα, όπως για παράδειγμα το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ, το φορμικό οξύ, κλπ. Επιπλέον, η παρουσία του υπεροξειδίου του υδρογόνου, του διακετυλίου και άλλων αντιμικροβιακών, όπως είναι η νισίνη (βακτηριοσίνες), αποτελούν σημαντικό παράγοντα παρεμπόδισης της ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου. Το επίπεδο των θρεπτικών ουσιών, καθώς και η συγκέντρωση του αλατιού, της υγρασίας και του οξυγόνου είναι ορισμένες από τις βασικές ιδιότητες του τυριού, που επηρεάζουν την πιθανότητα επιμόλυνσης από παθογόνους μικροοργανισμούς. Τέλος, η θερμοκρασία ωρίμανσης είναι ένας από τους σπουδαιότερους παράγοντες που επηρεάζει την διαδικασία της ωρίμανσης των τυριών και, κατά συνέπεια, επηρεάζει το τρόφιμο και τους πιθανούς μικροοργανισμούς, που εμπεριέχει. Οι συνδυασμοί όλων των παραπάνω παραγόντων έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή πολλών ειδών τυριού με διαφορετικά χαρακτηριστικά και στο εκάστοτε είδος η επιβίωση και η ανάπτυξη της *L. monocytogenes* παρουσιάζει διαφορές (Ryser and Marth, 2007).

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι η *L. monocytogenes* είναι ικανή να αναπτυχθεί ακόμα και σε όξινα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως είναι η Φέτα. Τέτοια τρόφιμα έχουν σαν χαρακτηριστικό τους την έντονη οξύτητα, που είναι αποτέλεσμα του αισθητά μειωμένου pH τους που κυμαίνεται από 4.5 έως 4.8, καθώς και την αυξημένη αλατότητα, η οποία προέρχεται από υψηλές συγκεντρώσεις NaCl, ή την ύπαρξη άλμης. Για να καταφέρει να αναπτυχθεί το παθογόνο βακτήριο σε αυτού του είδους τα τυριά, πρέπει να μπορεί να ξεπεράσει όλα τα εμπόδια του εκάστοτε τροφίμου. Ωστόσο, σύμφωνα με έρευνες, η *L. monocytogenes* έχει την ικανότητα να επιβιώνει σε τέτοιες αντίξοες συνθήκες και

να αναπτύσσεται και σε άλλα είδη τυριών εκτός από τη Φέτα, όπως για παράδειγμα στο Γαλοτύρι, όπου το pH κυμαίνεται από 3.8 έως 4.4 και η συγκέντρωση του άλατος από 1.8 έως και 9.1%. Τυριά όπως είναι η μυζήθρα, το Ανθότυρο και το Μανούρι έχει αποδειχθεί ότι είναι και αυτά ικανά υποστρώματα για την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου (Papageorgiou and Marth, 1989; Papageorgiou et al., 1996; Sergelidis et al., 1997; Morgan et al., 2001; Rogga et al., 2005; Lekkas et al., 2006; Belessi et al., 2008). Επιπροσθέτως, είναι δεδομένο πως ο σχηματισμός των biofilms στο περιβάλλον επεξεργασίας των τροφίμων από το παθογόνο βακτήριο, έχει ως αποτέλεσμα να επιμολύνει αυτές τις επιφάνειες και, κατά συνέπεια, και τα τρόφιμα που έρχονται σε επαφή με αυτές. Συνεπώς, στο περιβάλλον γαλακτοκομικών μονάδων έχουν καταφέρει να απομονωθούν ανθεκτικά στελέχη της *L. monocytogenes*, γεγονός που αυξάνει την ανάγκη χρήσης ιδιαίτερων χειρισμών για την εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων (Leite et al., 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ (LAB)

2.1.1. Εισαγωγή

Τα ζυμούμενα τρόφιμα ανέκαθεν αποτελούσαν αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής των ανθρώπων με υψηλή διατροφική αξία και σημαντικές λειτουργίες στον ανθρώπινο οργανισμό. Η παρασκευή των ζυμούμενων τροφίμων αποτελεί μια εμπειρική διαδικασία, που είναι άμεσα συνδεδεμένη με την παρουσία συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Αρχικά, δεν υπήρχαν επαρκείς πληροφορίες για τη φυσιολογία, την μορφολογία, καθώς και για την ταξινόμηση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών, ωστόσο η δράση τους και τα αποτελέσματά τους στα τρόφιμα ήταν γνωστά και αποδεδειγμένα. Περίπου στα μέσα του 19^{ου} αιώνα και συγκεκριμένα το 1873, ο J. Lister βασιζόμενος στη μελέτη της ζύμωσης του γαλακτικού οξέος, η οποία πραγματοποιήθηκε από τον Louis Paster και διήρκησε δέκα χρόνια, κατάφερε να απομονώσει καθαρή καλλιέργεια οξυγαλακτικού βακτηρίου (Lactic Acid Bacteria, LAB) για πρώτη φορά.

Είναι γεγονός ότι η πλειονότητα των εμπορικών εναρκτήριων καλλιεργειών διεθνώς προέρχεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως καλλιεργειών εκκίνησης αφορά κυρίως τη βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων και προτιμάται τόσο σε ποσότητα, όσο και σε αξία (Hansen, 2002). Συνεπώς, η ανάγκη για την περαιτέρω μελέτη των συγκεκριμένων μικροοργανισμών γεννήθηκε, λόγω της αυξημένης χρήσης τους. Πολλά οικοσυστήματα, συμπεριλαμβανομένων των ζυμούμενων τροφίμων, της αναπνευστικής, εντερικής και της γενετικής οδού του ανθρώπου και των ζώων, των νερών των υπονόμων, καθώς και των αποσυντιθέμενων φυτικών υλικών, αποτελούν ορισμένες από τις κυριότερες πηγές προέλευσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Τέλος, είναι αποδεδειγμένο ότι η κατηγορία των οξυγαλακτικών βακτηρίων παρουσιάζει υψηλή ποικιλομορφία, με υψηλό αριθμό ειδών και γενών.

2.1.2. Γενικά χαρακτηριστικά των οξυγαλακτικών βακτηρίων

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) ανήκουν στην κατηγορία των Gram θετικών βακτηρίων και αποτελούν μη σποριογόνους μικροοργανισμούς, χωρίς την ικανότητα αυτόνομης κίνησης. Επιπρόσθετα, τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι αρνητικά στο τεστ καταλάσης και ο μεταβολισμός των σακχάρων, κυρίως των πεντοζών και των εξοζών, από αυτά τα βακτήρια, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτικού οξέος και ποσών ενέργειας. Η μορφολογία τους ποικίλει ανάλογα με το είδος του βακτηρίου, με επικρατέστερους τους σχηματισμούς κόκκων, κοκκοβακίλλων ή βακίλλων. Η προέλευση των βακτηρίων συναντάται συνήθως σε ζυμούμενα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών προϊόντων, των προϊόντων κρεάτων, των λαχανικών και των ποτών, σε ποικίλα φυτά, καθώς και στην εντερική μικροχλωρίδα των ανθρώπων και ζώων, αλλά και στη στοματική κοιλότητα και τον γυναικείο κόλπο.

Τέλος, τα *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* και *Weissella* αποτελούν

τα κυριότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) (Stiles και Holzapfel, 1997). Τα γένη των *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, αλλά και ορισμένα βακτήρια του γένους *Weissella* σχηματίζουν βακίλλους, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα γένη, που σχηματίζουν κόκκους (Axelson, 1998).

Πίνακας 2.1: Η διαφοροποίηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων με βάση τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν.

Χαρακτηριστικά	<i>Carnobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus/Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc/Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>	<i>Weissella</i>
Tetrad formation	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
CO ₂ from glucose	-	±	-	-	-	+	-	-	-	+
Growth at 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Growth at 45°C	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
Growth at 6.5% NaCl	ND	±	+	+	-	±	±	-	+	±
Growth at 18% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Growth at pH 4.4	Ns	±	-	+	±	±	+	-	-	±
Growth at pH 9.6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Lactic acid	L	D, L, DL	L	L	L	D	L, DL	L	L	D, DL

2.2.1. Εισαγωγή στην τεχνολογία της βιοπροστασίας

Είναι γεγονός ότι στη σύγχρονη βιομηχανία χρησιμοποιούνται ποικίλες τεχνολογίες επεξεργασίας τροφίμων, οι οποίες στοχεύουν στη εξασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων και στη διατήρηση της ποιότητας, καθώς και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων. Η διασφάλιση των παραπάνω παραμέτρων επιτυγχάνεται με τη συνεχή παρακολούθηση σε όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, έως και τη διανομή των προϊόντων. Η διαδικασία της ζύμωσης αποτελούσε ανέκαθεν μια από τις επικρατέστερες και αποτελεσματικότερες τεχνολογίες, ούτως ώστε να επιτευχθεί συντήρηση μεγαλύτερης διάρκειας στα τρόφιμα. Η αναστολή της ανάπτυξης και της επιβίωσης της ανεπιθύμητης μικροχλωρίδας στα τρόφιμα επιτυγχάνεται με τη χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία αποτελούν τους βασικότερους μικροοργανισμούς που είναι υπεύθυνοι για τη ζύμωση. Επομένως, η βιολογική δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ποικίλων μεταβολιτών, οι οποίοι συμβάλλουν στην αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών.

Υπάρχουν αναφορές από την αρχαιότητα, που επιβεβαιώνουν τη χρήση μικροοργανισμών, η οποία αποσκοπεί στην εξασφάλιση της μεγαλύτερης διατηρησιμότητας απαραίτητων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των προϊόντων γάλακτος, κρέατος, λαχανικών, κ.α. Ωστόσο, η εξέλιξη της επιστήμης της μικροβιολογίας με την πάροδο των χρόνων και ιδιαίτερα την εποχή της βιομηχανικής επανάστασης συνέβαλε στην βελτιστοποίηση της ασφάλειας των τροφίμων, με τεχνικές όπως είναι

η παστερίωση και γενικότερα οι θερμικές επεξεργασίες. Η έννοια της ανταγωνιστικής ανάπτυξης των μικροοργανισμών εισήχθη το 1972 από τον Hurst και αποτέλεσε μια από τις σημαντικότερες μεθόδους συντήρησης τροφίμων. Η τεχνολογία της βιοπροστασίας πραγματοποιείται με τη χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB).

Παρόλο που οι σύγχρονες τεχνολογίες και τα νέα συστήματα διασφάλισης ποιότητας, όπως για παράδειγμα το σύστημα HACCP, έχουν εξελίξει την επιστήμη των τροφίμων, η σταθερότητα και η ασφάλεια των τροφίμων εξακολουθεί να είναι μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις ακόμα και σήμερα. Η χρήση των βιοπροστατευτικών καλλιιεργειών και των προϊόντων τους αποτελούν νέες προσεγγίσεις στην επιστήμη των τροφίμων, οι οποίες δημιουργήθηκαν εξαιτίας της ανάγκης της κατανάλωσης τροφίμων με λιγότερες παρεμβάσεις και επεξεργασίες, ούτως ώστε να διατηρήσουν τη φυσικότητά τους. Η έννοια των βιοπροστατευτικών καλλιιεργειών εισήχθη για να διαφοροποιήσει τις χημικές και γενικότερα τις μη φυσικές τεχνικές συντήρησης τροφίμων από τις καλλιιεργειες των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB).

2.2.2. Η έννοια της βιοπροστασίας στα τρόφιμα

Η έννοια της βιοπροστασίας των τροφίμων έχει σκοπό να αδρανοποιήσει ή να παρεμποδίσει την ανάπτυξη των ανεπιθύμητων και ενδεχομένως παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα, ούτως ώστε να επιτευχθεί η ασφάλεια και η επιμήκυνση του ορίου ζωής των προϊόντων. Για το λόγο αυτό, η χρήση ανταγωνιστικών μικροοργανισμών, κυρίως των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), και η παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων τους είναι απαραίτητη (Schillinger et al., 1996). Υπάρχουν ποικίλοι λόγοι, για τους οποίους χρησιμοποιούνται οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί. Αρχικά, η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων σχετίζεται με τη μείωση ή και την εξάλειψη του πληθυσμού των παθογόνων μικροοργανισμών και, κατά συνέπεια, συμβάλλει στη βελτίωση της ασφάλειας του τροφίμου. Επιπροσθέτως, η επιμήκυνση της διάρκειας ζωής των τροφίμων ευνοείται από τη βελτίωση της σταθερότητας τους, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Συνεπώς, τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι υπεύθυνα για την παρεμπόδιση ανεπιθύμητων μεταβολών, που προκαλούνται από αλλοιογόνους μικροοργανισμούς ή από αβιοτικές αντιδράσεις. Μια ακόμα χρησιμότητα της χρήσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι η επεξεργασία της πρώτης ύλης, ούτως ώστε να αποκτήσουν τα τρόφιμα νέες οργανοληπτικές ιδιότητες και νέα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Τέλος, η απόκτηση ωφέλιμων για την υγεία δράσεων είναι αποτέλεσμα της χρήσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία έχουν θετικές επιδράσεις στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου (Lücke, 2000).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ως καλλιιεργεια εκκίνησης (starter culture) ορίζεται η χρήση μικροοργανισμών, που αποσκοπεί τόσο στη βελτιστοποίηση ή γενικότερα στη μεταβολή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τροφίμου, όσο και στη δημιουργία ενός νέου προϊόντος. Ως βιοπροστατευτικές ή προστατευτικές καλλιιεργειες ορίζονται οι ανταγωνιστικές καλλιιεργειες, που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα με απώτερο σκοπό την παρεμπόδιση της ανάπτυξης παθογόνων

μικροοργανισμών, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την επέκταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων. Παράλληλα, οι ανταγωνιστικές καλλιέργειες έχουν την ικανότητα και να συμβάλλουν στη μεταβολή των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων κατά το ελάχιστο δυνατό (Leroi et al., 1996). Επιπροσθέτως, ως βιοπροστασία ορίζεται η χρήση των ανταγωνιστικών καλλιεργειών σε συνδυασμό με τα προϊόντα που προέρχονται από τις μεταβολικές αντιδράσεις τους, όπως είναι για παράδειγμα ορισμένα ένζυμα και οι βακτηριοσίνες (Holzapfel et al., 1995; Schillinger et al., 1996; Lücke, 2000). Τέλος, η προσθήκη των προβιοτικών καλλιεργειών στα τρόφιμα ευνοεί την υγεία των καταναλωτών, μέσω της ενίσχυσης της φυσικής μικροχλωρίδας του εντέρου, ενώ παράλληλα συμβάλλει και στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών (Holzapfel et al., 1998; Servin, 2004).

Είναι γεγονός ότι πολλές φορές υπερισχύει η άποψη ότι οι καλλιέργειες εκκίνησης διαχωρίζονται πλήρως από τις προστατευτικές καλλιέργειες, ωστόσο ουσιαστικά μπορεί να αποτελούν την ίδια καλλιέργεια, η οποία χρησιμοποιείται με διαφορετική σκοπιμότητα και υπό διαφορετικές συνθήκες. Από τεχνολογικής άποψης, υψηλή σημασία παρουσιάζει η μεταβολική δραστηριότητα της καλλιέργειας εκκίνησης, όπως για παράδειγμα η παραγωγή οξέων, ενώ σε αντίθεση η αντιμικροβιακή δράση της καλλιέργειας είναι δευτερευούσης σημασίας. Όσον αφορά τις προστατευτικές καλλιέργειες, οι λειτουργικοί σκοποί τους είναι αντίστροφοι, σε σύγκριση με τους λειτουργικούς σκοπούς των καλλιεργειών εκκίνησης (Holzapfel et al., 1995).

Επιπροσθέτως, έναν ακόμα παράγοντα, ο οποίος συμβάλλει στην ενίσχυση της ασφάλειας των τροφίμων, αποτελεί η βιοπροστασία και ιδιαίτερα οι βιοπροστατευτικές καλλιέργειες. Οι βιοπροστατευτικές καλλιέργειες έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν την μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων, η οποία ενισχύεται σημαντικά, σύμφωνα με την τεχνολογία των εμποδίων, όταν αυτές συνδυάζονται με επιπρόσθετες επεξεργασίες συντήρησης (Leistner and Gorris, 1995). Η έννοια της βιοπροστασίας των τροφίμων έχει σκοπό να αδρανοποιήσει ή να παρεμποδίσει την ανάπτυξη των ανεπιθύμητων και ενδεχομένως παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα, ούτως ώστε να επιτευχθεί η ασφάλεια και η επιμήκυνση του ορίου ζωής των προϊόντων. Για το λόγο αυτό, η χρήση ανταγωνιστικών μικροοργανισμών, κυρίως των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), καθώς και η παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων τους είναι απαραίτητη (Schillinger et al., 1996). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η πιθανότητα επιβίωσης και ανάπτυξης των παθογόνων και αλλοιωγόνων μικροοργανισμών ελαττώνεται από τις λειτουργίες των βιοπροστατευτικών καλλιεργειών, οι οποίες συμβάλλουν και στην ενίσχυση της ορθής υγιεινής πρακτικής.

Επιπλέον, ως δείκτης ενδεχόμενης μικροβιακής αλλοίωσης μπορεί να θεωρηθεί η μεταβολική δραστηριότητα των βιοπροστατευτικών καλλιεργειών, η οποία προκύπτει στην περίπτωση που συμβούν θερμοκρασιακές καταπονήσεις στα τρόφιμα ή σε ενδεχόμενους κακούς χειρισμούς, που οφείλονται στο εμπλεκόμενο προσωπικό (Holzapfel et al., 1995). Η κατηγορία των οξυγαλακτικών βακτηρίων αποτελεί το μεγαλύτερο ποσοστό των προστατευτικών καλλιεργειών, οι οποίες είναι απαραίτητο να περιλαμβάνουν μικροοργανισμούς που είναι κατάλληλοι για χρήση σε

τρόφιμα (food-grade bacteria) και δεν υποβαθμίζουν την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων (Rodgers, 2001; Giraffa, 2004).

Τέλος, υπάρχουν ορισμένες επιθυμητές ιδιότητες των προστατευτικών καλλιιεργειών, οι οποίες είναι απαραίτητες, ούτως ώστε να επιτραπεί η χρήση τους στα τρόφιμα. Αρχικά, πρέπει να είναι ακίνδυνες για την υγεία του καταναλωτή, επομένως δεν πρέπει να παράγουν τοξίνες, πρέπει να μην έχουν παθογόνο δράση και να μην παράγουν βιογενείς αμίνες ή άλλους μεταβολίτες, που είναι ενδεχομένως επιβλαβείς για την υγεία. Επιπροσθέτως, οι προστατευτικές καλλιέργειες πρέπει να επιφέρουν ευεργετικές ιδιότητες στα τρόφιμα, που χρησιμοποιούνται. Πιο αναλυτικά, βασική προϋπόθεση για τη χρήση τους στα τρόφιμα είναι η ικανότητά τους να μπορούν να προσαρμοστούν ομαλά στο υπόστρωμα και να παρέχουν αξιοπιστία, ως προς τη συνεχή προστατευτική τους δράση. Παράλληλα, πρέπει να μπορεί προβλέπεται η μεταβολική τους δράση, υπό καθορισμένες συνθήκες, και πρέπει να είναι αποδεδειγμένη η ανταγωνιστικότητά τους έναντι των αυτόχθονων μικροοργανισμών. Οι εξειδικευμένες ενζυμικές δραστηριότητες σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων, όπως για παράδειγμα η νιτρική αναγωγή και η υπεροξειδάση, πρέπει να συμπεριλαμβάνονται στις ευεργετικές ιδιότητες, που επιφέρονται στα τρόφιμα. Τέλος, οι προστατευτικές καλλιέργειες δεν πρέπει να επηρεάζουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου ή να του προσδίδουν αρνητικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, κάτω από συνθήκες ορθής υγιεινής πρακτικής, και πρέπει να έχουν και την ιδιότητα του δείκτη, όταν επικρατούν επιβλαβείς συνθήκες για την ασφάλεια του τροφίμου (Holzapfel et al., 1995).

2.3.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και τα χαρακτηριστικά της φυσιολογίας τους

Σύμφωνα με την προσέγγιση του Orla-Jensen (1942), τα οξυγαλακτικά βακτήρια ορίζονται ως Gram θετικά βακτήρια, τα οποία αποτελούν μη σποριογόνους μικροοργανισμούς και η μορφολογία τους είναι είτε ραβδόμορφη, είτε κοκκίομορφη. Επιπροσθέτως, έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τους υδατάνθρακες και τις ανώτερες αλκοόλες, κατά τη διαδικασία της ζύμωσης των τροφίμων, με αποτέλεσμα την παραγωγή ποικίλων οξέων και ιδιαίτερα γαλακτικού οξέος. Ωστόσο, οι πιο σύγχρονες προσεγγίσεις διαφοροποιούνται ως ένα βαθμό από την προσέγγιση του Orla-Jensen, καθώς πλέον υπάρχει η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν πιο εξειδικευμένες αναλύσεις, όπως για παράδειγμα οι φυλογενετικές αναλύσεις και οι μοριακές τεχνικές. Παρόλα αυτά, συνεχίζει ο ορισμός του Orla-Jensen για τα οξυγαλακτικά βακτήρια να παραμένει αποδεκτός (Axelsson, 2004; Stiles and Holzapfel, 1997).

Χαρακτηριστικό της φυσιολογίας των οξυγαλακτικών βακτηρίων αποτελεί το γεγονός ότι τα βακτήρια δεν διαθέτουν πορφυρίνες και κυτοχρώματα στα κύτταρα τους και για να αποκτήσουν την ενέργεια που χρειάζονται για να διεκπεραιώσουν τις λειτουργίες τους είναι απαραίτητη η φωσφορυλίωση, η οποία επιτυγχάνεται μόνο μέσω του υποστρώματος, καθώς δεν δύναται να πραγματοποιηθεί η οξειδωτική φωσφορυλίωση από αυτή την κατηγορία βακτηρίων (Law, 1997). Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι η κυριότερη κατηγορία βακτηρίων που συμμετέχει στις ζυμώσεις των

τροφίμων, καθώς έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται υπό αναερόβιες συνθήκες. Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα αναερόβια βακτήρια, τα οξυγαλακτικά δεν παρουσιάζουν ευαισθησία στο οξυγόνο και επομένως, έχουν τη δυνατότητα να αναπτυχθούν παρουσία ή όχι οξυγόνου. Συνεπώς, λόγω αυτού του χαρακτηριστικού τους, τα οξυγαλακτικά βακτήρια κατατάσσονται στα μικροαερόφιλα βακτήρια.

Είναι αποδεδειγμένο ότι η απόκτηση της ενέργειας, που χρειάζονται τα οξυγαλακτικά βακτήρια, προέρχεται μέσω του μεταβολισμού των σακχάρων του υποστρώματος. Επομένως, η παρουσία των συγκεκριμένων βακτηρίων περιορίζεται σε τρόφιμα που έχουν αυξημένο αριθμό υδατανθράκων, ούτως ώστε να μπορέσουν να πραγματοποιήσουν τις λειτουργίες τους και να παράγουν τα μεταβολικά τους προϊόντα, μέσω της κατανάλωσης των σακχάρων του υποστρώματος. Επιπροσθέτως, τα αμινοξέα, οι πουρίνες και οι πυριμιδίνες συμπεριλαμβάνονται στις σύνθετες διατροφικές απαιτήσεις των οξυγαλακτικών βακτηρίων, παρόλο που οι βιοσυνθετικές ικανότητες αυτών των μικροοργανισμών είναι περιορισμένες (Pfeiler and Klaenhammer, 2007). Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως επί το πλείστον δεν έχουν την ικανότητα να κινούνται αυτόνομα, ωστόσο υπάρχουν μεμονωμένες περιπτώσεις βακίλλων, οι οποίοι διαθέτουν περίτριχα μαστίγια. Τέλος, η αναλογία των βάσεων γουανίνης και κυτοσίνης (G+C) στο μόριο του DNA των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι μικρότερη από το ποσοστό του 55% (Klein et al., 1998; Axelsson, 2004).

Όσον αφορά τη θερμοκρασία ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, ισχύει ότι η βέλτιστη θερμοκρασία κυμαίνεται από τους 30 έως τους 40 °C. Επιπλέον, τα συγκεκριμένα βακτήρια παρουσιάζουν υψηλή ανθεκτικότητα στα οξέα και στο ελαττωμένο pH των τροφίμων, συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα είδη τους έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται ακόμα και σε τιμή pH που φτάνει το 3.5. Ωστόσο, οι βέλτιστες τιμές pH των τροφίμων, ούτως ώστε να ευνοηθεί η ανάπτυξη των βακτηρίων, κυμαίνονται από 5.0 έως 7.0, δηλαδή στην λιγότερο όξινη περιοχή του εύρους του pH. Τέλος, ο ρυθμός ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων μειώνεται αισθητά, στην περίπτωση που το pH των τροφίμων αποκτήσει πιο αλκαλικές τιμές (Tannock, 1999).

Επιπροσθέτως, τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι υπεύθυνα για την ζύμωση των σακχάρων, η οποία καθορίζει τη φύση των προϊόντων που παράγονται. Επομένως, οι ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε τροφίμου διαφοροποιούνται ανάλογα με το είδος των υποομάδων των οξυγαλακτικών βακτηρίων, που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε διαδικασία ζύμωσης. Οι δύο κυριότερες κατηγορίες των υποομάδων των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι η ομοζυμωτική και η ετεροζυμωτική. Το βασικότερο προϊόν που παράγεται στις ομοζυμωτικές ζυμώσεις των σακχάρων είναι το γαλακτικό οξύ, ενώ τα προϊόντα που παράγονται στις ετεροζυμωτικές ζυμώσεις είναι, εκτός από το γαλακτικό οξύ, η αιθανόλη ή το οξικό οξύ και το διοξείδιο του άνθρακα (carbon dioxide, CO₂). Χαρακτηριστικό των ετεροζυμωτικών βακτηρίων είναι ότι δεν διαθέτουν την αλδολάση, η οποία συμμετέχει στη διαδικασία της γλυκόλυσης και συγκεκριμένα στη διάσπαση της δις-φωσφορικής φρουκτόζης προς παραγωγή φωσφορικής τριόζης. Ωστόσο, τα ετεροζυμωτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να οξειδώνουν την 6-φωσφορική γλυκόζη προς 6-φωσφογλυκονικό

οξύ και, εν συνεχεία, αποκαρβοξυλιώνουν το 6-φωσφογλυκονικό οξύ προς παραγωγή της φωσφορικής πεντόζης. Τέλος, η διάσπαση της φωσφορικής πεντόζης πραγματοποιείται μέσω του ενζύμου φωσφο-κετολάση και έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή της φωσφορικής τριόζης και του ακετυλο-φωσφορικού οξέος.

Το τελικό προϊόν αυτής της μεταβολικής οδού είναι το γαλακτικό οξύ και η παραγωγή του επιτυγχάνεται μέσω της μετατροπής της φωσφορικής τριόζης, παρουσίας των ετεροζυμωτικών βακτηρίων. Πιο αναλυτικά, κατά τη διαδικασία της μετατροπής της φωσφορικής τριόζης σε γαλακτικό οξύ, παράγεται ένα mole τριφωσφορικής αδενοσίνης (adenosine triphosphate, ATP). Παράλληλα, το νικοτινάμιδο-αδένινο-δινουκλεοτίδιο (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH), το οποίο δημιουργείται κατά την παραγωγή της φωσφορικής πεντόζης, δίνει ηλεκτρόνια στο ακετυλο-φωσφορικό οξύ. Η πρόσληψη των ηλεκτρονίων από το ακετυλο-φωσφορικό οξύ έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή του προς παραγωγή αιθανόλης, δίχως να παράγεται ενέργεια (ATP). Επομένως, η συγκεκριμένη μεταβολική οδός των ετεροζυμωτικών βακτηρίων μετατρέπει την γλυκόζη σε γαλακτικό οξύ, παράγοντας μόνο ένα mole ATP, σε αντίθεση με τα ομοζυμωτικά βακτήρια, τα οποία παράγουν δύο mole ATP από τη μετατροπή της γλυκόζης. Τέλος, η αποκαρβοξυλίωση του 6-φωσφο-γλυκονικού οξέος από τα ετεροζυμωτικά βακτήρια είναι υπεύθυνη για την παραγωγή του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂), το οποίο αποτελεί ένα επιπρόσθετο τελικό προϊόν της συγκεκριμένης ζύμωσης. Αντίθετα, η παραγωγή του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) από τα ομοζυμωτικά βακτήρια είναι ελάχιστη έως και μηδενική.



Εικόνα 2.1: Μορφολογία οξυγαλακτικών βακτηρίων (αριστερά). Αποικία οξυγαλακτικών βακτηρίων (δεξιά).
(<https://microbiologyclass.com/lactic-acid-bacteria-lab/>,
https://www.researchgate.net/publication/235427606_ISOLATION_IDENTIFICATION_AND_CHARACTERIZATION_OF_LACTIC_ACID_BACTERIA_FROM_DAIRY_SLUDGE_SAMPLE)

2.3.2. Οι κυριότερες οικογένειες και τα βασικότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η ταξινόμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων επιβεβαιώνει ότι τα συγκεκριμένα βακτήρια κατατάσσονται στην τάξη Lactobacillales της κλάσης Bacilli και του φύλου Firmicutes. Επιπροσθέτως, αναφέρεται ότι τα Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Leuconostocaceae και Streptococcaceae συμπεριλαμβάνονται στις κυριότερες οικογένειες αυτής της κατάταξης, που επεκτείνεται συνεχώς. Τέλος, τα περίπου σαράντα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία έχουν αναγνωρισθεί, σε συνδυασμό με το μεγάλο εύρος των προαναφερθεισών οικογενειών αποδεικνύουν την ιδιαίτερα υψηλή ποικιλομορφία της κατηγορίας των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Tsakalidou and Papadimitriou, 2011).

Τα βασικότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία αφορούν άμεσα τα τρόφιμα, είναι τα *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus* και *Carnobacterium*. Όπως ειπώθηκε προηγουμένως, έχει αποδειχθεί ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια αποτελούν φυλογενετικά πολυσύνθετα βακτήρια, με μεγάλη ποικιλομορφία. Όσον αφορά το γένος *Bifidobacterium*, αν και κατατάσσεται φυλογενετικά στο φύλο Actinobacteria, ωστόσο λόγω αυξημένης συγγένειας με τα οξυγαλακτικά βακτήρια, σε πολλές περιπτώσεις ελέγχεται όμοια με αυτά. Επομένως, οι βιοχημικές και οι φυσιολογικές ιδιότητες του γένους *Bifidobacterium* εξετάζονται με τις ίδιες μεθόδους, που εξετάζονται και οι ιδιότητες των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Επιπλέον, και οι δύο κατηγορίες βακτηρίων απαντώνται στα ίδια οικοσυστήματα, παραδείγματος χάριν στο γαστρεντερικό σύστημα των ανθρώπων και ορισμένων ζώων (Αστερή, 2011). Παρόλο που η κατάταξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων έχει κατανοηθεί βαθύτερα, μέσω της συνεισφοράς των σύγχρονων μοριακών τεχνικών και των εκτεταμένων αναλύσεων των γονιδιωμάτων, είναι γεγονός πως για να αποδοθεί μια πιο ικανοποιητική και αναλυτική εικόνα των φυλογενετικών σχέσεων των οξυγαλακτικών βακτηρίων, χρειάζονται περισσότερα δεδομένα και περισσότερες έρευνες, οι οποίες θα έχουν αυτά ως αντικείμενό τους. Συνεπώς, όσο αυξάνονται τα δεδομένα που συλλέγονται στο μέλλον, τόσο πιο ακριβής θα είναι και η τελική κατάταξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, η οποία επί του παρόντος βρίσκεται υπό συνεχή εξέλιξη.

Τέλος, η εφαρμογή των πολυφασικών ταξινομικών προσεγγίσεων αυξάνεται, εξαιτίας της υψηλής απαίτησης που δημιουργείται από την περιγραφή ενός μεγάλου αριθμού ειδών, από τη συνεχή απομόνωση νέων στελεχών διεθνώς, αλλά και από τις διαφοροποιήσεις που παρουσιάζονται στα βιολογικά χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων ειδών. Στον πίνακα 2.2 παρατίθενται οι κυριότερες οικογένειες και τα βασικότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία έχουν απομονωθεί από τρόφιμα. Επιπροσθέτως, αναφέρονται και ποικίλες μορφολογικές πληροφορίες για τα συγκεκριμένα βακτήρια, καθώς και οι κυριότερες εναρκτήριες καλλιέργειες, οι οποίες έχουν απομονωθεί από τυριά και συμμετέχουν στη ζύμωση τους (Holzapfel and Wood, 2014).

Πίνακας 2.2: Οι κυριότερες οικογένειες και τα βασικότερα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία έχουν απομονωθεί από τα τρόφιμα. Συμπεριλαμβάνονται τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, καθώς και τα αναγνωρισμένα βακτήρια, που χρησιμοποιούνται ως εναρκτήριες καλλιέργειες (S-LAB) και δευτερεύουσες εναρκτήριες καλλιέργειες (NS-LAB) στα τρόφιμα (Holzapfel and Wood, 2014).

Οικογένειες βακτηρίων	Γένη βακτηρίων	Μορφολογία Βακτηρίων	Κυριότερα βακτήρια που απομονώθηκαν από τυριά.
Aerococcaceae	<i>Abiotrophia</i> (Ab.)	Κόκκοι ή Κοκοβάκκιλοι	
	<i>Aerococcus</i> (Ac.)	Κόκκοι (μονά, δυάδες, τετράδες)	
	<i>Facklamia</i> (F.)	Κόκκοι (δυάδες, αλυσίδες)	
	<i>Ignavigranum</i> (Ig.)	Κόκκοι (μονά, δυάδες, αλυσίδες, ομάδες)	
	<i>Globicatella</i> (Glo.)		
	<i>Eremococcus</i> (Erc.)		
	<i>Dolosicoccus</i> (Dc.)		
Carnobacteriaceae	<i>Carnobacterium</i> (C.)	Βάκιλλοι (μονά, ζεύγη, αλυσίδες)	
	<i>Marinilactibacillus</i> (M.)	Βάκιλλοι (μονά, ζεύγη)	
	<i>Trichococcus</i> (Tr.)	Κόκκοι σφαιρικοί προς οβάλ (μονά, ζεύγη, αλυσίδες),	
	<i>Alkalibacterium</i> (Alk.)	Κόκκοι / Βάκιλλοι	
	<i>Allofustis</i> (Af.)		
	<i>Alloiococcus</i> (Al.)		
	<i>Atopobacter</i> (Ap.)		
	<i>Atopococcus</i> (Ac.)		
	<i>Atopostipes</i> (At.)		
	<i>Bavariococcus</i> (Bav.)		
	<i>Desemzia</i> (D.)		
	<i>Dolosigranulum</i> (Dg.)		
	<i>Granulicatella</i> (Gra.)		
<i>Isobaculum</i> (Is.)			
<i>Lactici genus</i> (Lg.)			
Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i> (Ent.)	Κόκκοι (ζεύγη ή αλυσίδες)	S-LAB
	<i>Tetragenococcus</i> (Tet.)	Κόκκοι σφαιρικοί προς οβάλ (μονά, ζεύγη, αλυσίδες, τετράδες)	
	<i>Vagococcus</i> (V.)	Κόκκοι (μονά, ζεύγη ή αλυσίδες)	
	<i>Atopobacter</i> (Ap.)	Κόκκοι / Βάκιλλοι	
	<i>Catelliococcus</i> (Cat.)		
	<i>Melissococcus</i> (Me.)		
	<i>Pilibacter</i> (Pi.)		
Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus</i> (Lb.)	Κοκοβάκκιλοι και Βάκιλλοι (μονά, ζεύγη και αλυσίδες)	NS-LAB/S-LAB
	<i>Paralactobacillus</i> (Pl.)	Κόκκοι	

2.3.3. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και η ταξινόμησή τους

Είναι γεγονός ότι στα μορφολογικά και στα φυσιολογικά χαρακτηριστικά των οξυγαλακτικών βακτηρίων βασίζεται η κλασική ταξινόμησή τους. Ενδεικτικά, στα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των οξυγαλακτικών βακτηρίων συμπεριλαμβάνονται τα λιπαρά οξέα του βακτηριακού κυττάρου, η σύσταση του κυτταρικού τοιχώματος, καθώς και άλλα ποικίλα κυτταρικά χαρακτηριστικά. Επιπροσθέτως, εκτός από τα προαναφερθέντα μορφολογικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των οξυγαλακτικών βακτηρίων, υψηλής σημασίας για την ταξινόμησή τους αποτελούν και τα μοριακά τους χαρακτηριστικά. Συνεπώς, η εξέλιξη των μοριακών μεθόδων και ο συνεχής εμπλουτισμός των βάσεων δεδομένων με τις αλληλουχίες των 16S rDNA γονιδίων, προκάλεσαν εν τέλει μεγάλες αλλαγές στη συστηματική των βακτηρίων. Πιο αναλυτικά, η επί τοις εκατό % ανά γραμμομόριο περιεκτικότητα του DNA σε βάσεις κυτοσίνης (C) και γουανίνης (G), η δομή και η αλληλουχία στην 16S rRNA, καθώς και οι ηλεκτροφορητικές ιδιότητες των προϊόντων, που προέρχονται από τα γονίδια, αποτελούν ορισμένα από τα μοριακά χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων βακτηρίων, τα οποία συμβάλλουν στην ταξινόμησή τους (Tenover et al., 1995).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια κατατάσσονται φυλογενετικά στην κλωστριδιακή υποομάδα των θετικών κατά Gram βακτηρίων και αποτελούν μη σποριογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι αρνητικοί στο τεστ της καταλάσης. Όσον αφορά τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά, ισχύει ότι σχηματίζουν κόκκους, κοκκοβακίλλους και βακίλλους. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί ότι το ποσοστό των βάσεων γουανίνης και κυτοσίνης στο μόριο του DNA των οξυγαλακτικών βακτηρίων δεν ξεπερνά το 55% ανά γραμμομόριο DNA ($< 55\% \text{ G+C/mole DNA}$), σε αντίθεση με τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, στα οποία ισχύει ότι περιέχουν περισσότερο από 55% G + C/ mole στο μόριο του DNA τους. Επομένως, η αναλογία των βάσεων γουανίνης και κυτοσίνης στο DNA των βακτηρίων αποτελεί και την κυριότερη διαφορά μεταξύ των κλασικών οξυγαλακτικών βακτηρίων και των βακτηρίων του γένους *Bifidobacterium* (Schleifer and Ludwig, 1995).

Όπως προαναφέρθηκε, τα οξυγαλακτικά βακτήρια ανήκουν στην τάξη Lactobacillales της κλάσης Bacilli του φύλου Firmicutes και χαρακτηρίζονται από την υψηλή ποικιλομορφία τους, καθώς σε αυτά συγκαταλέγονται έξι οικογένειες και περίπου 40 γένη (Garrity and Holt, 2001). Συγκεκριμένα, για την οικογένεια Aerococcaceae έχουν αναφερθεί 7 γένη, για την οικογένεια Carnobacteriaceae 16 γένη, για την οικογένεια Enterococcaceae 7 γένη, για την οικογένεια Lactobacillaceae 3 γένη, για την οικογένεια Leuconostocaceae 4 γένη και, τέλος, για την οικογένεια Streptococcaceae 3 γένη. Ωστόσο, τα κυριότερα γένη που σχετίζονται με τα τρόφιμα είναι αυτά των *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus* και *Carnobacterium*. (Vandamme et al., 1996). Συνεπώς, λόγω της ποικιλομορφίας των οξυγαλακτικών βακτηρίων, η ταξινόμησή τους παραμένει υπό συνεχή εξέλιξη.

Ποικίλες είναι οι τεχνικές κι οι μέθοδοι ελέγχου, οι οποίες χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση και την ταξινόμηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενδεικτικά, χρησιμοποιούνται οι ακόλουθες μέθοδοι: α) χρώση κατά Gram, β) μικροσκοπική παρατήρηση, γ) τεστ καταλάσης και οξειδάσης, δ) έλεγχος ανάπτυξης βακτηρίων, με βάση τη θερμοκρασία και την παρουσία ή απουσία οξυγόνου, ε) μεταβολικά προϊόντα (όπως παραγωγή αερίου, H₂O₂, L (+), D (-) ή DL γαλακτικού οξέος), μέσω της γλυκόλυσης, ζ) μελέτη του DNA-DNA υβριδισμού, η) φυλογενετική ανάλυση με βάση την 16S rRNA αλληλουχία, θ) ηλεκτροφορητικές μέθοδοι και ι) έλεγχος της ζύμωσης διαφόρων σακχάρων (Vandamme et al., 1996; Stiles and Holzapfel, 1997).

Με βάση τα ζυμωτικά τους χαρακτηριστικά ταξινομείται το γένος *Lactobacillus*, σύμφωνα με τον Orla-Jensen (1919). Συγκεκριμένα, το γένος *Lactobacillus* περιλαμβάνει τρεις υποομάδες: τους αυστηρά ομοζυμωτικούς, τους προαιρετικά ετεροζυμωτικούς και, τέλος, τους υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς. Έχει αποδειχθεί ότι η πλειοψηφία των υποχρεωτικά ετεροζυμωτικών βακτηρίων του γένους *Lactobacillus* σχετίζονται άμεσα με την αλλοίωση των τροφίμων. Ωστόσο, ορισμένα στελέχη των υποχρεωτικά ετεροζυμωτικών βακτηρίων και τα περισσότερα στελέχη των ομοζυμωτικών και των προαιρετικά ετεροζυμωτικών βακτηρίων χρησιμοποιούνται σε ζυμώσεις ποικίλων τροφίμων (Stiles and Holzapfel, 1997).

Επιπροσθέτως, χαρακτηριστικό του γένους *Lactobacillus* είναι ότι αποτελούν αυστηρά ζυμωτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι μικροαερόφιλοι ή αναερόβιοι και παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στα οξέα και στο χαμηλό pH των υποστρωμάτων. Επιπλέον, έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά, όπως για παράδειγμα σε υδατάνθρακες, αμινοξέα, πεπτίδια, εστέρες λιπαρών οξέων, άλατα, παράγωγα νουκλεϊκών οξέων και βιταμίνες, ενώ είναι αρνητικοί στο τεστ υπεροξειδάσης (Stiles and Holzapfel, 1997). Η παρουσία τους σε τρόφιμα με ζυμώσιμους υδατάνθρακες είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς έχουν την ικανότητα να μειώνουν το pH των υποστρωμάτων σε αρκετά όξινες τιμές (όπως pH = 4.0) και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της ανάπτυξης αρκετών παθογόνων μικροοργανισμών ή ακόμα και την εξουδετέρωσή τους. Η μέγιστη τιμή pH, στην οποία αναπτύσσονται και επιβιώνουν οι λακτοβακίλλοι, είναι το 7.2, ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχουν και εξαιρέσεις, οι οποίες εξαρτώνται από το στέλεχος και το υπόστρωμα ανάπτυξης (Stiles and Holzapfel, 1997). Στον πίνακα 2.3 παρουσιάζεται η ταξινόμηση των βακτηρίων του γένους *Lactobacillus*, η οποία βασίζεται στην κλασσική φαινοτυπική τους υποδιαίρεση και τους κατατάσσει σε τρεις ομάδες (Vandamme et al., 1996).

Οι υποχρεωτικά ομοζυμωτικοί λακτοβακίλλοι ζυμώνουν τη γλυκόζη αποκλειστικά προς γαλακτικό οξύ και δε ζυμώνουν τις πεντόζες ή το γλυκονικό οξύ και ανήκουν στην πρώτη ομάδα της ταξινόμησης. Περιέχουν σημαντικά είδη για τα τρόφιμα, όπως είναι οι *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* και *Lb. helveticus*, οι οποίοι ανήκουν στην ομάδα των thermobacteria, κατά τον Orla-Jensen (1919). Αυτά τα είδη συμμετέχουν στη ζύμωση φυτικών και γαλακτοκομικών προϊόντων, σε υψηλές θερμοκρασίες από 45 έως 50 °C, ενώ ο *Lb. acidophilus* αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς αντιπροσώπους των προβιοτικών βακτηρίων (Stiles and Holzapfel, 1997).

Πίνακας 2.3: Η ταξινόμηση των βακτηρίων του γένους *Lactobacillus*, βασιζόμενη στα φαινοτυπικά τους χαρακτηριστικά (Stiles and Holzapfel, 1997).

1 ^η ομάδα	2 ^η ομάδα	3 ^η ομάδα
Υποχρεωτικά ομοιοζυμωτικοί	Προαιρετικά ετεροζυμωτικοί	Υποχρεωτικά ετεροζυμωτικοί
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. alimentarius</i>	<i>Lb. brevis</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. fermentum</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. curvatus</i>	<i>Lb. kefir</i>
<i>Lb. kefirgranum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. parakefir</i>
<i>Lb. mali</i>	<i>Lb. sake</i> (ή <i>sakei</i>)	<i>Lb. reuteri</i>

Στην δεύτερη ομάδα της ταξινόμησης ανήκουν τα προαιρετικά ετεροζυμωτικά βακτήρια του γένους *Lactobacillus*, τα οποία έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν την γλυκόζη, με αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτικού οξέος. Παράλληλα, έχουν τη δυνατότητα να παράγουν και αέριο, στην περίπτωση που μεταβολίσουν το γλυκονικό οξύ, ωστόσο η παραγωγή αερίου δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί από τη ζύμωση της γλυκόζης. Επιπλέον, είναι αποδεδειγμένο ότι μεταβολίζουν και τις πεντόζες προς παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέος. Επιπροσθέτως, τα συγκεκριμένα βακτήρια περιέχουν σημαντικά είδη για τα τρόφιμα, όπως είναι οι *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* και *Lb. sakei*, τα οποία αντιπροσωπεύουν την ομάδα των streptobacteria, σύμφωνα με τον Orla-Jensen (1919). Χαρακτηριστικό αυτών των ειδών είναι ότι χρησιμοποιούνται ευρέως στις ζυμώσεις των τροφίμων, ωστόσο συχνά είναι υπεύθυνα και για ποικίλες αλλοιώσεις στα τελικά προϊόντα. Η δράση του *Lb. sakei* ευνοεί τη διαδικασία των ζυμώσεων φυτικών προϊόντων και ταυτόχρονα η χρήση του στις καλλιέργειες εκκίνησης είναι πολύ συχνή και αποτελεσματική. Συναντάται κυρίως στις καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ζυμούμενων προϊόντων κρέατος και η χρήση του συμβάλλει στη μείωση του υψηλού μικροβιακού φορτίου των συγκεκριμένων προϊόντων (Vogel et al., 1993; Stiles and Holzapfel, 1997).

Η τρίτη και τελευταία ομάδα των βακτηρίων του γένους *Lactobacillus* περιλαμβάνει τους υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς μικροοργανισμούς και χαρακτηρίζεται ως betabacteria από τον Orla-Jensen (1919). Οι συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να παράγουν αέριο, το οποίο αποτελεί το μεταβολικό προϊόν της ζύμωσης της γλυκόζης. Οι πιο σημαντικοί μικροοργανισμοί αυτού του είδους για τα τρόφιμα είναι οι *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. kefir*, *Lb. 38 parakefir* και *Lb. reuteri*. Οι *Lb. brevis* και *Lb. fermentum* συμμετέχουν στην παραγωγή προϊόντων ζύμης, οι *Lb. kefir* και *Lb. 38 parakefir* συμβάλλουν στη δημιουργία των κόκκων κεφίρ και ο *Lb. reuteri* είναι υπεύθυνος για την παραγωγή του αντιμικροβιακού μεταβολίτη ρεουτερίνη. Τέλος, οι υποχρεωτικά ετεροζυμωτικοί μικροοργανισμοί της συγκεκριμένης ομάδας λακτοβακίλλων ενοχοποιούνται για την αλλοίωση ποικίλων τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των τυριών, εσπεριδοειδών, χυμών, κρασιών, μπύρας και μαγιονέζας (Stiles and Holzapfel, 1997).

Όσον αφορά τα βακτήρια του γένους *Lactococcus* και ιδιαίτερα τα υποείδη του *Lc. lactis*, είναι γεγονός ότι αποτελούν τις συχνότερες και τις πιο αποτελεσματικές καλλιέργειες εκκίνησης, οι οποίες χρησιμοποιούνται διεθνώς στη βιομηχανία τροφίμων, και ιδιαίτερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα (Stiles and Holzapfel, 1997). Τα βακτηρία του γένους *Lactococcus* αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες κοντά στους 10 °C, χωρίς την ικανότητα αυτόνομης κίνησης. Επιπροσθέτως, ανήκουν στους ομοζυμωτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι παράγουν L (+) γαλακτικό οξύ από τη ζύμωση της γλυκόζης, και παρουσιάζουν ευαισθησία στους βακτηριοφάγους. Μια από τις σημαντικότερες βακτηριοσίνες είναι η νισίνη, η οποία παράγεται από ορισμένα στελέχη του *Lc. lactis*, και αποτελεί μια εγκεκριμένη βακτηριοσίνη που χρησιμοποιείται σε ποικίλες κατηγορίες τροφίμων. Η χρήση της νισίνης επιτρέπεται σε πολλές χώρες, καθώς και στα κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Οδηγία 95/2/EK).

Όσον αφορά το γένος *Streptococcus*, το είδος με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι αυτό του *S. thermophilus*. Ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός είναι σχετικά θερμοάντοχος και έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε υψηλές θερμοκρασίες, οι οποίες φτάνουν έως και τους 50 °C, ωστόσο δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, όπως για παράδειγμα στους 15 °C. Επιπλέον, χρησιμοποιείται ως καλλιέργεια εκκίνησης σε ποικίλα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων του τυριού και της γιαούρτης, κυρίως σε συνδυασμό με άλλες καλλιέργειες μικροοργανισμών (Stiles and Holzapfel, 1997).

Φυλογενετική ετερογένεια παρουσιάζουν τα βακτήρια του γένους *Pediococcus*, στα οποία περιλαμβάνονται κυρίως ομοζυμωτικοί μικροοργανισμοί (Stiles and Holzapfel, 1997). Τα κυριότερα είδη του γένους είναι τα *P. damnosus*, *P. dextrinicus* και *P. parvulus*, τα οποία ανήκουν στους υποχρεωτικά ομοζυμωτικούς μικροοργανισμούς, το *P. acidilactici*, που ανήκει στους προαιρετικά ετεροζυμωτικούς, και το *P. pentosaceus*, που κατατάσσεται στους υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς, σύμφωνα με την ταξινόμηση των Vandamme et al., (1996). Επιπλέον, ως καλλιέργειες εκκίνησης σε αλλαντικά ωρίμανσης χρησιμοποιούνται διεθνώς τα βακτήρια του γένους *Pediococcus* και ιδιαίτερα τα είδη των *P. acidilactici* και *P. pentosaceus*. Τα συγκεκριμένα είδη έχουν την ικανότητα να παράγουν τις πεδιοσίνες, οι οποίες αποτελούν βακτηριοσίνες ευρέως αντιμικροβιακού φάσματος. Τέλος, ορισμένα είδη του γένους *Pediococcus* είναι εξαιρετικά θερμοάντοχα και ταυτόχρονα παρουσιάζουν υψηλή ανθεκτικότητα σε ακραίες τιμές pH και σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το είδος *P. acidilactici*, το οποίο αναπτύσσεται στους 50 °C και, επομένως, αποτελεί έναν θερμοάντοχο μικροοργανισμό (Stiles and Holzapfel, 1997).

Όσον αφορά το γένος *Leuconostoc*, είναι αποδεδειγμένο ότι αποτελεί κυρίαρχο γένος των οξυγαλακτικών βακτηρίων στα ζυμούμενα φυτικά προϊόντα και τα ενσιρώματα. Ορισμένα είδη του γένους, όπως για παράδειγμα τα *L. carnosum* και *L. gelidum*, συμμετέχουν στη ζύμωση προϊόντων κρέατος. Τέλος, το είδος *L. gelidum* έχει την ικανότητα να λειτουργεί και ως βιοσυντηρητικό στα νωπά κρέατα (Leisner et al., 1996).

Τα βακτήρια του γένους *Carnobacterium*, παρόλο που αρχικά είχαν ταξινομηθεί στο γένος *Lactobacillus*, εν συνεχεία διαπιστώθηκε ότι παρουσίαζαν υψηλότερη συγγένεια με τα γένη των *Enterococcus* και *Vagococcus*. Είδη, όπως είναι τα *C. divergens*, *C. piscicola* και *C. carnis*, συμμετέχουν στις ζυμώσεις προϊόντων κρέατος και ιχθυηρών. Τα βασικότερα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων ειδών είναι ότι αποτελούν ετεροζυμωτικούς μικροοργανισμούς, μη σποριογόνους και θετικούς κατά Gram. Επιπροσθέτως, στο τεστ καταλάσης είναι αρνητικοί και έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε πολύ υψηλές τιμές pH (pH = 9.5). Επιπλέον, τα συγκεκριμένα είδη παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στο θαλλικό οξύ και στα αντιβιοτικά, καθώς και στις αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος, όπως για παράδειγμα σε συντήρηση υπό ψύξη και σε συσκευασία υπό κενό. Τέλος, έχουν αυξημένες θρεπτικές απαιτήσεις, κυρίως σε βιταμίνες (Collins et al., 1991).

Όσον αφορά τα βακτήρια του γένους *Enterococcus*, ενοχοποιούνται για πολλές λοιμώξεις και ιδιαίτερα το είδος του *E. Faecalis*, το οποίο ευθύνεται για ενδοκαρδίτιδες, για προβλήματα του ουροποιητικού και για νοσοκομειακές λοιμώξεις. Συνηθέστερα, τα βακτήρια του συγκεκριμένου γένους συναντώνται στο πεπτικό σύστημα των ανθρώπων, των ζώων και ιδιαίτερα των πουλερικών, καθώς και στο περιβάλλον αυτών. Επιπροσθέτως, οι εντερόκοκκοι αποτελούν ομοζυμωτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι αναπτύσσονται στους 10 °C και στους 45 °C, σε τιμές pH έως και 9.6 και σε συγκεντρώσεις άλατος που φτάνουν έως και το 6.5% NaCl. Επιπλέον, έχουν την ικανότητα να επιβιώσουν για 30 λεπτά στους 60 °C και, τέλος, ευθύνονται για την παραγωγή L(+) γαλακτικού οξέος από τη ζύμωση της γλυκόζης. Τέλος, τα βακτήρια του γένους *Enterococcus* χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης σε ποικίλα τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένων και των τυριών, παράλληλα χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά, για την πρόληψη και την αντιμετώπιση εντερικών λοιμώξεων σε ανθρώπους και σε ζώα, αλλά και ως δείκτες μικροβιολογικής μόλυνσης των τροφίμων (Stiles and Holzapfel, 1997).

2.3.3.1. Μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά ορισμένων γενών των οξυγαλακτικών βακτηρίων

Το γένος *Streptococcus*

Η περιγραφή των στελεχών του γένους *Streptococcus* βασίζεται στα φυσιολογικά, μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του βακτηριακού κυττάρου. Πιο αναλυτικά, όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, το συγκεκριμένο γένος έχει αποδειχθεί ότι σχηματίζει κόκκους και, επομένως, όταν τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται, έχουν την ικανότητα να ενωθούν, με αποτέλεσμα την δημιουργία μεγάλων αλυσίδων. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί ότι το συγκεκριμένο γένος αποτελείται από ένα μεγάλο εύρος μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων και ισχυρών παθογόνων. Ενδεικτικά, τα βακτήρια *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* και *S. agalactiae*, τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των ισχυρών παθογόνων μικροοργανισμών, η εντερική ομάδα *S. faecalis* και *S. faecium*, αλλά και τα βακτήρια *S. cremoris* και *S. lactis*, που χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης, αποτελούν

ορισμένους ιδιαίτερα σημαντικούς μικροοργανισμούς του γένους *Streptococcus*. Επιπλέον, ένα από τα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων μικροοργανισμών είναι ότι έχουν υψηλές και πολύπλοκες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά, ούτως ώστε να αναπτυχθούν, με αποτέλεσμα η ανάπτυξή τους να ευνοείται, κυρίως, σε περιβάλλοντα με επαρκείς συγκεντρώσεις πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Τέτοια περιβάλλοντα, τα οποία αποτελούν ιδανικά υποστρώματα για την ανάπτυξη των βακτηρίων του γένους *Streptococcus*, είναι οι ιστοί του εντερικού σωλήνα των ανθρώπων και των ζώων, αλλά και διάφορες κατηγορίες τροφίμων, όπως είναι για παράδειγμα το γάλα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα λαχανικά κ.α. Τέλος, οι στρεπτόκοκκοι, σύμφωνα με το εξελικτικό δέντρο της κλωστριδικής υποομάδας των θετικών κατά Gram βακτηρίων, διακρίνονται σε τρία είδη: τους *Streptococcus sensu stricto*, τους *Enterococcus* και τους *Lactococcus* (Schleifer and Kilpper-Balz, 1987).

Είναι γεγονός ότι από όλα τα είδη του γένους *Streptococcus*, μόνο το είδος *S. thermophilus* παρουσιάζει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον, καθώς αποτελεί το μοναδικό στέλεχος που χρησιμοποιείται ως καλλιέργεια εκκίνησης στη βιομηχανία τροφίμων και ιδιαίτερα στην γαλακτοβιομηχανία για την παρασκευή γιαουρτιών και τυριών. Τα βακτηριακά κύτταρα του συγκεκριμένου μικροοργανισμού έχουν σφαιρικό ή ωοειδές σχήμα, με διάμετρο μικρότερη του 1μm, και όταν πολλαπλασιαστούν, σχηματίζουν ζεύγη ή αλυσίδες. Όπως προαναφέρθηκε, ο σχηματισμός ζευγών ή αλυσίδων είναι ένα μορφολογικό χαρακτηριστικό, το οποίο διαθέτουν και τα υπόλοιπα είδη του γένους *Streptococcus*. Επιπροσθέτως, το είδος *S. thermophilus* έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε αρκετά υψηλές θερμοκρασίες, οι οποίες κυμαίνονται από 40 έως και 50 °C, και για να επιτευχθεί η βέλτιστη ανάπτυξή του παρουσιάζει αυξημένες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά, κυρίως σε βιταμίνες του συμπλέγματος B και σε ορισμένα αμινοξέα.

Όσον αφορά τη χρήση του είδους *S. thermophilus* στις καλλιέργειες εκκίνησης, ισχύει ότι γίνεται σε συνδυασμό με άλλα είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων και συγκεκριμένα τα κυριότερα στελέχη, τα οποία συμμετέχουν μαζί με το *S. thermophilus*, είναι τα *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus lactis* και *Lactobacillus helveticus*. Έχει αποδειχθεί ότι σε αρκετά γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως στη γιαούρτη, οι καλλιέργειες εκκίνησης ανάμεικτων στελεχών παρουσιάζουν βέλτιστη θερμοκρασία επώασης σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 40 °C. Όσον αφορά την ανάπτυξη των βακτηρίων *S. thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, έχει επιβεβαιωθεί ότι υπάρχει μια συνεργιστική σχέση μεταξύ των δύο αυτών στελεχών. Συγκεκριμένα, το βακτήριο *S. thermophilus* συμβάλλει στην ανάπτυξη του *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, καθώς είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του φουμαρικού οξέος, το οποίο αποτελεί προϊόν που ευνοεί την ανάπτυξη του λακτοβακίλλου. Τέλος, και το βακτήριο *S. thermophilus* ευνοείται από την ανάπτυξη του βακτηρίου *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, διότι ο συγκεκριμένος λακτοβάκιλλος χαρακτηρίζεται από την πρωτεολυτική δράση του, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη του στρεπτόκοκκου στο γάλα (Καλατζόπουλος, 2002).

Το γένος *Lactobacillus*

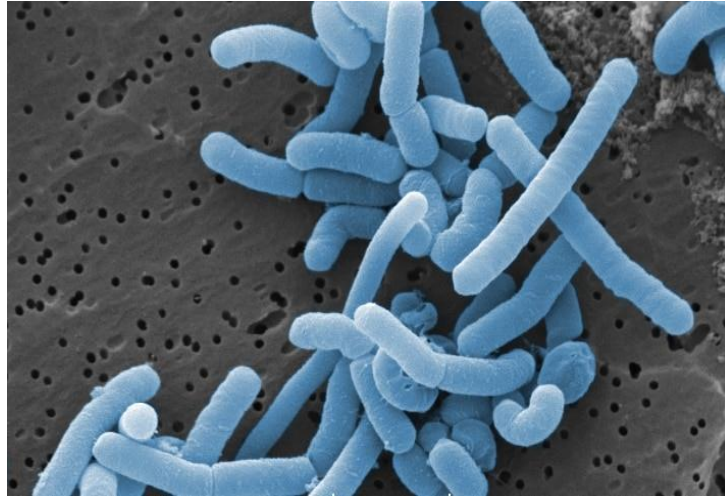
Τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* αποτελούν αποκλειστικά ζυμωτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από τις πολύπλοκες απαιτήσεις τους σε θρεπτικά συστατικά. Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί ότι τα συγκεκριμένα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα όχι μόνο να αναπτύσσονται και να επιβιώνουν σε όξινα περιβάλλοντα, αλλά και να μειώνουν τις τιμές του pH στα τρόφιμα που αναπτύσσονται. Η πτώση των τιμών του pH του τροφίμου από τα οξυγαλακτικά βακτήρια επιτυγχάνεται μέσω της γλυκόλυσης, δηλαδή μέσω του μεταβολισμού των υδατανθράκων του υποστρώματος προς παραγωγή γαλακτικού οξέος και άλλων προϊόντων. Επομένως, αυτή η τροποποίηση προς την όξινη περιοχή του pH αποτελεί την κυριότερη αιτία παρεμπόδισης της ανάπτυξης ανεπιθύμητων ή παθογόνων μικροοργανισμών και επιφέρει ακόμα και την θανάτωσή τους. Επιπλέον, τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus* χρησιμοποιούνται συχνά ως καλλιέργειες εκκίνησης και ιδιαίτερα σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων, όπως είναι για παράδειγμα τα τυριά, τα προϊόντα κρέατος, τα λαχανικά και τα κρασιά.

Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά των λακτοβακίλλων είναι ότι διακρίνονται σε υποχρεωτικά ομοζυμωτικούς, προαιρετικά ετεροζυμωτικούς και υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς, ανάλογα με τον χαρακτήρα της ζύμωσης του εκάστοτε τροφίμου. Όπως προαναφέρθηκε, τα υποχρεωτικά ομοζυμωτικά βακτήρια μεταβολίζουν τις εξόζες προς παραγωγή γαλακτικού οξέος, τα υποχρεωτικά ετεροζυμωτικά βακτήρια μεταβολίζουν αποκλειστικά τις πεντόζες προς παραγωγή γαλακτικού οξέος και τα προαιρετικά ετεροζυμωτικά βακτήρια είτε μεταβολίζουν τις εξόζες και παράγουν γαλακτικό οξύ, είτε μεταβολίζουν το γλυκονικό οξύ και παράγουν CO₂. Τέλος, τα προαιρετικά ετεροζυμωτικά βακτήρια έχουν και την ικανότητα να μεταβολίζουν τις πεντόζες προς παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέος.

Στην κατηγορία των ομοζυμωτικών λακτοβακίλλων ανήκουν τα στελέχη των *Lb. delbruekii*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. farmicinis* και *Lb. kefirafaciens*. Όσον αφορά το *Lb. acidophilus*, χρησιμοποιείται για την παραγωγή ξινόγαλου και ταξινομείται, όπως και το *Lb. jensoni*, στην κατηγορία των προβιοτικών βακτηρίων. Τέλος, το *Lb. delbruekii* συμπεριλαμβάνει τα στελέχη των *Lb. delbruekii* subsp. *delbruekii bulgaricus* και *lactis*, τα οποία χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες στην παρασκευή γιαουρτιών και τυριών.

Στην κατηγορία των προαιρετικά ετεροζυμωτικών λακτοβακίλλων ανήκουν τα στελέχη των *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus* και *Lb. plantarum*. Ιδιαίτερα σημαντικό βακτήριο αυτής της κατηγορίας θεωρείται το *Lb. casei*, το οποίο εντοπίζεται στα γαλακτοκομικά προϊόντα, τον εντερικό σωλήνα, κ.α.

Τέλος, στην κατηγορία των υποχρεωτικά ετεροζυμωτικών λακτοβακίλλων ανήκουν το στέλεχος του *Lb. sanfrancisco*. Το συγκεκριμένο βακτήριο συμμετέχει στη ζύμωση του ψωμιού και είναι υπεύθυνο για τον μεταβολισμό της μαλτόζης, παράγοντας γαλακτικό και οξικό οξύ (Stiles and Holzapfel, 1997).



Εικόνα 2.2: Απεικόνιση του οξυγαλακτικού βακτηρίου *Lactobacillus paracasei* σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Το συγκεκριμένο βακτήριο αποτελεί μικροοργανισμό που παράγει βακτηριοσίνες. (<https://www.thermofisher.com/blog/food/lactic-acid-bacteria-the-food-friendly-source-for-antimicrobial-bacteriocins/>).

Το γένος *Lactococcus*

Είναι γεγονός ότι παλαιότερα η πλειοψηφία των βακτηρίων που ανήκουν στο γένος *Lactococcus* κατατάσσονταν στα γένη των *Streptococcus* και *Lactobacillus*. Έπειτα, το συγκεκριμένο γένος αναγνωρίστηκε και καθιερώθηκε, με αποτέλεσμα όλα τα στελέχη να ταξινομηθούν εκ νέου στην κατηγορία των λακτόκοκκων (Schleifer et al., 1985). Συγκεκριμένα, το γένος αυτό περιλαμβάνει τα στελέχη των *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *hordniae*, *Lc. garvieae*, *Lc. piscium*, *Lc. plantarum* και *Lc. raffinolactis*. Τα στελέχη *Lc. lactis* subsp. *lactis* και *cremoris* είναι ιδιαίτερα σημαντικά, καθώς χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τις ζυμώσεις των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Χαρακτηριστικό των βακτηρίων του γένους *Lactococcus* είναι το ωοειδές τους σχήμα, μεγέθους από 0,5 έως 1,5 μm , καθώς και ο σχηματισμός ζευγών και κοντών αλυσίδων από τα κύτταρά τους. Επιπροσθέτως, οι λακτόκοκκοι αναπτύσσονται σε ένα εύρος θερμοκρασιών που κυμαίνεται από τους 10 έως τους 30 °C, με βέλτιστη θερμοκρασία αυτή των 30 °C. Ωστόσο, δεν έχουν την δυνατότητα να αναπτυχθούν σε υψηλότερες θερμοκρασίες, όπως αυτή των 45 °C. Αποτελούν υποχρεωτικά ομοζυμωτικά βακτήρια, τα οποία παράγουν L (+) γαλακτικό οξύ. Τέλος, χαρακτηρίζονται από τις πολύπλοκες τροφικές τους απαιτήσεις και αποτελούν αυξοτροφικά βακτήρια για ορισμένες πρωτεΐνες και αμινοξέα.

Το γένος *Leuconostoc* spp.

Τα βακτήρια του γένους *Leuconostoc* αποτελούν ετεροζυμωτικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τις πεντόζες, παράγοντας D (+) γαλακτικό οξύ. Τα στελέχη αυτού του γένους έχουν πολύπλοκες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά, κυρίως σε ορισμένα αμινοξέα, πεπτίδια, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μεταλλικά ιόντα. Μορφολογικά εμφανίζονται ως

κοντοί βάκιλλοι, οι οποίοι σχηματίζουν ζεύγη ή αλυσίδες και έχουν μέγεθος μεταξύ 0,5 – 0,7 x 0,7 – 1,2 μm. Τέλος, τα στελέχη *Leuconostoc argentinum*, *carneum*, *citreum*, *fallax*, *gelidum*, *lactis*, *mesenteroides* subsp. *cremoris*, *menteroides* subsp. *dextranicum*, *mesenteroides* subsp. *mesenteroides* και *pseudo-mesenteroides* ανήκουν στην συγκεκριμένη κατηγορία οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Το γένος *Bifidobacterium* spp.

Τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium* ανήκουν στην κατηγορία των θετικών κατά Gram βακτηρίων και αποτελούν αναερόβιους, μη σποριογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι δεν έχουν την ικανότητα αυτόνομης κίνησης. Το συγκεκριμένο γένος αρχικά κατατασσόταν στα είδη του γένους *Lactobacillus*, ωστόσο μεταγενέστερα διαχωρίστηκε από τους λακτοβάκιλλους και από τα υπόλοιπα βακτήρια του γαλακτικού οξέος. Ο διαχωρισμός αυτός επετεύχθη με την εφαρμογή των τεχνικών της μοριακής ταξινόμησης. Μέσω αυτών των τεχνικών αποδείχθηκε ότι τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium* διαφέρουν ως προς το υψηλότερο ποσοστό βάσεων G + C που έχουν στο DNA τους, συγκριτικά με τα υπόλοιπα οξυγαλακτικά βακτήρια. Επιπλέον, τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium* συναντώνται στη φυσική εντερική χλωρίδα των ανθρώπων και των ζώων και συμβάλλουν στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών στον εντερικό σωλήνα. Οι θερμοκρασίες, στις οποίες αναπτύσσονται τα βακτήρια, κυμαίνονται από 20 έως 46 °C και καταστρέφονται σε υψηλότερες θερμοκρασίες, όπως στους 60 °C. Όσον αφορά το pH, το βέλτιστο pH για την ανάπτυξή τους κυμαίνεται μεταξύ 6,5 και 7,0, ενώ δεν αναπτύσσονται καθόλου σε pH μικρότερο από 5,1 ή μεγαλύτερο από 8,0. Η ονομασία τους οφείλεται στις δισχιδή μορφές που παρουσιάζουν και ανάλογα με το θρεπτικό υπόστρωμα, στο οποίο αναπτύσσονται, εμφανίζουν χαρακτηριστικά σχήματα, όπως για παράδειγμα Y, X, V, με λεπτότερο κέντρο και με πιο χοντρά άκρα και με κοκκοειδή ή βακιλλόμορφα κύτταρα (Tamime, 2002).

Επιπροσθέτως, τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium* ανήκουν στα ετεροζυμωτικά βακτήρια και, επομένως, μεταβολίζουν την γλυκόζη, παράγοντας γαλακτικό και οξικό οξύ. Στα συγκεκριμένα βακτήρια συγκαταλέγονται περισσότερα από 30 είδη και η προέλευσή τους ποικίλει. Πιο αναλυτικά, μπορούν να εντοπιστούν στους ανθρώπους, στα ζώα, στα έντομα, στο περιβάλλον, κ.α. Είναι αποδεδειγμένο ότι τα βακτήρια του συγκεκριμένου γένους, ανάλογα με την προέλευσή τους, παρουσιάζουν διαφορετικά χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα, τα είδη που συναντώνται στην εντερική χλωρίδα του ανθρώπου διαφέρουν από τα είδη που βρίσκονται στην εντερική χλωρίδα των ζώων (Mitsuoka, 1984). Τα είδη που εντοπίζονται στον άνθρωπο είναι τα *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. adolescentis* και *B. pseudocatenulatum*, ενώ στα ζώα εντοπίζονται κυρίως τα *B. pseudolongum*, *B. thermophilus* και *B. animalis*. Όσον αφορά στην βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων, χρησιμοποιούνται για την παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων κυρίως έξι είδη από τα βακτήρια του γένους *Bifidobacterium*, τα είδη *B. adolescentis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. lactis* και *B. longum*.

2.4.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και οι μεταβολικές τους ιδιότητες

Είναι αποδεδειγμένο ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια αποτελούν μια κατηγορία μικροοργανισμών, οι οποίοι έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και για να αναπτυχθούν χρειάζονται υδατάνθρακες, αμινοξέα, βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία. Επιπροσθέτως, υπάρχουν και κάποιες περιπτώσεις, όπου ορισμένες κατηγορίες οξυγαλακτικών βακτηρίων, για να αναπτυχθούν χρειάζονται ειδικούς αυξητικούς παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα ο ορός του γάλακτος. Είναι γεγονός ότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τα σάκχαρα, δηλαδή τους υδατάνθρακες, αλλά και συγγενείς ενώσεις τους, προς παραγωγή ποικίλων προϊόντων, χρησιμοποιώντας διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια. Επιπλέον, η φωσφορυλίωση σε επίπεδο υποστρώματος έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ενέργειας, δηλαδή την παραγωγή ATP, η οποία συμβάλλει σε διάφορες λειτουργίες. Ενδεικτικά, η μεταφορά ενώσεων διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης και ορισμένοι βιοσυνθετικοί σκοποί αποτελούν μερικές από αυτές τις λειτουργίες, οι οποίες για να επιτευχθούν χρησιμοποιούν ATP.

Μια από τις σημαντικότερες λειτουργίες των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι η ζύμωση των υδατανθράκων, η οποία πραγματοποιείται είτε ομοζυμωτικά (γλυκόλυση ή μονοπάτι Embden-Meyerhof-Parnas, EMP), είτε ετεροζυμωτικά (μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών). Η μεταφορά και η φωσφορυλίωση της γλυκόζης επιτυγχάνεται με την μεταφορά του ελεύθερου σακχάρου και στη συνέχεια με τη φωσφορυλίωσή του από μια ATP-εξαρτώμενη γλυκοκινάση. Επιπροσθέτως, ορισμένα είδη των οξυγαλακτικών βακτηρίων ακολουθούν το σύστημα της φωσφο-τρανσφεράσης (Phosphotransferase system, PTS), το οποίο εξαρτάται από το φωσφο-ενολο-πυροσταφυλικό οξύ (Phosphoenolpyruvate, PEP) και το συγκεκριμένο σύστημα ονομάζεται συνοπτικά PEP-PTS, όπου το PEP αποτελεί τον δότη της φωσφορικής ομάδας (Postma et al., 1993).

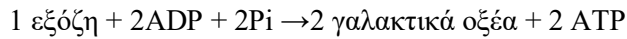
Όσον αφορά την ομοζυμωτική ζύμωση (homofermentation), είναι υπεύθυνη για την διαδικασία της γλυκόλυσης, μέσω του μεταβολισμού των εξοζών από συγκεκριμένα στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων των γενών *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* και *Pediococcus*. Επιπροσθέτως, στην ομοζυμωτική ζύμωση διασπάται η 1,6-διφωσφοφρουκτόζη (FDP), μέσω της δράσης της 1,6-διφωσφορικής αλδολάσης, και από αυτή τη διάσπαση προέρχονται δύο ίσο-τριόζες, η 3-φωσφο-γλυκεριναλδεΐδη (GAP) και, τέλος, η φωσφο-διυδροξυ-ακετόνη. Εν συνεχεία, το πυροσταφυλικό οξύ σχηματίζεται από την 3-φωσφο-γλυκεριναλδεΐδη, το οποίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Το γαλακτικό οξύ αποτελεί το μοναδικό προϊόν της συγκεκριμένης μεταβολικής οδού (Axelsson, 1998; Kandler, 1983).

Όσον αφορά την ετεροζυμωτική ζύμωση (heterofermentation), χαρακτηρίζεται από την παραγωγή 6-φωσφο-γλυκονικού οξέος, μέσω της οξειδωσης της γλυκόζης, η οποία προκαλείται από ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια. Εν συνεχεία, αφού παραχθεί το συγκεκριμένο οξύ, ακολουθεί η αποκαρβοξυλίωση του, η οποία είναι υπεύθυνη για τον σχηματισμό της πεντόζης. Έπειτα, μέσω της δράσης μιας φωσφοκετολάσης, η πεντόζη διασπάται και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή της 3-φώσφο-γλυκεριναλδεΐδης και του ακετυλο-φωσφορικού οξέος. Η συγκεκριμένη μεταβολική

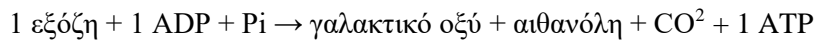
οδός έχει ως τελικά προϊόντα της το CO₂, την αιθανόλη και το γαλακτικό οξύ, τα οποία παράγονται μέσω της ζύμωσης της εξόζης. Τα βασικότερα στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία συμμετέχουν στη συγκεκριμένη ζύμωση, είναι τα βακτήρια του γένους *Leuconostoc* και ορισμένα στελέχη του *Lactobacillus spp.* Τέλος, τα ετεροζυμωτικά βακτήρια συμβάλλουν στην παραγωγή ενέργειας, μέσω της αναγέννησης του NADH, χρησιμοποιώντας εξωτερικούς δέκτες ηλεκτρονίων.

Ακολουθούν οι δύο εξισώσεις, που ισχύουν στην ομοζυμωτική και στην ετεροζυμωτική ζύμωση αντίστοιχα:

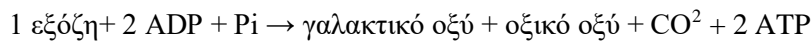
Στην ομοζυμωτική ζύμωση ισχύει η ακόλουθη εξίσωση:



Στην ετεροζυμωτική ζύμωση ισχύει η ακόλουθη εξίσωση:

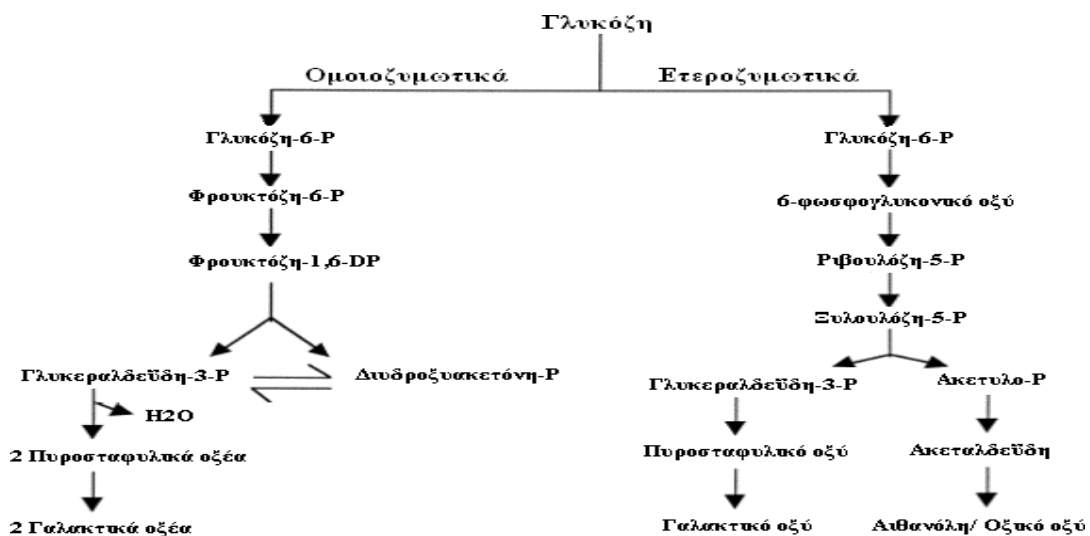


ή όταν υπάρχει εξωτερικός δέκτης ηλεκτρονίων, η εξίσωση έχει την ακόλουθη μορφή:



2.4.1.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια και ο μεταβολισμός των σακχάρων

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν σάκχαρα, κυρίως τις εξόζες, προς παραγωγή γαλακτικού οξέος. Το γαλακτικό οξύ, που αποτελεί το τελικό προϊόν του μεταβολισμού των σακχάρων, μπορεί να είναι της μορφής L (+), ή D (-) ή να είναι ρακεμικό μίγμα (DL) και των δύο ισομερών (Caplice and Fitzgerald, 1999). Έχει αποδειχθεί ότι ο ανθρώπινος οργανισμός δεν μπορεί να μεταβολίσει το D (-) γαλακτικό οξύ και, επομένως, δεν ενδείκνυται η κατανάλωση των τροφίμων, που περιέχουν το συγκεκριμένο οξύ, από τα βρέφη και τα μικρά παιδιά (WHO, 1974). Στο σχήμα 2.1 που ακολουθεί παρουσιάζεται η αποικοδόμηση των εξοζών από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, μέσω των δύο κυριότερων μεταβολικών οδών, της ομοζυμωτικής και της ετεροζυμωτικής ζύμωσης.



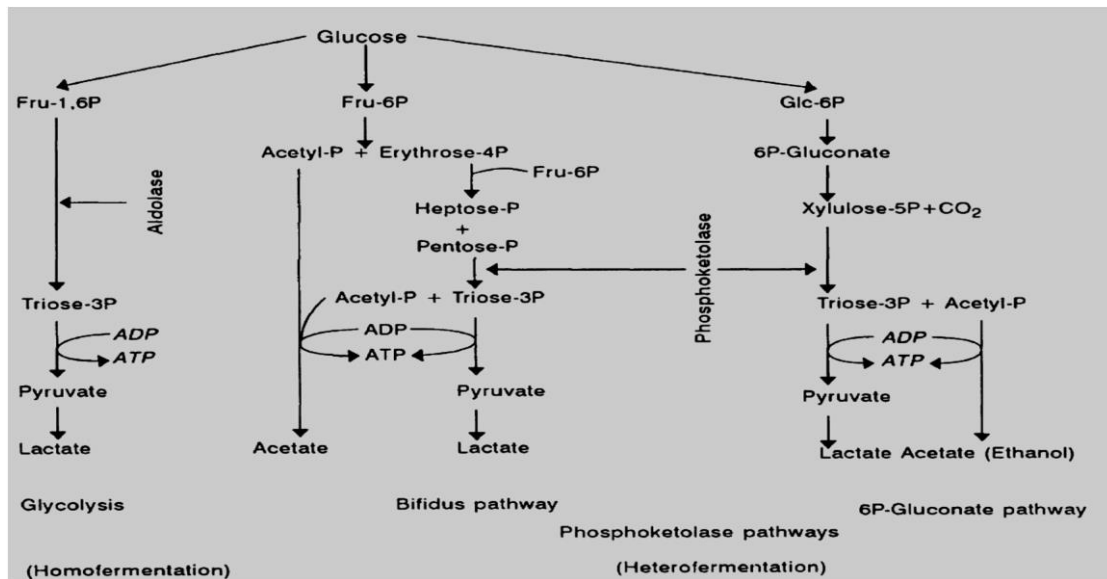
Σχήμα 2.1: Η σχηματική απεικόνιση της αποικοδόμησης της γλυκόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Caplice and Fitzgerald, 1999).

Όπως ειπώθηκε και προηγουμένως, τα οξυγαλακτικά βακτήρια κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες, με βάση τις μεταβολικές οδούς που ακολουθούν. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν τα υποχρεωτικός ομοζυμωτικά βακτήρια, τα οποία χρησιμοποιούν τη μεταβολική οδό των Embden-Meyerhof-Parnas. Τα μεταβολικά προϊόντα της συγκεκριμένης οδού είναι δύο μόρια γαλακτικού οξέος, τα οποία προέρχονται από τη διάσπαση ενός μορίου γλυκόζης (εξόζης). Εν συντομία, η γλυκόζη, μέσω της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεΐδης, μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ, παράγοντας 2 μόρια ATP από ένα μόριο γλυκόζης, μέσω φωσφορυλίωσης σε επίπεδο υποστρώματος. Πιο αναλυτικά, το ένζυμο FDA αλδολάση παράγεται από τα ομοζυμωτικά βακτήρια και συμβάλλει καταλυτικά στην διάσπαση της εξόζης, προς παραγωγή δύο τριοζών. Εν συνεχεία, οι δύο τριόζες μετατρέπονται σε γαλακτικό οξύ και η συγκεκριμένη παραγωγή του γαλακτικού οξέος ακολουθείται από την παράλληλη παραγωγή δύο μορίων ATP. Σε αντίθεση με τις εξόζες, οι πεντόζες δεν μπορούν να ζυμωθούν από τα ομοζυμωτικά βακτήρια και αυτό συμβαίνει λόγω του ότι τα συγκεκριμένα βακτήρια δεν διαθέτουν το ένζυμο φωσφοκετολάση, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη διάσπαση των πεντοζών. Τέλος, σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Orla-Jensen (1919), τα γένη των *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, η πλειοψηφία των ειδών του γένους *Pediococcus* και ποικίλα είδη του γένους *Lactobacillus*, στα οποία συμπεριλαμβάνονται μεταξύ άλλων και τα είδη των *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus* και *Lb. kefirgranum*, αποτελούν τα κυριότερα βακτήρια που ανήκουν στην κατηγορία των υποχρεωτικών ομοζυμωτικών βακτηρίων (Vandamme et al., 1996; Stiles and Holzapfel, 1997).

Στην δεύτερη κατηγορία ανήκουν τα υποχρεωτικός ετεροζυμωτικά βακτήρια, τα οποία χρησιμοποιούν τη μεταβολική οδό του κύκλου του 6-φωσφογλυκονικού οξέος/φωσφοκετολάσης. Χαρακτηριστικό των ετεροζυμωτικών βακτηρίων είναι η έλλειψη των ενζύμων αλδολάσης της 1,6-δισφωφορικής φρουκτόζης και της ισομεράσης των φωσφορικών τριοζών, τα οποία αποτελούν σημαντικά ένζυμα της γλυκολυτικής οδού. Τα μεταβολικά προϊόντα της συγκεκριμένης οδού είναι ένα μόριο CO₂, ένα μόριο γαλακτικού οξέος και αιθανόλης ή οξικού οξέος, με την ταυτόχρονη παραγωγή ενός μορίου ATP, και προέρχονται από τη διάσπαση ενός μορίου γλυκόζης (εξόζης) (Shaw et al., 1984; Axelsson, 1993; Stiles and Holzapfel, 1997; Caplice and Fitzgerald, 1999). Πιο αναλυτικά, η οξειδωση της 6-φωσφογλυκόζης από τα ετεροζυμωτικά βακτήρια είναι υπεύθυνη για την παραγωγή του 6-φωσφογλυκονικού οξέος, το οποίο στη συνέχεια με αποκαρβοξυλίωση μετατρέπεται σε πεντόζη. Όταν διασπαστεί η πεντόζη, παράγονται ισομοριακές ποσότητες των προαναφερθέντων τελικών προϊόντων (C-3 και C-2). Συγκεκριμένα, η διάσπαση της 6-φωσφορικής πεντόζης πραγματοποιείται από το ένζυμο φωσφοκετολάση, το οποίο διατίθεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, προς παραγωγή της 3-φωσφορικής γλυκεριναλδεΐδης και του ακετυλο-φωσφορικού οξέος. Η παραγόμενη 3-φωσφορική γλυκεριναλδεΐδη εισέρχεται στη γλυκολυτική οδό, με αποτέλεσμα την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Ενώ, το ακετυλο-φωσφορικό οξύ ευθύνεται για την παραγωγή της αιθανόλης ή του οξικού οξέος, καθώς και για την παραγωγή ATP. Για να παραχθεί η αιθανόλη πρέπει να γίνει αναγωγή του ακετυλο-φωσφορικού οξέος, μέσω του ακετυλο-

CoA και της ακεταλδεΐδης. Για να παραχθεί το οξικό οξύ πρέπει να αποφωσφορυλιωθεί το ακετυλο-φωσφορικό οξύ, ακολουθούμενη από παραγωγή ATP. Τέλος, υπάρχει και η περίπτωση όπου το ακετυλο-φωσφορικό οξύ ενώνεται με ένα μόριο CoA, που στη συνέχεια ανάγεται προς ακεταλδεΐδη. Η παραγόμενη ακεταλδεΐδη ανάγεται προς αιθανόλη, ούτως ώστε να επιτευχθεί η αναγέννηση του NAD και να αποκτήσει την οξειδωμένη του μορφή (Law, 1997). Σύμφωνα με τον Kandler (1983), το δυναμικό οξειδοαναγωγής του συστήματος ευθύνεται για την αναλογία της αιθανόλης και του οξικού οξέος που παράγεται στη ζύμωση, ενώ στην περίπτωση που υπάρχει O₂ ή φρουκτόζη, η παραγωγή αιθανόλης αναστέλλεται και αυξάνεται η παραγωγή H₂O₂ ή μαννιτόλης, αντίστοιχα. Τέλος, τα γένη *Leuconostoc* και *Carnobacterium*, το υπογένος betabacteria του γένους *Lactobacillus*, με κυριότερους εκπροσώπους τους *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. kefir*, *Lb. reuteri* και τον *Pediococcus pentosaceus*, αποτελούν τα κυριότερα βακτήρια που ανήκουν στην κατηγορία των υποχρεωτικά ετεροζυμωτικών βακτηρίων (Vandamme et al., 1996; Stiles and Holzapfel, 1997).

Στη τρίτη και τελευταία κατηγορία ανήκουν τα προαιρετικώς ετεροζυμωτικά βακτήρια, τα οποία μεταβολίζουν τις εξόζες, χρησιμοποιώντας την ίδια μεταβολική οδό που ακολουθούν τα ομοζυμωτικά βακτήρια, καθώς και τις πεντόζες, με την ίδια μεταβολική οδό που χρησιμοποιούν τα ετεροζυμωτικά βακτήρια. Επιπλέον, η ικανότητα των προαιρετικά ετεροζυμωτικών βακτηρίων να μεταβολίζουν τις πεντόζες επιτυγχάνεται, μέσω της παρουσίας της επαγωγίμης φωσφοκετολάσης, η οποία ενεργοποιείται και, εν συνεχεία, διασπά τα συγκεκριμένα σάκχαρα (Kandler, 1983; Axelsson, 1993; Stiles and Holzapfel, 1997). Επιπροσθέτως, ορισμένες από τις ετεροζυμωτικές μεταβολικές οδούς, που ακολουθούν τα προαιρετικώς ετεροζυμωτικά βακτήρια, είναι υπεύθυνες και για διάφορες αλλαγές στις συνθήκες ανάπτυξης, όπως είναι για παράδειγμα η έλλειψη της διαθεσιμότητας της γλυκόζης (Borch et al., 1991). Το υπογένος streptobacteria του γένους *Lactobacillus* και ιδιαίτερα τα είδη των *Lb. alimentarius*, *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum* και *Lb. sakei*, καθώς και το είδος *Pediococcus acidilactici* από το γένος *Pediococcus* αποτελούν τα κυριότερα βακτήρια που ανήκουν στην κατηγορία των προαιρετικά ετεροζυμωτικών βακτηρίων (Vandamme et al., 1996; Stiles and Holzapfel, 1997). Τέλος, η παρουσία των γλυκολυτικών ενζύμων στα οξυγαλακτικά βακτήρια συμβάλλει στη διάσπαση των πολυσακχαριτών και αυτή η διάσπαση έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή των μονοσακχαριτών και των δισακχαριτών. Στη συνέχεια, τα συγκεκριμένα σάκχαρα καταβολίζονται, κατά τη διάρκεια των προαναφερθεισών διαδικασιών ζύμωσης (Kandler, 1983).



Σχήμα 2.2: Το ομοζυμωτικό και το ετεροζυμωτικό μεταβολικό μονοπάτι της γλυκόζης (Holzapfel and Wood, 2014).

Στο γάλα η κυριότερη πηγή άνθρακα για τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι ο δισακχαρίτης λακτόζη. Η λακτόζη, μέσω του ενζύμου περμεάσης που διαθέτει, εισέρχεται στα κύτταρα ποικίλων οξυγαλακτικών βακτηρίων, όπως για παράδειγμα στους θερμοφίλους *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* και *Lactobacillus acidophilus*, καθώς και στα είδη του γένους *Leuconostoc*. Όταν εισέλθει η λακτόζη στα συγκεκριμένα κύτταρα, αποικοδομείται από την ενδοκυτταρική β-γαλακτοζιδάση, παράγοντας ως τελικά προϊόντα την γλυκόζη και την γαλακτόζη (Fox et al., 1990). Επιπροσθέτως, σε ορισμένα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, όπως στους λακτοκόκκους και στους γαλακτοβακίλλους, η λακτόζη έχει την ικανότητα, μέσω ενός συστήματος PEP-PTS, να εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα των βακτηριακών κυττάρων, όπου και διασπάται από τη β-φωσφογαλακτοζιδάση, παράγοντας ως τελικά προϊόντα την γλυκόζη και την 6-φωσφορική γαλακτόζη. Έχει αποδειχθεί ότι η παρουσία της γλυκόζης επηρεάζει ή ακόμα και παρεμποδίζει το σύστημα PEP-PTS της λακτόζης, αλλά και τη β-φωσφο-γαλακτοζιδάση (Kandler, 1983).

Όσον αφορά το σύστημα PEP-PTS, αποτελεί ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο σύστημα μεταφοράς της λακτόζης, διότι απαιτεί την παρουσία ιόντων Mg^{2+} , καθώς και την παρουσία τεσσάρων πρωτεϊνών, ούτως ώστε να επιτευχθούν οι λειτουργίες του. Επομένως, η πολυπλοκότητά του είναι αυξημένη, σε σύγκριση με την πολυπλοκότητα του συστήματος μεταφοράς μέσω της περμεάσης της λακτόζης. Επιπροσθέτως, το ένζυμο II και το ένζυμο III αποτελούν δύο από τις πρωτεΐνες, που συμμετέχουν στο σύστημα PEP-PTS. Ένα από τα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων ενζύμων είναι ότι παρουσιάζουν μεγάλη εξειδίκευση στο σάκχαρο του υποστρώματος και συναντώνται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Οι άλλες δύο πρωτεΐνες, που συμμετέχουν σε όλα τα συστήματα PEP-PTS, είναι το ένζυμο I και μια χαμηλού μοριακού βάρους θερμοανθεκτική πρωτεΐνη (HPr), οι

οποίες αποτελούν διαλυτές πρωτεΐνες που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα των βακτηριακών κυττάρων (Postma et al., 1993).

Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι η γλυκόζη χρησιμοποιεί την γλυκολυτική οδό, ανεξαρτήτως του συστήματος μεταφοράς, και η οξείδωσή της έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή του πυροσταφυλικού οξέος. Αντίθετα, η γαλακτόζη μεταβολίζεται χρησιμοποιώντας είτε την οδό Leloir, είτε το μονοπάτι της ταγκατόζης (Marilley and Casey, 2004). Ωστόσο, ο μεταβολισμός της γαλακτόζης δεν είναι εφικτός από ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, όπως τα θερμόφιλα βακτήρια των *S. thermophilus*, *Lb. delbrueckii* και *Lb. acidophilus*, με αποτέλεσμα η γαλακτόζη να εκκρίνεται προς το εξωτερικό του βακτηριακού κυττάρου.

2.5.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως προστατευτικές καλλιέργειες

Στη βιομηχανία τροφίμων τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται ευρέως ως προστατευτικές καλλιέργειες, καθώς είναι αποδεδειγμένη η αντιμικροβιακή τους δράση, αλλά και η συνεισφορά τους σε ποικίλα προβλήματα υγείας του ανθρώπινου γαστρεντερικού συστήματος (Nilsson and Gram, 2002). Επιπλέον, έχουν χαρακτηριστεί «γενικώς αναγνωρισμένα ως ασφαλή» ή GRAS (Generally Recognized As Safe) και, επομένως, θεωρούνται γενικώς κατάλληλα για χρήση σε τρόφιμα (Holzapfel et al., 1995). Παρόλο που έχουν χαρακτηριστεί ως ασφαλή για τα τρόφιμα, σύμφωνα με κάποιες μελέτες, υπάρχουν και ελάχιστα είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία αποτελούν δυνητικά παθογόνα βακτήρια και μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις στον άνθρωπο, εάν καταναλωθούν. Ωστόσο, οι περιπτώσεις που προκαλούν λοιμώξεις είναι περιορισμένες (Aguirre and Collins, 1993).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται ανέκαθεν στις ζυμώσεις ποικίλων τροφίμων και αποτελούν τη σημαντικότερη ομάδα μικροοργανισμών για τη συγκεκριμένη διεργασία (Carlice and Fitzgerald, 1999). Η κυριότερη λειτουργία τους είναι η επιμήκυνση της διάρκειας ζωής των προϊόντων, καθώς έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως συντηρητικά σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών, του κρέατος και των προϊόντων του, των ιχθυηρών και των φυτικών προϊόντων. Η ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων να διατηρούν τα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων και να τους προσδίδουν ιδιαίτερες οργανοληπτικές ιδιότητες, σε συνδυασμό με τη συνεισφορά τους στην διατηρησιμότητα του τροφίμου, η οποία επιτυγχάνεται με την παρεμπόδιση της ανάπτυξης ανεπιθύμητων αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών, τα καθιστούν απαραίτητα στη βιομηχανία τροφίμων. Η αντιμικροβιακή δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων οφείλεται στον ανταγωνισμό για τις θρεπτικές ουσίες του υποστρώματος, αλλά και στην παραγωγή ουσιών, οι οποίες λειτουργούν ως αναστολείς, που περιλαμβάνουν κυρίως οργανικά οξέα, υπεροξειδίο του υδρογόνου και βακτηριοσίνες (O' Sullivan et al., 2002). Τέλος, η εκτεταμένη κατανάλωση προβιοτικών προϊόντων από τους καταναλωτές τα τελευταία χρόνια έχει εδραιώσει στα τρόφιμα την χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως προβιοτικών καλλιεργειών, οι οποίες αποδεδειγμένα βελτιώνουν περαιτέρω τη σωστή λειτουργία του ανθρώπινου γαστρεντερικού συστήματος (Fernandes et al., 1992).

Τα γένη των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι 12 και περιλαμβάνουν τα *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* και *Weissella* (Stiles and Holzapfel, 1997; Axelsson, 1993). Αποτελούν θετικούς κατά Gram μικροοργανισμούς, μη σπορογόνους, αρνητικούς στην καταλάση, αναερόβιους ή προαιρετικά αναερόβιους, οι οποίοι έχουν σχήμα κόκκων ή βακίλλων και στερούνται κυτοχρωμάτων (Axelsson, 1993). Γενικότερα, χαρακτηρίζονται ως μεσόφιλοι μικροοργανισμοί, ωστόσο ορισμένα γένη έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται και σε θερμοκρασίες κατώτερες των 5 °C ή σε υψηλότερες των 45 °C. Όσον αφορά τις τιμές του pH που αναπτύσσονται τα οξυγαλακτικά βακτήρια, ισχύει ότι τα περισσότερα στελέχη αναπτύσσονται σε

τιμές 4.0 έως 4.5, ενώ ορισμένα από αυτά επιβιώνουν και σε ακραίες τιμές pH, όπως για παράδειγμα στη τιμή 9.6 ή ακόμα και στη 3.2. Τέλος, όπως έχει προαναφερθεί, το κύριο μεταβολικό προϊόν, που προέρχεται από τον μεταβολισμό της γλυκόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, είναι το γαλακτικό οξύ (Stiles and Holzapfel, 1997; Axelsson, 1993).

2.5.1.1. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως καλλιέργειες εκκίνησης

Εξ ορισμού, ως καλλιέργεια εκκίνησης χαρακτηρίζεται το μικροβιακό παρασκεύασμα ενός τουλάχιστον μικροοργανισμού, το οποίο προστίθεται σε φρέσκο υλικό, ούτως ώστε να παραχθεί ένα προϊόν ζύμωσης, μέσω της καθοδηγούμενης επιτάχυνσης της ζυμωτικής του λειτουργίας (Leroy and De Vuyst, 2004).

Παλαιότερα, η ανάπτυξη της φυσικής μικροχλωρίδας των ίδιων των τροφίμων ήταν η αιτία για τη δημιουργία των πρώτων ζυμούμενων προϊόντων. Επομένως, η αρχική παραγωγή ζυμούμενων τροφίμων βασίστηκε σε αυθόρμητες ζυμώσεις. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα, η ποιότητα του τελικού ζυμούμενου προϊόντος να είναι ανάλογη του μικροβιακού φορτίου και του είδους του αρχικού τροφίμου. Η μέθοδος του εμβολιασμού του νέου προϊόντος με μικρή ποσότητα από προγενέστερο προϊόν, το οποίο είχε υποστεί αυθόρμητη ζύμωση, τελειοποίησε περαιτέρω τη διαδικασία της ζύμωσης των τροφίμων. Με τη συγκεκριμένη μέθοδο επετεύχθη η επικράτηση των καλύτερα προσαρμοσμένων στελεχών, που είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της διάρκειας της ζύμωσης, καθώς και την ελαχιστοποίηση της πιθανότητας αποτυχίας της.

Η παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέος από τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι υπεύθυνη για τη ραγδαία πτώση του pH των τροφίμων και κατ' επέκταση για την οξίνιση των αρχικών προϊόντων προς παρασκευή ζυμούμενων τροφίμων. Επιπροσθέτως, τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι υπεύθυνα και για την παραγωγή άλλων μεταβολικών προϊόντων, όπως για παράδειγμα της αιθανόλης, των βακτηριοσινών, των εξωπολυσακχαριτών, καθώς και ορισμένων ενζύμων και αρωματικών ενώσεων. Λόγω αυτών των μεταβολικών προϊόντων, τα οξυγαλακτικά βακτήρια συμβάλλουν στη μικροβιακή σταθερότητα του τροφίμου και, κατά συνέπεια, στη συντήρησή του, ενώ ταυτόχρονα βελτιώνουν τα τελικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος (Carlice and Fitzgerald, 1999). Τέλος, τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ποικίλων ζυμούμενων προϊόντων γάλατος, κρέατος, λαχανικών, δημητριακών και αλκοολούχων ποτών (Leroy and De Vuyst, 2004).

2.5.1.2. Η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως εκκινήτων στην βιομηχανία γάλακτος

Η ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων να μεταβολίζουν τη λακτόζη, παράγοντας ως βασικό τελικό προϊόν το γαλακτικό οξύ, είναι η κυριότερη αιτία χρήσης των συγκεκριμένων βακτηρίων στην παραγωγή ζυμούμενων προϊόντων γάλακτος. Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς σε ορισμένες περιπτώσεις συνεισφέρει στην πήξη των πρωτεϊνών του γάλακτος. Εκτός από την πήξη των πρωτεϊνών του γάλακτος, το γαλακτικό οξύ, σε συνδυασμό με

άλλες ενώσεις που παράγουν τα οξυγαλακτικά βακτήρια, βελτιώνει την γεύση και το άρωμα του τελικού προϊόντος. Επομένως, υπάρχουν ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές αποκλειστικά για την παραγωγή άλλων ενώσεων, οι οποίες προσδίδουν ιδιαίτερα αρωματικά χαρακτηριστικά και γεύση στο τελικό προϊόν. Σε αυτές τις ενώσεις περιλαμβάνονται το διακετύλιο, η ακεταλδεύδη και το οξικό οξύ.

Επιπροσθέτως, η πρωτεόλυση και η λιπόλυση του γάλακτος, καθώς και η μείωση του pH του κατά την ζύμωση από τα εναρκτήρια οξυγαλακτικά βακτήρια, αποτελούν παράγοντες που επηρεάζουν την γεύση και την υφή του τελικού προϊόντος. Επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε, το όξινο pH των ζυμούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων, εκτός από τη συνεισφορά του στην γεύση και την υφή, συμβάλλει και στη συντήρηση του τροφίμου, καθώς έχει αντιμικροβιακή δράση. Τέλος, η χρήση των προβιοτικών καλλιέργειών, οι οποίες μπορούν είτε να περιληφθούν άμεσα στη διαδικασία ζύμωσης, είτε να προστεθούν στο τελικό προϊόν ως πρόσθετα υλικά, είχε ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό των γαλακτοκομικών προϊόντων.

2.5.1.3. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια ως εναρκτήριες και μη εναρκτήριες καλλιέργειες στην παρασκευή τυριών

Η παραγωγή οξέος, κυρίως του γαλακτικού, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης αποτελεί την κυριότερη και πρωταρχική δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία χρησιμοποιούνται ως εναρκτήριες καλλιέργειες στα τρόφιμα. Εκτός, όμως, από αυτή τη βασική λειτουργία τους, σε ορισμένα τρόφιμα συμβάλλουν και σε άλλες διεργασίες, όπως για παράδειγμα στην ωρίμανση των τυριών, όπου τα ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων συμμετέχουν στην πρωτεόλυση και, κατά συνέπεια, στην μετατροπή των αμινοξέων σε ενώσεις που προσδίδουν ένα ιδιαίτερο άρωμα στο τελικό προϊόν (Fox and Wallace, 1997). Εξ ορισμού, στην παρασκευή των τυριών, τα οξυγαλακτικά βακτήρια που χαρακτηρίζονται ως εναρκτήριες καλλιέργειες είναι αυτά που έχουν την ικανότητα να παράγουν επαρκή ποσότητα οξέος, ούτως ώστε το pH του γάλακτος να αποκτήσει τιμές κάτω του 5.3, σε χρονικό διάστημα 6 ωρών και σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 30 έως 37 °C. Επιπλέον, οι πληθυσμοί των συγκεκριμένων βακτηρίων, κατά την παρασκευή του τυριού, πρέπει να είναι της τάξεως των 10^8 - 10^9 cfu/g, εντός ολίγων ωρών. Επομένως, είναι αναγκαία η άμεση ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε πληθυσμούς με υψηλό αριθμό αποικιών, για να επιτευχθούν οι απαραίτητες λειτουργίες της ζύμωσης.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως εναρκτήριες καλλιέργειες είτε προστίθενται στα πρώτα στάδια της τυροκόμησης, είτε αποτελούν ενδογενή χλωρίδα του γάλακτος, η οποία υπήρχε εξ αρχής. Στην τελευταία περίπτωση ανήκουν πολλά τυριά, που παρασκευάζονται από μη παστεριωμένο γάλα, δηλαδή από νωπό γάλα, το οποίο διατηρεί τη φυσική χλωρίδα του. Οι κυριότερες κατηγορίες εναρκτήριων καλλιεργειών, που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή τυριών, είναι οι μεσόφιλες και οι θερμόφιλες καλλιέργειες και η επιλογή τους εξαρτάται από το είδος του τυριού που θα παρασκευασθεί. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται συχνότερα ως

εναρκτήριες καλλιέργειες είναι στελέχη των γενών *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* και *Enterococcus* (Beresford et al., 2001).

Στα οξυγαλακτικά βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως μη εναρκτήριες καλλιέργειες (Non Starter Lactic Acid Bacteria, NSLAB) ανήκουν οι μεσόφιλοι γαλακτοβάκιλλοι και πεδιόκοκκοι, οι οποίοι αποτελούν σημαντικό μέρος της συνολικής μικροβιακής χλωρίδας των περισσότερων τυριών, κατά τη διαδικασία της ωρίμανσης. Επειδή δεν αποτελούν μέρος της εναρκτήριας φυσιολογικής χλωρίδας του γάλακτος, δεν έχουν την δυνατότητα να αναπτυχθούν σε αυτό και, επομένως, δεν διαθέτουν υψηλή ικανότητα οξίνισης του γάλακτος, δηλαδή δεν επιτυγχάνουν ικανοποιητική πτώση του pH του (Cogan et al., 1997). Για το λόγο αυτό, οι συγκεκριμένες καλλιέργειες χρησιμοποιούνται κυρίως ως συμπληρωματικές (adjuncts). Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα στελέχη των ειδών *Lactobacillus casei/paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici* και *Pediococcus pentosaceus* (Beresford et al., 2001).

2.5.2. Ταξινόμηση των καλλιέργειών εκκίνησης στα γαλακτοκομικά προϊόντα

Οι καλλιέργειες εκκίνησης, που θα χρησιμοποιηθούν, επιλέγονται ανάλογα με το προς παρασκευή γαλακτοκομικό προϊόν. Οι κατηγορίες στις οποίες ταξινομούνται οι καλλιέργειες εκκίνησης για τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι οι μεσοφιλικές και οι θερμοφιλικές. Πιο αναλυτικά, οι μεσοφιλικές καλλιέργειες (Mesophilic cultures) έχουν βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης από 21 έως 32 °C, ενώ οι θερμοφιλικές καλλιέργειες (Thermophilic cultures) έχουν βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης από 38 έως 46 °C. Τα στελέχη που ανήκουν στην κατηγορία των μεσοφιλικών καλλιέργειών είναι τα *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *L. delbruekii* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* και *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. Τέλος, τα στελέχη που ανήκουν στην κατηγορία των θερμοφιλικών καλλιέργειών είναι τα *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (*S. thermophilus*), *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbruekii* subsp. *lactis*, *L. casei*, *L. helveticus* και *L. plantarum*. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα στελέχη και τα τρόφιμα στα οποία χρησιμοποιούνται τα συγκεκριμένα στελέχη ως καλλιέργειες εκκίνησης.

Πίνακας 2.4: Συστηματική ταξινόμηση των καλλιέργειών εκκίνησης που χρησιμοποιούνται στα γαλακτοκομικά προϊόντα¹.

Παλαιά ονομασία	Νέα ονομασία	Παραγωγή	Παρασκευή προϊόντος
Μεσοφιλικόι εκκινητές²			
<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> sub-sp. <i>lactis</i>	παραγωγή οξέος	βουτυρόγαλα, ξινή κρέμα, διάφορα είδη τυριών
<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Lactococcus lactis</i> sub-sp. <i>cremoris</i>	παραγωγή οξέος	βουτυρόγαλα, ξινή κρέμα, διάφορα είδη τυριών
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> sub-sp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	γεύση και οξύ	ξινή κρέμα, μαλακό τυρί, βουτυρόγαλα, ώριμο βούτυρο
<i>Leuconostoc cremoris</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> sub- sp. <i>cremoris</i>	γεύση	ξινή κρέμα, μαλακό τυρί, βουτυρόγαλα, ώριμο βούτυρο
<i>Leuconostoc lactis</i>	Unchanged	γεύση	ξινή κρέμα, μαλακό τυρί, βουτυρόγαλα, ώριμο βούτυρο
Θερμοφιλικόι εκκινητές³			
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> sub-sp. <i>thermophilus</i>	γεύση και οξύ	Γιαούρτι, ζυμούμενο γάλα, ιταλικό τυρί, τυρί emmental
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sub-sp. <i>bulgaricus</i>	γεύση και οξύ	Γιαούρτι, ζυμούμενο γάλα, ιταλικό τυρί, τυρί emmental
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> sub-sp. <i>lactis</i>	γεύση και οξύ	Γιαούρτι, ζυμούμενο γάλα, ιταλικό τυρί, τυρί emmental
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Unchanged	γεύση και οξύ	Γιαούρτι, ζυμούμενο γάλα, ιταλικό τυρί, τυρί emmental

¹ Adapted from Dairy Microbiology, R.K. Robinson & Cheese and Fermented Milk Foods, F. Kozikowski

² Optimum Temperature 20 – 30 °C. All are spherical shaped bacteria (coccus).

³ Optimum Temperature 37 – 45 °C. *Streptococcus* are cocci, *Lactobacillus* are rod shaped bacteria.

2.6.1. Επίδραση των οξυγαλακτικών καλλιιεργειών στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των τυριών

Η χρήση των οξυγαλακτικών καλλιιεργειών κατά την παρασκευή τυριών αποσκοπεί κυρίως στην ελεγχόμενη ζύμωση της λακτόζης του γάλακτος, καθώς και στην ελεγχόμενη πρωτεολυτική και λιπολυτική δραστηριότητα, οι οποίες επιτυγχάνονται από τα ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Με αυτόν τον τρόπο η προσθήκη των οξυγαλακτικών καλλιιεργειών επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τη δομή του πήγματος, ενώ ταυτόχρονα παρεμποδίζει και την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών, παθογόνων ή αλλοιογόνων, οι οποίοι προκαλούν ανεπιθύμητες αλλοιώσεις στο τυρί. Τέλος, η παραγωγή συγκεκριμένων ενώσεων από τον μεταβολισμό της λακτόζης συνεισφέρει και στην απόκτηση ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, τα οποία προσδίδουν ιδιαίτερη γεύση και άρωμα στο τελικό προϊόν (Accolas et al., 1980; Scott, 1986).

2.6.1.1. Ζύμωση της λακτόζης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια

Η κύρια βιοχημική δραστηριότητα των ομοζυμωτικών οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι η παραγωγή γαλακτικού οξέος από τον μεταβολισμό της λακτόζης του γάλακτος και αποτελεί απαραίτητη λειτουργία, ούτως ώστε να επιτευχθεί η παραγωγή ποικίλων τυριών. Συγκεκριμένα, η παραγωγή και η τελική συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος επηρεάζουν ποικίλες παραμέτρους κατά τη παρασκευή των τυριών. Πιο αναλυτικά, οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζονται είναι ο ρυθμός της πτώσης του pH του τελικού προϊόντος, η υγρασία του και η απόδοση, η δραστηριότητα των πηκτικών ενζύμων, καθώς και η κατακράτησή τους στο πήγμα. Επιπροσθέτως, ο ρυθμός της πρωτεόλυσης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα πηκτικά ένζυμα, τα οποία, όπως προαναφέρθηκε, επηρεάζονται από την παρουσία του γαλακτικού οξέος. Τέλος, η διαμόρφωση του όξινου περιβάλλοντος, η οποία είναι αποτέλεσμα της υψηλής συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, παρεμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων και μη μικροοργανισμών (Karaiannoglou et al., 1985; Cogan and Daly, 1987; Parageorgiou and Marth, 1989; Pappas et al., 1996a; Melas et al., 2001).

Αρχικά, η συγκέντρωση της λακτόζης του γάλακτος μειώνεται στο τυρόπηγμα, εξαιτίας της ζύμωσής της από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, ενώ ταυτόχρονα προκαλείται και η επιθυμητή πτώση του pH. Το είδος και η ποσότητα της οξυγαλακτικής καλλιέργειας που προστίθεται είναι υπεύθυνη για τον ρυθμό της πτώσης του pH και διαφέρει ανάλογα με το είδος του τυριού που παρασκευάζεται. Ενδεικτικά, οι καλλιέργειες στρεπτόκοκκων παράγουν πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερες ποσότητες γαλακτικό οξύ, σε σύγκριση με τις καλλιέργειες λακτοβακίλλων. Επομένως, προκύπτει το συμπέρασμα ότι όσο μεγαλύτερη είναι η αναλογία των στρεπτόκοκκων στην καλλιέργεια που προστίθεται, τόσο πιο γρήγορα μειώνεται το pH στο πήγμα κατά τις πρώτες ώρες της στράγγισης (Pappas et al., 1996a). Επιπλέον, το είδος της καλλιέργειας είναι υπεύθυνο και για τα δευτερογενή προϊόντα που παράγονται κατά τη γλυκόλυση. Τέλος, η πτώση του pH ευθύνεται και για την αποβολή της υγρασίας από το τυρόπηγμα και ισχύει ότι όσο αυξάνεται ο ρυθμός πτώσης του pH, αποβάλλεται ταχύτερα ο ορός από το πήγμα και, κατά συνέπεια, μειώνεται η συγκέντρωση

των πηκτικών ενζύμων που παραμένουν στο τυρόπηγμα. Η μείωση της ποσότητας των πηκτικών ενζύμων επηρεάζει και την δραστικότητά τους έναντι των πρωτεϊνών (Pappas et al., 1996a).

Όσον αφορά τη διαμόρφωση του αρώματος του τελικού προϊόντος, η παραγωγή του γαλακτικού οξέος συμβάλλει στον σχηματισμό άλλων προϊόντων, όπως για παράδειγμα αλδεϋδών, κετονών, αλκοολών και εστέρων, τα οποία προσδίδουν ιδιαίτερο άρωμα και γεύση στο τυρί (Scott, 1986; Μάντης, 2000). Στα σκληρά και στα ημίσκληρα τυριά, η απόκτηση του χαρακτηριστικού τους αρώματος προέρχεται κυρίως από την πρωτεολυτική και λιπολυτική δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων, καθώς και από την ανάπτυξη της δευτερογενούς χλωρίδας (Imhof and Bosset, 1994).

2.6.1.2. Διάσπαση πρωτεϊνών από τα οξυγαλακτικά βακτήρια

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια διαθέτουν ένα πολύπλοκο σύστημα πρωτεολυτικών ενζύμων, το οποίο συμβάλλει στη διαδικασία της πρωτεόλυσης των πρωτεϊνών του γάλακτος. Εκτός από τα πηκτικά ένζυμα που συμμετέχουν αρχικά στη διάσπαση των πρωτεϊνών, σημαντική είναι και η συνεισφορά των πρωτεολυτικών ενζύμων των οξυγαλακτικών βακτηρίων και της πλασμίνης του γάλακτος στη διαδικασία της πρωτεόλυσης. Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα πρωτεολυτικά ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων, η συνεισφορά των πρωτεϊνών τους στην πρωτεόλυση είναι περιορισμένη, ενώ παράλληλα εμφανίζουν και διαφορετική ειδικότητα από εκείνη της ρεννίνης (Ohmiya and Sato, 1972; Farkye et al., 1990; Lane and Fox, 1997).

Η ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων να συμβάλλουν στην πρωτεόλυση και την ωρίμανση των τυριών επιτυγχάνεται κυρίως λόγω των πεπτιδασών τους. Οι πεπτιδάσες τους είναι υπεύθυνες για την υδρόλυση των πεπτιδίων, τα οποία προέρχονται από την διάσπαση των πρωτεϊνών, σε μικρότερου μοριακού βάρους πεπτίδια και αμινοξέα. Εν συνεχεία, τα αμινοξέα και τα πεπτίδια μικρότερου μοριακού βάρους χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξή τους, ενώ συγχρόνως συνεισφέρουν σημαντικά στη δημιουργία ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών στα τυριά (Farkye et al., 1990; Broome and Hickey, 1991; Lane and Fox, 1997; Lynch et al., 1997). Ωστόσο, ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν την ικανότητα να μεταβολίσουν περαιτέρω τα αμινοξέα, μέσω του ενζυμικού συστήματος που διαθέτουν, προς παραγωγή πηκτικών αρωματικών ουσιών. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν ορισμένα είδη από το γένος των λακτόκοκκων (Roudot Algaron and Mireille, 1998).

Ορισμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία έχουν γαλακτοκομική προέλευση, έχουν την ικανότητα να διασπούν πρωτεΐνες, παραδείγματος χάριν την καζεΐνη του γάλακτος, με αποτέλεσμα την δημιουργία αμινοξέων. Επομένως, οι πρωτεολυτικές ιδιότητες που διαθέτουν τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι η κύρια αιτία απόκτησης των απαραίτητων αμινοξέων που χρειάζονται. Η διάσπαση της καζεΐνης πραγματοποιείται μέσω μιας πρωτεϊνάσης του κυτταρικού φακέλου, η οποία αρχικά αποικοδομεί την πρωτεΐνη σε ολιγοπεπτίδια. Τα ολιγοπεπτίδια, που παράγονται, προσλαμβάνονται μέσω ειδικών συστημάτων μεταφοράς πεπτιδίων από τα κύτταρα και αποικοδομούνται εκ νέου σε

πεπτίδια μικρότερου μοριακού βάρους και σε αμινοξέα. Αυτή η αποικοδόμηση σε μικρότερα πεπτίδια και αμινοξέα επιτυγχάνεται εξαιτίας της δράσης των ενδοκυτταρικών πεπτιδασών. Επιπροσθέτως, συγκεκριμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, όπως είναι τα *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus*, χρησιμοποιήθηκαν, ούτως ώστε να απομονωθούν και να πολλαπλασιαστούν ορισμένοι τύποι γονιδίων πρωτεΐνωσης (Savijoki et al., 2006).

Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών, τα οξυγαλακτικά βακτήρια, που δρουν στις πρωτεΐνες και στα πεπτίδια, ευθύνονται και για την παραγωγή ανεπιθύμητων πεπτιδίων, τα οποία προσδίδουν πικρή γεύση στο τελικό προϊόν (Stadhouders et al., 1983). Τα συγκεκριμένα πεπτίδια προκαλούν πικρή γεύση, λόγω των πολλών υδρόφοβων αμινοξέων που διαθέτουν, η παρουσία των οποίων ευνοεί την πικρότητα. Επομένως, η εμφάνιση ή η παρεμπόδιση της εμφάνισης πικρότητας στη γεύση του τελικού προϊόντος είναι αποτέλεσμα της ειδικότητας των πρωτεΐνωσης και των πεπτιδασών ορισμένων οξυγαλακτικών βακτηρίων, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αύξηση ή την μείωση της συγκέντρωσης των συγκεκριμένων πικρών πεπτιδίων (Lemieux and Simard, 1991; Steele and Unlu, 1992). Σε αυτά τα οξυγαλακτικά βακτήρια ανήκουν και ορισμένοι λακτοβάκιλλοι (Gomez et al., 1996).

Το είδος της οξυγαλακτικής καλλιέργειας που χρησιμοποιείται επηρεάζει τόσο τον βαθμό της πρωτεόλυσης, όσο και το είδος των προϊόντων που παράγονται (Law et al., 1992; Steele and Unlu, 1992). Ενδεικτικά, οι οξυγαλακτικές καλλιέργειες που περιέχουν υψηλότερη συγκέντρωση λακτοβακίλλων, όπως για παράδειγμα *Lb. casei* subsp. *casei*, *Lb. helveticus* και *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, παρουσιάζουν μεγαλύτερη πρωτεολυτική δράση από άλλες καλλιέργειες, οι οποίες περιέχουν υψηλότερη συγκέντρωση μεσόφιλων λακτόκοκκων (El Soda et al., 1982; El Soda, 1986). Ο *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* έχει ασθενέστερη πρωτεολυτική δράση από τον *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Ωστόσο, στην περίπτωση που συνδυαστούν και τα δύο οξυγαλακτικά βακτήρια μαζί, επιτυγχάνεται μεγαλύτερη πρωτεολυτική και γλυκολυτική δράση από αυτές που θα παρατηρούνταν αν είχε χρησιμοποιηθεί το εκάστοτε στέλεχος ξεχωριστά (Rajagopal and Sandine, 1990). Επιπροσθέτως, στελέχη που αυτολύονται, απελευθερώνουν ενδοκυτταρικά ένζυμα, τα οποία προκαλούν υψηλότερο ποσοστό πρωτεόλυσης στα τυριά, χωρίς απαραίτητα να συνοδεύονται και από εμφάνιση πικρότητας στο τελικό προϊόν (Boutrou et al., 1998; Chapotchartier, 1996).

Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, η σημασία της πρωτεόλυσης στην βιομηχανία τροφίμων είναι μεγάλη, καθώς η πλειοψηφία των επίκτητων οργανοληπτικών ιδιοτήτων των ζυμούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων είναι απόρροια της πρωτεόλυσης, που προέρχεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Meyer and Spahni, 1998; Sridhar et al., 2005).

2.6.1.3. Υδρόλυση λίπους από τα οξυγαλακτικά βακτήρια

Στα γαλακτοκομικά προϊόντα, η λιπόλυση έχει ιδιαίτερη σημασία στην ωρίμανση του τυριού και κατ' επέκταση στην ανάπτυξη της γεύσης του. Τα *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *L. casei*, *L. plantarum* και *L. rhamnosus* αποτελούν ορισμένα από τα οξυγαλακτικά βακτήρια του περιβάλλοντος του γάλακτος, τα οποία έχουν αναφερθεί για την λιπολυτική τους δράση (Centeno et al., 1999; Di Cagno et al., 2006; Abeijòn Mukdsi et al., 2009). Τα συστήματα εστεράσης / λιπάσης των οξυγαλακτικών βακτηρίων, των προπιονικών βακτηρίων, των μυκήτων και των ζυμών συμβάλλουν ενεργά στη λιπόλυση που πραγματοποιείται στο τυρί.

Τα λιπολυτικά ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων συμμετέχουν στη διάσπαση του λίπους των τυριών. Πιο αναλυτικά, τα οξυγαλακτικά βακτήρια υδρολύουν το λίπος, με αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων, κυρίως αυτών με μικρό αριθμό ατόμων άνθρακα. Στα συγκεκριμένα λιπαρά οξέα συμπεριλαμβάνεται το οξικό, το βουτυρικό, το καπροϊκό, το καπρυλλικό και το καπρικό λιπαρό οξύ, που στη συνέχεια συμβάλλουν στο σχηματισμό κετονών και κετονοξέων (Scott, 1986). Η επιτάχυνση της ωρίμανσης των τυριών και η βελτίωση της ποιότητάς τους επιτυγχάνεται μέσω των μικροβιακών λιπασών και εστερασών, ωστόσο η εκτεταμένη δράση τους μπορεί να επιφέρει και αρνητικά αποτελέσματα, όπως για παράδειγμα την υδρολυτική τάγγιση. Η δράση των εστερασών των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι σημαντικά ισχυρότερη από τη δράση των λιπασών τους (Gobbetti et al., 1997). Η δράση της εστεράσης έχει ανιχνευτεί τόσο στους λακτοκόκκους, όσο και στους λακτοβακίλλους. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η δράση της εστεράσης των λακτοβακίλλων είναι υψηλότερη από αυτή των λακτοκόκκων και σε ορισμένα είδη συγκρίνεται με εκείνη των ζυμών (Gobbetti et al., 1997).

Τέλος, τα γένη *Leuconostoc* και *Enterococcus* είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια που εμφανίζουν τη μεγαλύτερη λιπολυτική δραστηριότητα, σε αντίθεση με το γένος *Lactococcus*, το οποίο παρουσιάζει ελάχιστη λιπολυτική δράση (Macedo and Malcata, 1997). Ωστόσο, η εμφάνιση λιπολυτικής δραστηριότητας στα στελέχη των οξυγαλακτικών καλλιιεργειών πρέπει να αποφευχθεί, καθώς δημιουργεί στα τυριά ανεπιθύμητη ταγγή γεύση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΤΟ ΤΥΡΙ

3.1.1. Τυρί

Η ταξινόμηση των ποικιλιών τυριού καθορίζεται από πολλούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα ανάλογα με το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται το γάλα που χρησιμοποιείται για τυροκόμηση, την περιεκτικότητα του τυριού σε νερό (%), την υφή και τη συνεκτικότητά του τυριού, καθώς και την διαφοροποίηση σχηματισμού πηκτής με την χρήση είτε οξέων, είτε εκχυλίσματος πυτιάς, είτε συνδυασμού και των δύο. Με βάση τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, τα προϊόντα αυτά διακρίνονται ως προς την απαίτηση τους για ωρίμανση ή μη. Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (άρθρο 83, 2008), τα τυριά που παρασκευάζονται από γάλα και απαιτείται ωρίμανση για το σχηματισμό τους, ορίζονται ως τα προϊόντα ωρίμανσης του πήγματος (στάλπης) που είναι απαλλαγμένο από το τυρόγαλα στον επιθυμητό βαθμό και τα οποία παρασκευάστηκαν, με την επενέργεια πυτιάς ή άλλων ενζύμων που δρουν ανάλογα σε γάλα (νωπό ή παστεριωμένο, αγελάδος, προβάτου, κατσίκας, βουβάλου και μίγματα αυτών) ή σε μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα ή σε μίγματα αυτών ή/και σε μίγματα αυτών με κρέμα γάλακτος. Τα τυριά ανάλογα με το ποσοστό υγρασίας που περιέχουν ταξινομούνται ως εξής :

- a) Πολύ σκληρά, με υγρασία μικρότερη του 35% (Παρμεζάνα, μυζήθρα ξηρή)
- b) Σκληρά, με υγρασία από 30% έως 40% (Γραβιέρα, Cheddar)
- c) Ημίσκληρα, με εύρος υγρασία 40 – 47% (Κασέρι, Roquefort, Brick)
- d) Μαλακά, με περιεκτικότητα σε υγρασία μεγαλύτερη του 47% (Φέτα, Τελεμές, Μυζήθρα νωπή, Cottage, Ricotta)

Όσον αφορά στα τυριά που δεν απαιτείται ωρίμανση ο Κώδικας τα προσδιορίζει ως: Τυριά χωρίς ωρίμανση με αλοιφώδη υφή χαρακτηρίζονται τα φρέσκα (νωπά) τυριά που παρασκευάζονται με την επενέργεια αβλαβών οξυγαλακτικών καλλιεργειών βακτηρίων σε παστεριωμένο γάλα ή παστεριωμένο γάλα και παστεριωμένη κρέμα γάλακτος, και των οποίων η υγρασία δεν υπερβαίνει το 75% (Κ.Τ.Π. άρθρο 83, 2008). Τυριά σε αυτή την κατηγορία είναι το Cottage και το Creamcheese.

Ο γενικός ορισμός του Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2011) περιλαμβάνει και τις δύο παραπάνω διακρίσεις και αναφέρει ότι: Τυρί είναι το ώριμο ή χωρίς ωρίμανση μαλακό, ημίσκληρο, σκληρό ή πολύ σκληρό προϊόν, το οποίο μπορεί να επικαλύπτεται, και στο οποίο η αναλογία πρωτεϊνών ορού/καζεϊνών δεν υπερβαίνει αυτή του γάλακτος. Προέρχεται από τη στράγγιση, ύστερα από πήξη του πλήρους, μερικώς αποβουτυρωμένου ή άπαχου γάλακτος ή βουτυρογάλακτος ή μίγματος ορισμένων ή όλων αυτών των προϊόντων.

3.1.2. Εισαγωγή στην Τυροκομεία

Το γάλα είναι μια από τις σημαντικότερες και απαραίτητες τροφές για την διατροφή του ανθρώπου. Η σχετικά μικρή διάρκεια ζωής του, λόγω του ότι ανήκει στα ευπαθή και ευαλλοίωτα τρόφιμα, το καθιστά γρήγορα ακατάλληλο για κατανάλωση. Για το λόγο αυτό προέκυψε η ανάγκη, από την

αρχαιότητα κιάλας, να μετατραπεί το γάλα σε ένα προϊόν το οποίο θα είχε την ικανότητα να διατηρηθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, χωρίς να μεταβληθεί η βιολογική του αξία. Φημολογείται πως η ανακάλυψη του τυριού ήταν τυχαία, όταν ένας έμπορος τοποθέτησε το γάλα σε ένα ασκί από στομάχι προβάτου την διάρκεια που ταξίδευε μέσα στην έρημο. Η παρουσία της πυτιάς στην εσωτερική επιφάνεια των τοιχωμάτων του ασκιού, σε συνδυασμό με την αυξημένη θερμοκρασία, προκάλεσαν την σταδιακή πήξη του γάλακτος και τον διαχωρισμό του σε ορό και σε πήγμα. Κατά τη διάρκεια της πορείας του παρατήρησε ότι το πήγμα (τυρί) και ο ορός που δημιουργήθηκε, όταν τα κατανάλωσε, είχαν μια όξινη ευχάριστη γεύση και ταυτόχρονα κατεύνασαν την πείνα του. Σύμφωνα με τον αρχαίο μύθο, έτσι δημιουργήθηκε ένα από τα σπουδαιότερα τρόφιμα του ανθρώπου μέχρι και σήμερα, το τυρί.

3.1.3. Σχέση μικροοργανισμών και τυριών

Από την αρχαιότητα, το γάλα αποτελούσε εξαιρετική πηγή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών για την ισορροπημένη διατροφή του ανθρώπου, λόγω της περιεκτικότητας του σε ένα ευρύ φάσμα πρωτεϊνών και βιταμινών, που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη όλων των θηλαστικών. Η θρεπτική αξία του τυριού θεωρείται ίση ή ακόμα και μεγαλύτερη από αυτή του γάλακτος. Εκτός από την εκδοχή που προαναφέραμε για τον τρόπο που ανακαλύφθηκε το τυρί, υπάρχει και μια δεύτερη εκδοχή, η οποία υποστηρίζει πως η ανακάλυψή του έγινε συνειδητά από ερευνητές που προσπαθούσαν να επιμηκύνουν την διάρκεια ζωής του γάλακτος, χρησιμοποιώντας διάφορους τρόπους διατήρησης του, όπως είναι η ξήρανση του σε αβαθή πήλινα ή ξύλινα δοχεία στον ήλιο. Και στις δύο εκδοχές κοινή ήταν η παρουσία πήγματος. Πλέον, είναι γνωστό πως το ένζυμο της ρεννίνης, που υπάρχει στα τοιχώματα του στομάχου των ζώων, είναι υπεύθυνο για την διάρρηξη των μικκυλίων καζεΐνης του γάλακτος, αποβάλλοντας ταυτόχρονα μια μεγάλη ποσότητα του νερού που περιέχει, μετατρέποντάς το σε μια γέλη, γνωστή σήμερα ως τυρομάζα ή αλλιώς πηκτή. Εν συνεχεία, τα βακτήρια που υπάρχουν στο εξωτερικό περιβάλλον, αλλά και αυτά που προϋπάρχουν στο γάλα, συμβάλουν στην μετέπειτα ωρίμανση της τυρομάζας, προσδίδοντάς της ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως η υφή, η γεύση και το άρωμα (Ανυφαντάκης, 2004).

Η παραγωγή του τυριού γινόταν εμπειρικά έως και τα μέσα του 19^{ου} αιώνα, μέχρι που ο Louis Pasteur το 1857 δημοσίευσε ότι η δράση των μικροοργανισμών ευθύνεται για τη δημιουργία ζυμώσεων. Η δημοσίευση αυτή αποτέλεσε έναυσμα, μετά από εικοσιένα χρόνια, για τον Joseph Lister, ο οποίος κατάφερε να απομονώσει για πρώτη φορά ένα βακτήριο οξίνισης του γάλακτος, τον *Bacterium lactis*. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα, το 1890 να προταθεί η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως εναρκτήριων καλλιεργειών στα τυριά και στο ξινόγαλα (Stiles and Holzapfel, 1997). Ζυμούμενα τρόφιμα, όπως το τυρί, αρχικά παρήχθησαν βασιζόμενα σε αυθόρμητες ζυμώσεις, λόγω της ανάπτυξης της φυσικής μικροχλωρίδας των ίδιων των τροφίμων, με αποτέλεσμα η ποιότητα του τελικού προϊόντος να είναι ανάλογη του μικροβιακού φορτίου και του είδους του αρχικού τροφίμου.

Η μέθοδος του εμβολιασμού μικρής ποσότητας από προϋπάρχον τρόφιμο (εναρκτήρια καλλιέργεια) που έχει υποστεί αυθόρμητη ζύμωση, στο νέο ζυμούμενο προϊόν, τελειοποίησε τη διαδικασία της ζύμωσης και μείωσε την πιθανότητα αποτυχίας στο ελάχιστο. Με αυτή τη μέθοδο κατάφεραν να επικρατήσουν τα καλύτερα προσαρμοσμένα στελέχη των βακτηρίων. Σήμερα η συνηθέστερη κατηγορία μικροοργανισμών στην τυροκομεία, που χρησιμοποιείται ως εναρκτήρια καλλιέργεια είναι τα βακτήρια και κυρίως η ομάδα των οξυγαλακτικών βακτηρίων (Κεχαγιάς, 2011).

Η παραγωγή ενζύμων και βακτηριακών καλλιιεργειών ξεκίνησε από τις αρχές του εικοστού αιώνα σε βιομηχανικό επίπεδο, έτσι ώστε να χρησιμοποιηθούν στην διαδικασία παραγωγής προϊόντων ζύμωσης, μεταξύ άλλων και τυριών. Το γεγονός αυτό έδωσε στους παραγωγούς τη δυνατότητα παρασκευής τυριών συγκεκριμένης ποικιλίας, με καθορισμένη γεύση, υφή, χρώμα, άρωμα, περίοδο ωρίμανσης, αλλά και διάρκεια ζωής.

Σε βιομηχανική κλίμακα κυρίαρχο ρόλο στην παραγωγή τυριών έχει η επαναληψιμότητα των ανωτέρω χαρακτηριστικών στα τελικά προϊόντα που παρασκευάζονται, καθώς και η δυνατότητα επίσπευσης της διαδικασίας ωρίμανσης τους, διότι έμμεσα είναι υπεύθυνη για την μείωση κόστους παραγωγής. Οι επεξεργασίες του γάλακτος ποικίλουν κατά την μετατροπή του σε τυρί, με αποτέλεσμα να προκύπτουν τυριά με διαφορετικές οργανοληπτικές ιδιότητες και διαφορετικά μικροβιακά φορτία, ανάλογα με την επεξεργασία που έχει υποστεί.

Σήμερα, τα στελέχη που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή τυριών είναι συνήθως συγκεκριμένα και ενοφθαλμίζονται σε συγκεκριμένες ποσότητες στο γάλα, αφού πρώτα έχει παστεριωθεί. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια συμβάλλουν καταλυτικά στη βελτιστοποίηση της απόδοσης, στο γρήγορο χρωματισμό του τελικού τροφίμου, στην παρεμπόδιση ανάπτυξης ανεπιθύμητης χλωρίδας (παθογόνων βακτηρίων) και, τέλος, αυξάνουν την σταθερότητα του τυριού, καθώς από τις αντιδράσεις μεταβολισμού τους παράγεται το γαλακτικό οξύ, το οξικό οξύ, η αιθανόλη και οι βακτηριοσίνες. Επιπροσθέτως, οι αρωματικές ενώσεις που παράγονται, όπως των εξωπολυσακχαριτών και των διαφόρων ενζύμων, προσδίδουν μια ιδιαίτερη υφή, εμφανώς βελτιωμένη, και ταυτόχρονα συνεισφέρουν στον καθορισμό των τελικών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τροφίμου (Leroy and De Vuyst, 2004).

3.1.4. Κατηγοριοποίηση τυριών

Τα τυριά διαφοροποιούνται ανάλογα με το είδος γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή τους, δηλαδή με βάση τα χαρακτηριστικά του γάλακτος, όπως από το αν είναι παστεριωμένο ή απαστεριώτο, από το αν είναι άπαχο, αλλά και από το ζώο από το οποίο προήλθε. Άλλο ένα κριτήριο ταξινόμησης των τυριών είναι τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που παρουσιάζει το τελικό προϊόν, όπως είναι η συνεκτικότητα, η υγρασία, η υγρασία στο άνευ λίπους τυρί, καθώς και η λιποπεριεκτικότητα του. Τέλος, ο τρόπος παρασκευής του τυριού, ο τρόπος πήξης του γάλακτος, ο χρόνος ωρίμανσης του, η εμφάνιση και άλλα πολλά έχουν προταθεί και αυτά ως κριτήρια ταξινόμησής τους. Ουσιαστικά δεν υπάρχει κανένα συγκεκριμένο σύστημα κατηγοριοποίησης των

τυριών, αλλά ένας συνδυασμός όλων των παραπάνω. Η μεγάλη ποικιλία γεύσεων, δομών και εμφάνισης οφείλεται κυρίως στις εναρκτήριες καλλιέργειες και τα ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν (Ανυφαντάκης, 2004).

3.1.5. Χρήση γαλακτικών βακτηρίων στην παραγωγή τυριών

Όπως προαναφέρθηκε, η κύρια πρώτη ύλη για την παραγωγή τυριού είναι το γάλα. Συνεπώς, το τυρί προέρχεται από την ολική ή μερική πήξη του γάλακτος με τη δράση της πυτιάς ή άλλων κατάλληλων πηκτικών μέσων (οξίνιση, θέρμανση) και με τη μερική στράγγιση του ορού του γάλακτος που προκύπτει μετά από μια τέτοια πήξη (Fox et al., 1999).

Η εναρκτήρια καλλιέργεια ορίζεται ως το μικροβιακό παρασκεύασμα ενός τουλάχιστον μικροοργανισμού, το οποίο είναι ασφαλές για τη χρησιμοποίησή του σε τρόφιμα με γνωστά και σταθερά μεταβολικά χαρακτηριστικά. Η προσθήκη αυτής της καλλιέργειας σε φρέσκο υλικό γίνεται για να επιτευχθεί η παραγωγή ζυμούμενων προϊόντων με επιθυμητή εμφάνιση, δομή, υφή, γεύση, αλλά και άρωμα. (Bertozzi et al., 1993).

Διάφορα είδη τυριών κυκλοφορούν στην παγκόσμια αγορά. Η διαφοροποίηση τους προκύπτει ανάλογα με την τεχνολογία παρασκευής και την προέλευση του γάλακτος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, την δημιουργία τυριών με διαφορετική σύσταση, εμφάνιση, γεύση και μικροβιακή χλωρίδα. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά επηρεάζονται άμεσα και καθορίζονται από τη μικροβιακή χλωρίδα του κάθε τυριού. Τα προϊόντα ζυμώσεων μπορεί να οφείλονται είτε σε μια εναρκτήρια καλλιέργεια (S-LAB), είτε σε μια μη εναρκτήρια καλλιέργεια (NS-LAB), δηλαδή στα οξυγαλακτικά βακτήρια που προϋπήρχαν στο γάλα και κατάφεραν να αναπτυχθούν. Η εναρκτήρια καλλιέργεια οξυγαλακτικών βακτηρίων ευθύνεται για την πτώση του pH του γάλακτος και κατά συνέπεια για την απόκτηση των ιδιαίτερων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τυριών που ωριμάζουν. Όσον αφορά τα απαστερίωτα τυριά, τα NS-LAB παρουσιάζουν έντονο ενδιαφέρον, καθώς αυτά συμβάλλουν στο περαιτέρω εμπλουτισμό των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους (Stiles and Holzapfel, 1997).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Lactic Acid Bacteria, LAB), παγκοσμίως, συνιστούν την πλειονότητα των εμπορικών εναρκτηρίων καλλιεργειών, τόσο σε ποσότητα όσο και σε αξία, με τη μέγιστη χρήση τους να αφορά κυρίως στη βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων (Hansen, 2002).

3.2.1. Πρώτες ύλες για την παρασκευή τυριού

Για την παρασκευή του τυριού απαιτείται, κατ' αρχάς η βασική πρώτη ύλη, δηλαδή το γάλα και στη συνέχεια η πυτιά, η εναρκτήρια ή μη εναρκτήρια καλλιέργεια και το αλάτι. Τα υπόλοιπα συστατικά που πιθανόν να εισαχθούν ανάλογα με το είδος του τυριού, όπως για παράδειγμα οι χρωστικές, το χλωριούχο ασβέστιο και διάφορα άλλα πρόσθετα, χαρακτηρίζονται ως δευτερεύοντα συστατικά και η χρήση τους δεν είναι υποχρεωτική ή απαραίτητη, έτσι ώστε να παραχθεί ορθά το τελικό προϊόν.

3.2.1.1. Γάλα προς τυροκόμηση

Ο Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ, 2009), ορίζει ότι:

“Γάλα” είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς, χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης.

“Νωπό γάλα” νοείται το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες μιας ή περισσότερων αγελάδων, προβατίνων, αιγών ή βουβαλίδων, το οποίο δεν έχει θερμανθεί πέραν των 40° C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα.

“Θερμικά επεξεργασμένο” γάλα χαρακτηρίζεται το γάλα που είναι κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση που παράγεται με θερμική επεξεργασία άμεσα και αποκλειστικά από νωπό γάλα, και το οποίο έχει τη μορφή γάλακτος παστεριωμένου, UHT και αποστειρωμένου.

Το παστεριωμένο γάλα πρέπει:

- Να έχει υποβληθεί σε επεξεργασία που περιλαμβάνει την έκθεση σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα (τουλάχιστον 71,7 °C για 15 δευτερόλεπτα ή ισοδύναμος συνδυασμός) ή σε διαδικασία παστερίωσης, που χρησιμοποιεί διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου και θερμοκρασίας για την επίτευξη ισοδύναμου αποτελέσματος.
- Να παρουσιάζει αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία φωσφατάσης και θετική αντίδραση στη δοκιμασία υπεροξειδάσης. Ωστόσο, επιτρέπεται η παραγωγή παστεριωμένου γάλακτος με αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία υπεροξειδάσης, υπό την προϋπόθεση ότι η ετικέτα του γάλακτος φέρει ένδειξη "υψηλής παστερίωσης".
- Αμέσως μετά την παστερίωση, να ψύχεται το συντομότερο δυνατόν, σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 6 °C.

Είναι δεδομένο πως το γάλα ως η κυριότερη και σημαντικότερη πρώτη ύλη του τυριού επηρεάζει το τελικό προϊόν όσον αφορά την ποιότητα, τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά, αλλά και την απόδοσή του. Η ποιότητα οποιουδήποτε τυριού είναι άμεσα συνδεδεμένη με την ποιότητα της πρώτης ύλης του. Η μικροβιολογική και η χημική κατάσταση του γάλακτος πριν την τυροκόμηση προσδιορίζει την ποιότητά του και την καταλληλότητά του για χρήση.

Όπως και κάθε άλλο τρόφιμο, έτσι και το γάλα, είτε προορίζεται για άμεση κατανάλωση, είτε για την παρασκευή τυριού, δεν πρέπει να είναι επικίνδυνο, αλλά ούτε και ακατάλληλο. Τα θρεπτικά συστατικά του γάλακτος και ιδιαίτερα εκείνα που μεταφέρονται στο τυρί, όπως για παράδειγμα το λίπος και οι καζεΐνες, επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, οι οποίοι καθορίζουν την τελική σύσταση και ποιότητα του τυριού. Το είδος και η φυλή του ζώου, η διατροφή του, καθώς και η γαλακτική περίοδος συμπεριλαμβάνονται σε αυτούς τους παράγοντες και έχουν άμεση σχέση τόσο με την απόδοση, όσο και με την ποιότητα του τυριού. Πιο αναλυτικά, η σύνθεση των λιπαρών οξέων, όπως και η δομή και η περιεκτικότητα της καζεΐνης σε αμινοξέα ποικίλει ανάλογα με τη φυλή του ζώου. Στο πρόβειο γάλα, για παράδειγμα, η αναλογία σε λιπαρά οξέα είναι υψηλότερη από ότι είναι σε άλλες ποικιλίες και ο αριθμός ατόμων άνθρακα κυμαίνεται από έξι έως δέκα. Η ύπαρξη των

συγκεκριμένων λιπαρών οξέων προσδίδει πιο έντονη γεύση από αυτή των οξέων με αριθμό ανθράκων μικρότερο των τεσσάρων ή με άτομα άνθρακα από δώδεκα έως δεκαοχτώ. Η δημιουργία τυριού διαφορετικής γεύσεως και υφής είναι αποτέλεσμα αυτών των διαφορών, ακόμα και αν η τεχνολογική διαδικασία που θα ακολουθηθεί είναι ακριβώς η ίδια με χρήση γάλακτος από διαφορετικό ζώο. Το χαρακτηριστικότερο παράδειγμα είναι το τυρί Φέτα, το οποίο παρασκευάζεται από διάφορα είδη γάλακτος, όπως πρόβειο ή πρόβειο σε συνδυασμό με γίδινο, και σε συγκεκριμένες πάντα αναλογίες, αλλά σε κάθε περίπτωση παρουσιάζει διαφορετική υφή και γεύση. Τέλος, είναι πιθανό ακόμη και από τις ζωοτροφές να μεταφερθούν στο γάλα και, κατά συνέπεια, στο τυρί, ουσίες που μπορεί να προσδώσουν ενδεχομένως διαφορετικές οσμές στο τυρί, οι οποίες δεν είναι πάντα και επιθυμητές.

Ωστόσο, εκτός από τους προαναφερθέντες προφανείς παράγοντες, υπάρχουν και αρκετές περιπτώσεις όπου η χρήση του γάλακτος για την παρασκευή τυριού θα πρέπει να αποφευχθεί. Συγκεκριμένα, το γάλα που συλλέγεται τις πρώτες 4 με 5 ημέρες μετά τον τοκετό, το οποίο ονομάζεται πρωτόγαλα, δεν παρουσιάζει φυσιολογική σύνθεση και η περιεκτικότητά του σε ασβέστιο και καζεΐνες είναι χαμηλότερη του φυσιολογικού. Σε αντίθεση, η περιεκτικότητά του πρωτογάλακτος σε γαλακταλβουμίνη και χλωριούχα άλατα είναι φανερά υψηλότερη από ότι είναι στο φυσιολογικό γάλα. Συνεπώς, κατά τη θερμική επεξεργασία του συγκεκριμένου γάλακτος υπάρχει υψηλή πιθανότητα να πήξει και να εμφανίσει προβλήματα κατά την διάρκεια της τυροκόμησης, κυρίως όσον αφορά την συνεκτικότητα του πήγματος.

Μια δεύτερη περίπτωση, όπου το γάλα είναι ακατάλληλο για τυροκόμηση, είναι όταν το γάλα προέρχεται από ζώα που έχουν προσβληθεί από μαστίτιδα. Η σύστασή του διαφέρει από αυτή του φυσιολογικού, και η μεγαλύτερη διαφορά τους παρουσιάζεται κυρίως στην υψηλότερη περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες και ιόντα χλωρίου, αλλά και στη χαμηλότερη περιεκτικότητά του σε καζεΐνη και ασβέστιο. Τα προβλήματα που παρουσιάζονται και εδώ είναι παρόμοια με εκείνα κατά τη χρήση πρωτογάλακτος (Κεχαγιάς, 1997).

Τέλος, η χορήγηση αντιβιοτικών σε ζώα που νοσούν, παραδείγματος χάριν από μαστίτιδα, οδηγεί στη βιοσυσώρευση τους. Τα αντιβιοτικά αποβάλλονται μέσω του γάλακτος των ζώων, με αποτέλεσμα αυτό να καθίσταται ακατάλληλο για κατανάλωση και επομένως, θα πρέπει να αποφεύγεται η χρήση του. Επιπλέον, παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των επιθυμητών οξυγαλακτικών καλλιιεργειών, ενώ επιτρέπουν την ανάπτυξη αρνητικών κατά Gram εντεροβακτηριοειδών, που προκαλούν ασθένειες στους καταναλωτές. Έτσι, η παρεμπόδιση της επιθυμητής μείωσης του pH μπορεί να καταστήσει το τυρί ακατάλληλο για τον άνθρωπο. Για τον λόγο αυτό, πραγματοποιούνται πάντοτε οι απαραίτητοι έλεγχοι, διασφαλίζοντας έτσι την καταλληλότητα του γάλακτος.

Το ανώτατο επιτρεπόμενο μικροβιακό φορτίο του γάλακτος (πίνακας 3.1) αποτελεί συνιστώσα των συνθηκών εκτροφής των ζώων, των εγκαταστάσεων συλλογής, μεταφοράς και ψύξης, πάντα βάση των κανόνων ορθής υγιεινής και βιομηχανικής πρακτικής (GHP και GMP).

Πίνακας 3.1: Ανώτατο μικροβιακό φορτίο νοπού γάλακτος αγελάδος και αιγοπροβάτων.

Είδος γάλακτος	Περιεκτικότητα σε μικρόβια στους 30 °C (ανά ml)
αγελαδινό	≤100.000
αιγοπρόβειο	≤1.000.000

Το γάλα αποτελείται από πληθώρα θρεπτικών συστατικών, των οποίων η συγκέντρωση ποικίλει. Αναλυτικότερα, τα κύρια συστατικά απαντούν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, ενώ τα δευτερεύοντα σε μικρότερες. Στον πίνακα 3.2 που ακολουθεί, παρουσιάζεται η επί της εκατό (%) σύσταση του αγελαδινού, πρόβειο και αιγείου γάλακτος. Μετά την επεξεργασία του γάλακτος, τα κυριότερα συστατικά που παραμένουν στο τυρί είναι οι πρωτεΐνες και το λίπος. Λόγω της διαλυτότητας των πρωτεϊνών, μόνο η καζεΐνη παραμένει στο τυρί, ενώ οι υπόλοιπες υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες βρίσκονται στο τυρόγαλα. Όσον αφορά στο λίπος, εγκλωβίζεται στο πλέγμα του τυροπήγματος και περιέχεται στο τυρί, ενώ ένα πολύ μικρό μέρος του διαφεύγει στο τυρόγαλα. Τα υπόλοιπα υδατοδιαλυτά συστατικά περιέχονται σε μικρή ποσότητα μέσα στο τυρί, ανάλογα με το ποσοστό υγρασίας του, αλλά και τον τρόπο ωρίμανσής του. Συνεπώς, στην τυροκομεία κύρια σημασία έχει η περιεκτικότητα του γάλακτος σε καζεΐνη και λίπος.

Πίνακας 3.2: Σύσταση επί της εκατό (%) γάλακτος διαφόρων ζώων (Ko et al.,1994).

Είδος ζώου	Λίπος %	Πρωτεΐνες %	Καζεΐνη %	Λακτόζη %	Τέφρα %	Στερεό Υπόλειμμα %
Αγελάδα	3,7	3,4	2,75	4,9	0,7	12,7
Πρόβατο	7,0	5,5	4,80	4,8	0,9	18,2
Κατσίκα	4,2	3,6	2,40	4,3	0,8	12,9
Άνθρωπος	3,7	1,6	0,55	6,9	0,2	12,4

3.2.1.2. Μικροβιολογικό φορτίο του γάλακτος τυροκόμησης

Οι πρότυπες συνθήκες παραγωγής γάλακτος δεν εκμηδενίζουν την υψηλή φυσική μικροχλωρίδα, στην οποία περιλαμβάνονται τόσο παθογόνοι όσο και μη παθογόνοι μικροοργανισμοί. Υψίστης σημασίας για την ποιότητα του τελικού προϊόντος αποτελεί το είδος και όχι η συγκέντρωση των μικροοργανισμών. Συνήθης πρακτική μετά το άρμεγμα είναι η ψύξη του γάλακτος, για την αποφυγή πολλαπλασιασμού των παθογόνων βακτηρίων. Σύμφωνα με τη νομοθεσία Π.Δ.56/95, που αποτελεί συμμόρφωση της Ελληνικής νομοθεσίας προς τις οδηγίες 95/46/ΕΟΚ και 92/47/ΕΟΚ του Συμβουλίου περί των υγειονομικών κανόνων, που διέπουν την παραγωγή γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων, η μικροχλωρίδα του γάλακτος πρέπει να πληροί τα όρια του παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3.3).

Πίνακας 3.3: Προδιαγραφές νοπού γάλακτος για παραγωγή προϊόντων.

Είδος γάλακτος	OMX*	Σωματικά κύτταρα	<i>Staphylococcus aureus</i>
Προϊόντα με θερμική επεξεργασία			
Αγελαδινό	<100.000	<400.000	-
Αιγοπρόβειο	<1.000.000	-	-
Προϊόντα νοπού γάλακτος			
Αγελαδινό	<100.000	<400.000	m=500, M=2000,
			n=5, c=21
Αιγοπρόβειο	<500.000	-	Όπως το αγελαδινό

*OMX = ολική μικροβιακή χλωρίδα

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

Οι παράμετροι m, M, n, c:

m : Τιμή κατωφλίου του αριθμού των βακτηρίων. Το αποτέλεσμα θεωρείται ικανοποιητικό, εάν σε καμία μονάδα δειγματοληψίας ο αριθμός των βακτηρίων δεν υπερβαίνει το m.

M = Οριακή τιμή των βακτηρίων. Το αποτέλεσμα θεωρείται μη ικανοποιητικό, εάν σε μία ή σε περισσότερες μονάδες δειγματοληψίας ο αριθμός βακτηρίων είναι τουλάχιστον ίσος προς το M.

n = Αριθμός μονάδων δειγματοληψίας που αποτελούν το δείγμα.

c = Αριθμός μονάδων δειγματοληψίας των οποίων ο αριθμός των βακτηρίων μπορεί να κυμαίνεται από m έως M. Το δείγμα θεωρείται ακόμα αποδεκτό, εάν στις άλλες μονάδες δειγματοληψίας ο αριθμός των βακτηρίων δεν υπερβαίνει το m.

Η ολική μικροχλωρίδα του αγελαδινού γάλακτος προς τυροκόμηση θεωρείται ικανοποιητική όταν δεν υπερβαίνει τα 100.000 cfu/ml. Ωστόσο, σε πραγματικές συνθήκες ακόμα και μεγαλύτεροι αριθμοί δεν προκαλούν προβλήματα αν το γάλα έχει ψυχθεί πριν τη μεταφορά του σε βιομηχανικές μονάδες γάλακτος, για περαιτέρω επεξεργασία. Συγκριτικά με τα υπόλοιπα είδη γάλακτος, το αιγοπρόβειο γάλα έχει υψηλότερο μικροβιακό φορτίο. Το ανώτερο επιτρεπτό όριο του αιγοπρόβειου γάλακτος δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 1.500.000 cfu/mL.

Ο περιορισμός του ρυθμού ανάπτυξης των μικροοργανισμών επιτυγχάνεται με την ψύξη του γάλακτος στους 15 °C. Η αναστολή της ανάπτυξης των παθογόνων βακτηρίων γίνεται με ψύξη στους 4 με 5 °C. Οι μόνοι μικροοργανισμοί που καταφέρνουν να αναπτυχθούν σε αυτές τις θερμοκρασίες είναι οι ψυχρότροφοι και κυρίως τα γένη των *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Algaligenes* και *Flavobacterium*, αλλά με βραδύ ρυθμό. Επειδή τα ψυχρότροφα βακτήρια είναι πρωτεολυτικά και λιπολυτικά, η συντήρηση του γάλακτος πέραν των τριών ημερών στη θερμοκρασία των 5 °C μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες οσμές στο γάλα. Επιπλέον, είναι πιθανό ένζυμα που είναι ανθεκτικά στην παστερίωση να λειτουργήσουν και τα προϊόντα των αντιδράσεών τους να αλλοιώσουν το τελικό τρόφιμο. Η αποθήκευση του γάλακτος υπό ψύξη πριν την τυροκόμηση ενδέχεται να είναι υπεύθυνη για την απώλεια ποσότητας αζώτου, με συνέπεια να μειωθεί η απόδοση του γάλακτος σε τυρί και να προκαλέσει συναίρεση του πήγματος. Η άποψη αυτή δεν γίνεται από όλους τους επιστήμονες αποδεκτή (Κεχαγιάς, 1997). Επομένως, είναι απαραίτητο η διαδικασία της

παστερίωσης να γίνεται έγκαιρα και ορθά, επιτυγχάνοντας με αυτή τη μέθοδο την καταστροφή του μεγαλύτερου ποσοστού των μικροβιακών πληθυσμών, με εξαίρεση την επιβίωση μόνο των θερμοφίλων και σποριογόνων μικροοργανισμών. Από τεχνολογικής άποψης, ιδιαίτερα σημαντικά είναι τα αναερόβια κλωστρίδια, τα οποία ευθύνονται για τη βουτυρική ζύμωση και για το όξιμο ‘ψίλλιασμα’ στο τυρί, υποβαθμίζοντάς το, έτσι, ποιοτικά σε γεύση και εμφάνιση. Τυριά ελβετικού τύπου όπως το Emmental και η Γραβιέρα είναι πιθανό να αποκτήσουν τέτοιου είδους αλλοιώσεις.

Πολύ σημαντικό ρόλο στην τυροκομεία καταλαμβάνουν οι τυχόν επιμολύνσεις του γάλακτος, αφού αυτό έχει ήδη παστεριωθεί, και ιδιαίτερα όταν η μικροχλωρίδα των επιμολύνσεων αποτελείται από τα κολοβακτηριοειδή και τις ζύμες. Η ύπαρξή τους είναι η κύρια αιτία πρόκλησης πρώιμου φουσκώματος, αλλά και δημιουργίας ανεπιθύμητων οπών στα τυριά. Τέλος, είναι ικανά να επηρεάσουν αρνητικά την γεύση του προϊόντος και να το υποβαθμίσουν ποιοτικά, με αποτέλεσμα να μειωθεί η εμπορική του αξία, ακόμα και να το καταστήσουν επικίνδυνο για τη δημόσια υγεία (Ζερφυρίδης, 2001). Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει, για την αποφυγή τροφιμογενών νοσημάτων, συγκεκριμένες μικροβιολογικές προδιαγραφές, με τις οποίες θα πρέπει να συμμορφώνονται τόσο το γάλα κατά τη συλλογή και εκμετάλλευσή του (όπως αναφέρθηκε στον Πίνακα 3.3), όσο και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Πίνακας 3.4).

Πίνακας 3.4: Μικροβιολογικές προδιαγραφές στα τυριά.

Είδος μικροβίου	Είδος τυριού	Προδιαγραφές			
		m	M	n	c
Κολοβακτηριοειδή	Μαλακά από παστεριωμένο γάλα	10.000/g	100.000/g	5	2
<i>Esherichia coli</i>	Από απαστερίωτο ή θερμισμένο γάλα	10.000/g	100.000/g	5	2
	Μαλακά από παστεριωμένο γάλα	100/g	1.000/g	5	2
<i>S. aureus</i>	Νωπά ή από θερμισμένο γάλα	1.000/g	10.000/g	5	2
	Νωπά από παστεριωμένο γάλα	100/g	1.000/g	5	2
	Νωπά τυριά	10/g	100/g	5	2
<i>Salmonella spp.</i>	Όλα τα είδη		Απουσία σε 1g		
<i>Listeria Monocytogenes</i>	Σκληρά τυριά		Απουσία σε 1g		
	Όλα τα άλλα είδη		Απουσία σε 25g		

[Πηγή: Οδηγία 92/46 ΕΟΚ του Συμβουλίου; Ανυφαντάκης, 2004]

Οι συμβολισμοί m, M, n, c αναφέρονται στους ίδιους ορισμούς με αυτούς που δόθηκαν στον Πίνακα 3.3.

3.2.1.3. Αντιμικροβιακές ουσίες στο γάλα τυροκόμησης

Το τυρί, ως ζυμώμενο προϊόν, παρουσιάζει το βιοχημικό φαινόμενο της ωρίμανσης. Αρχικά, το γάλα, από το οποίο προέρχεται το τυρί, πρέπει να είναι απαλλαγμένο από υπολείμματα ουσιών, που, ενδεχομένως, να επιβραδύνουν ή και να διακόψουν τη μικροβιακή δραστηριότητα πρώτα στο ίδιο το γάλα και εν τέλει στο τυρόπηγμα και στο τυρί. Ουσίες όπως τα αντιβιοτικά που χορηγούνται στα ζώα ανήκουν στην προηγούμενη κατηγορία που αναφέρθηκε. Σύμφωνα με τις διεθνείς προδιαγραφές, είναι σχεδόν παράνομο να προμηθεύεται η βιομηχανία γάλα από ζώο που είχε πάρει αντιβιοτικό τουλάχιστον δύο ημέρες πριν την άμελξή του. Ακόμα και 4 με 5 ημέρες μετά την τελευταία δόση του αντιβιοτικού, υπάρχει περίπτωση να απορριφθεί το γάλα, αλλά αυτό εξαρτάται από τη δοσολογία φαρμάκου και από το είδος του παρασκευάσματος που χορηγήθηκε στο ζώο. Οι καλλιέργειες εκκίνησης παρεμποδίζονται ή καταστρέφονται εξαιτίας της παρουσίας των αντιβιοτικών στο γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση, με αποτέλεσμα την εξουδετέρωση επιθυμητών βακτηρίων και την πιθανή ανάπτυξη ανεπιθύμητων, που ευθύνονται για αλλοιώσεις στο τυρί (Ζερφυρίδης, 2001).

3.2.1.4. Ένζυμα πήξης του γάλακτος

Σχεδόν όλα τα πρωτεολυτικά ένζυμα που υπάρχουν στο γάλα, είναι ιδιαίτερα σημαντικά, καθώς είναι η κύρια αιτία πήξης του γάλακτος, όταν ευνοηθούν από τις κατάλληλες συνθήκες. Στη διαδικασία της τυροκόμησης τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο είναι η πυτιά και η πεψίνη. Η επιλογή συγκεκριμένων ενζύμων συμβαίνει διότι πολλά ένζυμα, εκτός από τη συμμετοχή τους στην πήξη του γάλακτος, συμμετέχουν και σε πολύπλοκες διεργασίες ωρίμανσης τυριών και συχνά υποβαθμίζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος, προκαλώντας μειονεκτήματα στην γεύση τους (Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989).

Από τα πιο κοινά ένζυμα που συμμετέχουν στην τυροκομεία είναι η χυμοσίνη ή ρεννίνη, η οποία είναι ζωικής προέλευσης και χρησιμοποιείται στην καθαρή της μορφή. Η χυμοσίνη προέρχεται από το τέταρτο τμήμα του στομαχιού των μη απογαλακτισμένων μοσχαριών, το οποίο ονομάζεται ήνυστρο, με τη μορφή εκχυλίσματος και είναι γνωστή ως 'πυτιά'. Επομένως, οι ορολογίες χυμοσίνη και πυτιά είναι αλληλένδετες και χρησιμοποιούνται εξίσου και οι δύο (Ζερφυρίδης, 1989).

Όπως προαναφέρθηκε, το ένζυμο χυμοσίνη περιέχεται στην πυτιά, υπό τη μορφή προενζύμου (χυμοσίνη και πεπτιδίο), το οποίο, εν συνεχεία, ενεργοποιείται όταν το πεπτιδίο αποσπαστεί σε όξινες συνθήκες, δηλαδή σε pH από 2 έως 4,7. Σε πολύ μικρότερη αναλογία περιέχονται στην πυτιά και άλλες πεπτιδάσες όπως η πεψίνη, η θρυψίνη, κ.α., αλλά στην πυτιά του εμπορίου κυριαρχεί η χυμοσίνη (Ζερφυρίδης, 1989; Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989;

Ανυφαντάκης, 1989). Η σταθερότητα της πυτιάς επηρεάζεται και από το pH και από τη θερμοκρασία. Έχει αποδεχτεί ότι μεγαλύτερη σταθερότητα επιτυγχάνεται όταν το pH είναι 5,8 και διατηρείται σε θερμοκρασία κάτω των 15 °C σε ξηρό μέρος (Ζερφυρίδης, 1989).

Θεωρείται ότι η δράση της χυμοσίνης στο γάλα επιτελείται σε τρεις φάσεις:

- i) Σε πρώτη φάση διενεργείται μια ειδική πρωτεόλυση, με αποτέλεσμα να αποδομηθεί η καζεΐνη, ούτως ώστε να σχηματιστεί πηκτή. Η κ-καζεΐνη συμμετέχει αποκλειστικά σε αυτή τη διαδικασία.
- ii) Η δεύτερη φάση δεν είναι ενζυμική και τότε δημιουργείται ο σχηματισμός του πήγματος, αφού προηγηθεί η αντίδραση των μικυλλίων της καζεΐνης με τα παρόντα ιόντα ασβεστίου.
- iii) Τέλος, η τρίτη φάση της γενικευμένης πρωτεόλυσης συνεχίζεται και στο τυρί, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής του, δρώντας σε πεπτιδικούς δεσμούς.

3.2.2.1. Πυτιά-Υποκατάστατα πυτιάς

Στην τεχνολογία παραγωγής των τυριών η χαρακτηριστικότερη διεργασία είναι η πήξη της πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα τον εγκλωβισμό του λίπους μέσα στο πήγμα. Διάφορες ουσίες και ποικίλες επιδράσεις είναι ικανές για να προκληθεί η πήξη του γάλακτος. Οι ουσίες που συμπεριλαμβάνονται στην πήξη του γάλακτος είναι οι αλκοόλες, τα οξέα και τα άλατα, ενώ στις επιδράσεις συγκαταλέγονται η θέρμανση, η κατάψυξη, η ακτινοβολία και τα ένζυμα. Για την επίτευξη της πήξης του γάλακτος χρησιμοποιούνται επιλεγμένα ένζυμα, τα οποία είναι πηκτικά παρασκευάσματα από όξινες πρωτεΐνάσες και ταυτόχρονα η οξίνιση του γάλακτος πρέπει να κυμαίνεται στο ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών του (pH 4,6) ή η οξίνιση του να βρίσκεται σε pH 5,2 και πάντα σε συνδυασμό με θέρμανση. Ωστόσο, σε ορισμένες ποικιλίες ιταλικών τυριών χρησιμοποιούνται συμβατικά λιπάσες.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το πιο κοινό ένζυμο που χρησιμοποιείται στη σύγχρονη τυροκομεία είναι η χυμοσίνη ή ρεννίνη, στην καθαρή του μορφή. Το εκχύλισμα, το οποίο είναι ζωικής προέλευσης, περιέχει, επίπλέον, την πεψίνη, την τρυψίνη και άλλες πεπτιδάσες. Επομένως, η πυτιά είναι μια ετερογενής ουσία, υπεύθυνη για την παρασκευή της κρυσταλλικής χυμοσίνης, που παρουσιάζει εξαπλάσια δραστηριότητα.

Ο Christian Ditlev Ammentorp Hansen στη Δανία το 1874 ήταν ο πρώτος που παρασκεύασε τυποποιημένη και σταθερή πυτιά. Η πυτιά εξαπλώθηκε ραγδαία και στις υπόλοιπες ευρωπαϊκές χώρες και για την παραγωγή της χρησιμοποιήθηκαν ήνυστρα μη απογαλακτισμένων μοσχαριών, σε ηλικία δεκαπέντε με είκοσι ημερών. Σε μεγαλύτερη ηλικία και κυρίως μετά τον απογαλακτισμό του νεογνού εμφανίζεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις το ένζυμο πεψίνη, το οποίο σε αντίθεση με τη χυμοσίνη είναι ικανό να μεταβολίσει τις ανοσογλοβουλίνες του πρωτογάλακτος, με αποτέλεσμα τη σταδιακή μείωση της χυμοσίνης, έως ότου αυτή εξαφανισθεί παντελώς (Ανυφαντάκης, 2004).

3.2.2.2. Ένζυμα τυτιάς

1. **Χυμοσίνη:** Η χυμοσίνη είναι μια υδατοδιαλυτή ενδοπεπτιδάση με ισοηλεκτρικό σημείο 4,6 με 4,7. Η πρόδρομη ένωση της ονομάζεται προρεννίνη ή προχυμοσίνη και συντίθεται στο ήνυστρο νεαρών μηρυκαστικών. Όταν η πρόδρομη ένωση βρεθεί σε όξινο περιβάλλον, διαχωρίζεται ένα πεπτίδιο μοριακού βάρους 5300 g/mol, απελευθερώνοντας τη χυμοσίνη. Η διάσπαση αυτή είναι αυτοκαταλυόμενη έως ένα βαθμό. Όπως προαναφέρθηκε, ισχύει ότι όσο μεγαλώνει το νεογνό το ήνυστρο παράγει μεγαλύτερη ποσότητα πεψίνης και λιγότερη ποσότητα χυμοσίνης, έως ότου η τελευταία σταματήσει να παράγεται οριστικά. Από δραστηκής απόψεως, η πεψίνη που προέρχεται από μοσχάρια είναι πανομοιότυπη με τη ρεννίνη και έχει τη δυνατότητα να μεταβολίσει τις ανοσογλοβουλίνες. Εκτός από ρεννίνη, οι τυτιές του εμπορίου πάντοτε περιέχουν και μια μικρή ποσότητα πεψίνης.

Η ρεννίνη μπορεί να υδρολύσει τα μόρια των πρωτεϊνών του γάλακτος, με αποτέλεσμα να προκύψουν πεπτίδια διαφορετικού μεγέθους, που είναι υπεύθυνα για τα διαφορετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε τυριού. Όσο αυξάνεται το pH, μειώνεται η ενεργότητα της χυμοσίνης. Η καλύτερη τιμή του pH, έτσι ώστε να επιτευχθεί πλήρης πρωτεόλυση, είναι το 3,8. Όμως, το βέλτιστο pH δράσης της χυμοσίνης στο τυρί είναι μεγαλύτερο από ότι ήταν όταν το ένζυμο βρισκόταν σε υδατικό περιβάλλον. Η θερμοκρασία είναι ένας ακόμα παράγοντας που επηρεάζει την ενεργότητα του ενζύμου. Θερμοκρασίες άνω των 40 °C αδρανοποιούν την δράση της χυμοσίνης. Επιπροσθέτως, τα άλατα δρουν προστατευτικά και παρεμποδίζουν την αδρανοποίηση της χυμοσίνης, για αυτό και οι τυτιές που υπάρχουν στην αγορά περιέχουν υψηλή συγκέντρωση αλάτων. Όσον αφορά τις καζεΐνες του γάλακτος, εκτός από την απαραίτητη για σχηματισμό πήγματος κ-καζεΐνη, η διάσπαση των υπολοίπων μετριέται σε διαφορετικούς χρόνους, σύμφωνα με την παρακάτω σειρά: α_1 -> β -> α_2 -. Το αλάτι λειτουργεί ανασταλτικά στην πρωτεολυτική δράση του ενζύμου, ιδίως πάνω στη β - καζεΐνη (Walstra and Jenness, 1984).

Ανάλογα με το είδος του τυριού, η διαδικασία της αφυδάτωσης του πρώτου πήγματος διαφέρει και η συμπύκνωση του λίπους και της καζεΐνης κυμαίνεται από έξι έως δώδεκα φορές. Το πρώτο πήγμα δημιουργείται όταν η κ-καζεΐνη διασπαστεί από τα πρωτεολυτικά ένζυμα της τυτιάς, κυρίως από την χυμοσίνη ή την πεψίνη ή από άλλες πρωτεϊνάσες μικροβιακής φύσεως.

Η παραγωγή της τυτιάς σε βιομηχανικές μονάδες πραγματοποιείται αφού πρώτα προηγηθεί η παραγωγή της χυμοσίνης από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς. Δηλαδή, επιλεγμένοι μικροοργανισμοί, όπως είναι ο *Kluyveromyces lactis*, η *Escherichia coli* και ο *Aspergillus niger*, περιέχουν στο DNA τους το γονίδιο που παράγει φυσιολογικά τη χυμοσίνη (ή την προχυμοσίνη) στα μοσχάρια (Fox and Stepaniak, 1993).

2. **Πεψίνη:** Η προέλευση της πεψίνης είναι κυρίως από το μοσχάρι και, ως επί το πλείστον, χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με τη χυμοσίνη, σχηματίζοντας ένα μίγμα, το οποίο αποτελεί την τυτιά που διακινείται διεθνώς στο εμπόριο. Έχει διαπιστωθεί η ύπαρξή της στα επιθηλιακά

κύτταρα των μη απογαλακτισμένων μοσχारीών, αλλά και των ενήλικων βοοειδών με τη μορφή προενζύμου, που ονομάζεται πεψινογόνο. Η οξίνιση του πεψινογόνου, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή της πεψίνης, όπως συμβαίνει και στην περίπτωση της χυμοσίνης.

Τα δύο αυτά ένζυμα δρουν πρωτεολυτικά επί των καζεϊνικών κλασμάτων κατά την ωρίμαση των τυριών. Θεωρείται ότι το κύριο προϊόν των αντιδράσεων και των δύο ενζύμων είναι πανομοιότυπο, με τη μόνη διαφορά ότι στην περίπτωση της πεψίνης ο αριθμός των πεπτιδίων που παράγεται είναι μεγαλύτερος και με μικρότερο μοριακό βάρος (Ανυφαντάκης, 2004). Η αναλογία των παρασκευασμάτων 50% χυμοσίνης και 50% πεψίνης είναι ιδιαίτερα αποδεκτή, διότι δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές, συγκριτικά με την χρήση της ίδιας της πυτιάς, κατά την παρασκευή του τυριού. Ωστόσο, αναφέρονται ορισμένα αμελητέα μειονεκτήματα, όπως ότι το τυρόπηγμα στην αρχή έχει μαλακότερη υφή, ενώ, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του τυριού, αρχίζει να σκληραίνει. Τέλος, υπάρχουν αναφορές ότι το τυρόπηγμα, την περίοδο της άνοιξης, έχει μεγαλύτερη απώλεια λίπους, η οποία οδηγεί στην μικρότερη απόδοση τυριού, καθώς και στην μειωμένη ένταση της γεύσης του κατά την ωρίμανση (Ζερφυρίδης, 2001).

3.2.2.3. Πηκτική Δύναμη

Στο εμπόριο η πυτιά κυκλοφορεί σε δύο μορφές, την υγρή και την λυοφιλιωμένη (σε σκόνη). Ανάλογα το είδος της πυτιάς, τις συνθήκες και την διάρκεια συντήρησης της, η πηκτική δύναμη παρουσιάζει διαφορές. Η ισχύς της υγρής πυτιάς υπολογίζεται 1:15.000, ενώ της σκόνης 1:100.000. Συνεπώς, ένα μέρος της υγρής πυτιάς πήζει σε 15.000 μέρη γάλακτος και αντίστοιχα ένα μέρος της πυτιάς σε σκόνη πήζει σε 100.000 μέρη γάλακτος, στους 35 °C για 40 λεπτά.

Ουσιαστικά, η πηκτική δύναμη προσδιορίζεται ως εξής: σε 100 mL γάλακτος 35 °C προστίθεται 1 mL υγρής πυτιάς ή 1 mL διαλύματος σκόνης και υπολογίζεται ο χρόνος που απαιτείται για την πήξη του. Η εξίσωση της πηκτικής δύναμης είναι η ακόλουθη:

$$P = (100 \times 2400) / T \text{ (Εξίσωση 1.1)}$$

Όπου, P: πηκτική δύναμη της πυτιάς

T: χρόνος πήξης σε δευτερόλεπτα

Η πηκτική δύναμη θεωρείται ικανοποιητική όταν ο χρόνος πήξης είναι 4 έως 6 λεπτά. Στην περίπτωση που η πήξη πραγματοποιείται σε λιγότερο από 4 λεπτά γίνεται αραιώση της πυτιάς με νερό, αντίθετα το διάλυμα γίνεται πυκνότερο για χρόνους άνω των 6 λεπτών (Κεχαγιάς, 2001). Όταν πραγματοποιείται αραιώση της πυτιάς, πρέπει να συνυπολογίζεται ο συντελεστής αραιώσής της στον τελικό χρόνο πήξης του γάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004).

3.2.2.4. Υποκατάστατα πυτιάς

Η αυξημένη ζήτηση παραγωγής τυριών, καθώς και ο μεγάλος αριθμός νεαρών μοσχारीών που σφαγιάζονται για την παραγωγή της πυτιάς, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της τιμής της διεθνώς. Έτσι, γεννήθηκε η ανάγκη εύρεσης νέων υποκατάστατων. Τα υποκατάστατα είναι πρωτεολυτικά

ένζυμα φυτικής ή μικροβιολογικής προελεύσεως ή προέρχονται από άλλα μηρυκαστικά και σκοπός τους είναι να αντικαταστήσουν την πυτιά και τις λειτουργίες της. Ωστόσο, δεν καθίσταται αυτόματα κατάλληλο ως υποκατάστατο κάθε πρωτεολυτικό ένζυμο που πήζει το γάλα. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα που προσδίδουν παρόμοια οργανοληπτικά χαρακτηριστικά με αυτά της πυτιάς και έχουν την ικανότητα να παράγουν πήγμα και τυρί είναι αυτά που επιλέγονται.

3.2.3.1. Αλάτι

Στα περισσότερα τυριά κατά τη διαδικασία παραγωγής τους χρησιμοποιείται η προσθήκη άλατος. Ένα τυρί που αποτελεί εξαίρεση και δεν περιέχει καθόλου αλάτι είναι το τυρί Cottage. Το κοινό μαγειρικό αλάτι, που χρησιμοποιείται στη διεργασία της αλάτισης του τυριού, δεν πρέπει να περιέχει υγρασία πάνω από 4% και ταυτόχρονα πρέπει η περιεκτικότητά του σε μαγνήσιο και σίδηρο να είναι μεγαλύτερη από 0,01% για το κάθε μέταλλο. Σε αντίθεση, το αφυδατωμένο αλάτι πρέπει να έχει περιεκτικότητα τουλάχιστον 99,5% χλωριούχου νατρίου, ώστε να θεωρηθεί κατάλληλο για τυροκόμηση.

Το ομαλό αλάτισμα του τυριού παρεμποδίζεται όταν το αλάτι είναι λεπτόκκοκο, διότι τότε υπάρχει κίνδυνος να απορροφηθεί γρήγορα από το τυρί, με συνέπεια να σκληρύνει υπερβολικά η επιδερμίδα του. Όταν το μέγεθος των κόκκων του αλατιού είναι μέτριο, διευκολύνει την πλεονάζουσα υγρασία του τυριού να αποβληθεί, επιτυγχάνοντας, έτσι, το επιθυμητό αλάτισμα της τυρομάζας (Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989; Ανυφαντάκης, 1989).

Το αλάτι επιγραμματικά λειτουργεί ως εξής:

- α) Παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των ανεπιθύμητων παθογόνων βακτηρίων, τα οποία είναι πιθανό να επιμολύνουν την τυρομάζα.
- β) Ευνοεί τη δράση των πρωτεολυτικών ενζύμων βακτηριακής προέλευσης, καθώς και της πυτιάς και γενικότερα επηρεάζει τις πολύπλοκες φυσικοχημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά το στάδιο της ωρίμανσης.
- γ) Συμβάλλει στην κατανομή του ελεύθερου και δεσμευμένου νερού και είναι ρυθμιστικός παράγοντας της υγρασίας του τυριού και κατά συνέπεια επηρεάζει την ενεργότητα νερού (a_w) του τελικού προϊόντος.
- δ) Συμβάλλει στη διαμόρφωση των γευστικών, των δομικών και των αισθητικών χαρακτηριστικών του τυριού, βελτιώνοντας τις οργανοληπτικές του ιδιότητες (Ζερφυρίδης, 1989; Ανυφαντάκης, 1989).

3.2.3.2. Επίδραση της προσθήκης αλατιού

Το αλάτι της τυροκομείας πρέπει να είναι μικροβιολογικά ελεγμένο και κατάλληλο χημικά και υγειονομικά, ούτως ώστε να χρησιμοποιηθεί άφοβα για την παραγωγή εδάδιμων προϊόντων. Η περίπτωση παρουσίας ακάθαρτου αλατιού επιμολύνει το τυρί με πιθανώς επικίνδυνα ξένα σώματα και ταυτόχρονα το επιβαρύνει με μια άγνωστη και ενδεχομένως επικίνδυνη μικροχλωρίδα. Όπως

προαναφέρθηκε, το διάλυμα με συγκέντρωση αλατιού μέχρι 10% πρέπει να είναι άχρωμο και το αλάτι πρέπει να περιέχει υγρασία κάτω από 4%, ενώ το ξηρό αλάτι κάτω από 0,2%. Όπως και οι υπόλοιπες συντηρητικές ουσίες των τροφίμων, το αλάτι δεν πρέπει να περιέχει αρσενικό και μόλυβδο σε ποσότητες μεγαλύτερες από 3 και 10 ppm αντίστοιχα, σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών. Οι προδιαγραφές του FAO ισχύουν για τα υπολείμματα άλλων στοιχείων. Ισχύει, λοιπόν, ότι η συγκέντρωση σιδήρου στο τυρί δεν πρέπει να ξεπερνά τα 10 ppm, διότι μπορεί να του προκαλέσει κόκκινα στίγματα. Τέλος, ο χαλκός δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 2 ppm, καθώς μπορεί να επιδράσει στις ενζυμικές αντιδράσεις και στα οξειδωτικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα στο τυρί, επηρεάζοντας και την αρχική του μικροχλωρίδα (Ζερφυρίδης, 2001).

Ανάλογα το μέγεθος του αλατιού, το ξηρό αλάτισμα μπορεί να διαφοροποιήσει το τελικό προϊόν. Πιο αναλυτικά, εάν το αλάτι είναι πολύ ψιλό, λιώνει εύκολα και απορροφάται μόνο από την εξωτερική επιφάνεια του τυριού, δημιουργώντας ένα σκληρό περίβλημα. Όμως, το εσωτερικό του τμήμα παραμένει ανάλατο, με αποτέλεσμα η απορρόφηση του αλατιού από το τυρί να θεωρείται ανομοιόμορφη. Ανεπιθύμητα αποτελέσματα έχουμε και στην περίπτωση που το αλάτι είναι πιο χοντρό από το κατάλληλο μέγεθος. Αυτό μπορεί να προκαλέσει την καθυστέρηση της απορρόφησης του αλατιού από το εσωτερικό τμήμα του τυριού, διότι αργεί να λιώσει.

Η ποσότητα του αλατιού, αλλά και ο τρόπος αλατίσματος μεταβάλλονται ανάλογα με το είδος του τυριού. Οι κυριότερες κατηγορίες αλατίσματος είναι το ξηρό ή επιφανειακό αλάτισμα, η άμεση ανάμιξη τυροπήγματος και αλατιού και, τέλος, το αλάτισμα του τυριού σε άλμη. Στη μέθοδο άμεσης ανάμιξης αλατιού και τυροπήγματος προστίθεται κατευθείαν το αλάτι στο τυρόπηγμα, προτού εκείνο τοποθετηθεί σε καλούπια. Η διαδικασία αυτή ακολουθείται στη παρασκευή τυριού Cheddar. Υπάρχουν ακόμη περιπτώσεις, όπως το τυρί Domiati, το οποίο παράγεται στην Αίγυπτο, όπου το αλάτι προστίθεται ακόμη και στο γάλα. Στη μέθοδο ξηρού αλατίσματος το χονδρόκοκκο αλάτι τοποθετείται στην επιφάνεια του τυριού και, εν συνεχεία, απλώνεται το λιωμένο αλάτι και στις πλαϊνές επιφάνειες. Συνήθως το ξηρό αλάτισμα προηγείται ή έπεται της μεθόδου αλατίσματος σε άλμη. Η μέθοδος αλατίσματος σε άλμη θεωρείται ότι αποτελεί τον καταλληλότερο τρόπο αλατίσματος των τυριών, αν και αυτό εξαρτάται και από το είδος του τυριού που παράγεται. Η πυκνότητα της άλμης, ανάλογα με το είδος του τυριού, κυμαίνεται σε ποσοστά από 18 έως 22% (Ζερφυρίδης, 2001).

Το αλάτι, εκτός από την οξύτητα που αδιαμφισβήτητα προστατεύει το τυρί, μπορεί να θεωρηθεί και αυτό φυσικό συντηρητικό του. Η ωρίμανση του τυριού επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την προσθήκη του αλατιού, καθώς αυτό επιδρά στη μικροχλωρίδα του και σε πολλές από τις ενζυμικές του αντιδράσεις. Η δράση των ανεπιθύμητων μικροοργανισμών αναστέλλεται και η ανάπτυξη των επιθυμητών βακτηρίων επιβραδύνεται, εξαιτίας της προσθήκης αλατιού. Τέλος, υπάρχουν και οι αλόφιλοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι αναπτύσσονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις αλατιού. Με τον τρόπο αυτό εξισορροπεί τη δράση των μικροοργανισμών.

Επιπροσθέτως, το αλάτι συντελεί στις φυσικοχημικές μεταβολές του τυριού. Πιο αναλυτικά, συντελεί σε μεταβολές όπως η αύξηση του pH και η διατήρησή του στα επιθυμητά επίπεδα για την πραγματοποίηση των κατάλληλων ζυμώσεων. Ταυτόχρονα, ευνοεί την υδρόλυση της αs-καζεΐνης, ενώ δεν επηρεάζει την υδρόλυση της β-καζεΐνης (συντελεστής άλατος >5%), της οποίας τα προϊόντα μπορεί να προσδώσουν πικρή γεύση στο τυρί. Επίσης, ενεργοποιεί τα πρωτεολυτικά ένζυμα των νεκρών βακτηριακών κυττάρων και διευκολύνει την απελευθέρωση αυτών. Η πρωτεόλυση αποτελεί ένα από τα βασικότερα στάδια της διαδικασίας ωρίμανσης του τυριού. Τέλος, το αλάτι λειτουργεί ως ρυθμιστής της υγρασίας του τυριού. Όταν αυξάνεται η συγκέντρωσή του δημιουργεί υψηλή οσμωτική πίεση, η οποία είναι ικανή να απομακρύνει νερό από το εσωτερικό του τροφίμου, ακόμα και αν αυτό είναι χημικά δεσμευμένο, με αποτέλεσμα να μειώνει την ενεργότητα νερού και να παρεμποδίζει την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Όλες οι προαναφερθείσες επιδράσεις του αλατιού, έχουν ως βασική απόρροια τη δημιουργία ενός ασφαλούς και ευχάριστου γευστικά τελικού προϊόντος, με την προϋπόθεση φυσικά ότι οι ποσότητες που εισάγονται στο τυρί είναι οι απαιτούμενες με βάση τη νομοθεσία των προσθέτων.

Εφόσον η κατανάλωση του τυριού παγκοσμίως αυξάνεται, δημιουργήθηκε η ανάγκη μείωσης του αλατιού, έτσι ώστε να αποφευχθεί η υψηλή συγκέντρωση νατρίου στον ανθρώπινο οργανισμό. Το νάτριο έχει ενοχοποιηθεί για την πρόκληση υπέρτασης. Πολλές μελέτες υποστηρίζουν πως η λήψη καλίου μέσω της διατροφής δρα προστατευτικά έναντι του νατρίου, μειώνοντας αισθητά την απέκκριση του ασβεστίου μέσω των ούρων, αλλά και επιτυγχάνοντας μια μορφή προστασίας της σκελετικής μάζας (Karagözlu et al., 2008). Έρευνες, που αποσκοπούν στην αντικατάσταση του NaCl από το KCl στην Κεφαλογραβιέρα και στη Φέτα (Katsiari et al., 2000; Katsiari, 2001; Katsiari, 1997), έχουν αποδείξει πως τα αποτελέσματα τους είναι αρκετά ενθαρρυντικά, από φυσικοχημικής άποψης. Συγκεκριμένα, τα δείγματα Φέτας, στα οποία χορηγήθηκε μίγμα χλωριούχου νατρίου και χλωριούχου καλίου (>25%), δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές, όσον αφορά τη σύνθεση του τυριού, από τα πρότυπα δείγματα. Επομένως, η περιεκτικότητα της υγρασίας στο τυρί, το pH, η ολική πρωτεΐνη του προϊόντος, αλλά και η αλατότητα ήταν πανομοιότυπα και στα δύο δείγματα Φέτας. Ωστόσο, τα δείγματα Φέτας που παρασκευάστηκαν με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα χλωριούχου νατρίου, ήταν περισσότερο αποδεκτά, λόγω του ότι υπερτερούσαν από οργανοληπτικής άποψης.

3.2.4.1. Ειδικές μικροβιακές καλλιέργειες

Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθεί γάλα μη παστεριωμένο για την παρασκευή τυριού, η φυσική μικροχλωρίδα και τα ένζυμα του γάλακτος δεν επηρεάζονται από κάποια θερμική επεξεργασία και, κατά συνέπεια, ενεργούν αβίαστα, με αποτέλεσμα την επίτευξη της απαραίτητης οξύτητας και των ζυμώσεων που χρειάζονται για την ωρίμανση του τυριού. Λόγω της παστερίωσης του γάλακτος, μιας καθιερωμένης διαδικασίας διεθνώς, το μεγαλύτερο μέρος της φυσικής μικροχλωρίδας και των ενζύμων του γάλακτος καταστρέφεται ή αδρανοποιείται. Συνεπώς, ο ενοφθαλμισμός του γάλακτος

με ειδικές μικροβιακές καλλιέργειες είναι αναγκαίος, ούτως ώστε να διενεργηθεί η τυροκόμηση. Επομένως, οι μικροβιακές καλλιέργειες, λόγω της χρήσης παστεριωμένου γάλακτος, είναι υπεύθυνες σε ποσοστό 90% για την επιτυχημένη παρασκευή τυροκομικών προϊόντων (Ζερφυρίδης, 1989; Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989).

Ειδικά στελέχη οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) ή ειδών μυκήτων, τα οποία χρησιμοποιούνται με ποικίλους συνδυασμούς και με διαφορετικές αναλογίες και περιεκτικότητες, απαρτίζουν τις ειδικές μικροβιακές καλλιέργειες, προκειμένου να παραχθεί το εκάστοτε είδος τυριού. Το κριτήριο της επιλογής του μικροοργανισμού είναι βάση της ικανότητάς του να προσφέρει στο κάθε είδος τυριού την επιθυμητή γεύση και το επιθυμητό άρωμα (flavor) (Ζερφυρίδης, 1989; Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989).

Οι κυριότερες δράσεις της μικροβιακής καλλιέργειας είναι οι ακόλουθες:

- i. Η διαδικασία της γλυκόλυσης, δηλαδή όταν η γλυκόζη και η γαλακτόζη, οι οποίες είναι αποτέλεσμα της διάσπασης των γλυκοζιτικών δεσμών του δισακχαρίτη της λακτόζης, μετατραπούν σε γαλακτικό οξύ.
- ii. Η διαδικασία της πρωτεόλυσης, δηλαδή η αποικοδόμηση των μεγάλων πρωτεϊνικών αλυσίδων σε απλούστερες ενώσεις, όπως είναι οι πεπτόνες, τα πεπτίδια, τα αμινοξέα, κλπ.
- iii. Η διαδικασία της λιπόλυσης, δηλαδή η υδρόλυση των τριγλυκεριδίων του γάλακτος σε λιπαρά οξέα και η οξείδωση αυτών προς κετονοξέα, κετόνες, εστέρες, κτλ.. Η οξείδωση των λιπαρών οξέων προς κετονοξέα, κετόνες, εστέρες, κλπ. είναι υπεύθυνη για την τελική γεύση και το τελικό άρωμα του τυριού (Scott, 1986).

Οι σημαντικότερες καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των πιο διαδεδομένων τυριών κατανέμονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- A) Οι Οξυγαλακτικές Καλλιέργειες: Η σημαντικότερη λειτουργία τους είναι αύξηση της οξύτητας του γάλακτος. Εν συνεχεία, συνεισφέρουν στην υδρόλυση ορισμένων πρωτεϊνών και είναι υπεύθυνες για την παραγωγή ποικίλων αρωματικών ουσιών. Τα ομοζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία ονομάζονται παγκοσμίως starters (εκκινητές), εμπεριέχονται σε αυτές τις καλλιέργειες. Τα συγκεκριμένα βακτήρια ονομάζονται οξυγαλακτικά, διότι είναι υπεύθυνα για τη ζύμωση της λακτόζης προς παραγωγή γαλακτικού οξέος, με παρουσία ή όχι αερίου. Τέλος, χαρακτηρίζονται ως ομοζυμωτικά, επειδή όταν ζυμώνουν τη λακτόζη παράγεται σχεδόν εξ ολοκλήρου γαλακτικό οξύ (>85%).

Οι *Streptococcus lactis*, *Str. cremoris*, *Str. thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lact. casei*, *Leuconostoc lactis*, κ.α. αποτελούν τα κυριότερα είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων, που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές στην παγκόσμια τυροκομεία. Για την επίτευξη καλύτερων ζυμώσεων, επιλέγεται ο συνδυασμός πολλών γαλακτοβακίλλων με οξυγαλακτικούς στρεπτόκοκκους. Τα ζεύγη των γαλακτοβακίλλων και των οξυγαλακτικών στρεπτόκοκκων παρουσιάζουν άριστη συμβίωση και η βιοχημική τους δραστηριότητα αλληλοσυμπληρώνεται (Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989; Μάντης, 1991).

- B) Οι Καλλιέργειες Μυκήτων: Συμβάλλουν στην μείωση της οξύτητας του τυροπήγματος και, ταυτόχρονα, προσδίδουν μια καλύτερη υφή στην επιφάνεια ή στο εσωτερικό της μάζας των τυριών. Επιπλέον, τα ένζυμα που διαθέτουν συνεισφέρουν στην διαδικασία της ωρίμανσης. Μύκητες όπως το *Penicillium candidum* και το *Penicillium roqueforti* ανήκουν σε αυτή την κατηγορία.
- Γ) Οι Προπιονικές Καλλιέργειες: Απελευθερώνουν προπιονικό οξύ και διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), όταν μεταβολίζουν το γαλακτικό οξύ. Το διοξείδιο του άνθρακα είναι υπεύθυνο για τον σχηματισμό οπών στα τυριά, όπως συμβαίνει στη γραβιέρα και στο Emmental. Το *Propionibacterium shermanii* ανήκει στην κατηγορία αυτή.
- Δ) Οι Καλλιέργειες βακτηρίων: Τοποθετούνται και αναπτύσσονται στην εξωτερική επιφάνεια των τυριών, επιφέροντας πρωτεόλυση της καζεΐνης από την επιδερμίδα προς την εσωτερική μάζα του τυριού. Μικροοργανισμοί όπως το *Bacterium linens*, χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή του τυριού Munster και άλλων παρόμοιων τυριών. Είναι χαρακτηριστικό ότι η προσθήκη τους γίνεται είτε στο γάλα, είτε στην επιφάνεια των τυριών και η ανάπτυξή τους ευνοείται όταν βρίσκονται σε ουδέτερο περιβάλλον (Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος, 1989; Ανυφαντάκης, 1989; Μάντης, 1991).

Οι ειδικές μικροβιακές καλλιέργειες διαχωρίζονται και ως: α) μεσοφιλικές, με βέλτιστη θερμοκρασία δράσης περίπου στους 30 °C και β) θερμοφιλικές, με βέλτιστη θερμοκρασία δράσης περίπου τους 45 °C. Ανάλογα το είδος του τυριού που θα παρασκευαστεί και τη διαδικασία παραγωγής του, επιλέγεται και η ανάλογη μικροβιακή καλλιέργεια. Στη πλειοψηφία των τυριών χρησιμοποιούνται μεσοφιλικές καλλιέργειες (~30 °C). Και οι μεσοφιλικές, αλλά και οι θερμοφιλικές καλλιέργειες μπορεί να είναι είτε μικτές, είτε καθαρές (Fox, 1999; Vamam et al., 1994).

3.2.4.2. Βακτήρια Καλλιιεργειών

Όπως προαναφέρθηκε, η ομοζυμωτική ζύμωση της γαλακτόζης του γάλακτος επιτελείται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία χρησιμοποιούνται για την παρασκευή ποικίλων ζυμούμενων προϊόντων, όπως είναι τα τυριά. Η μετατροπή της γαλακτόζης σε γαλακτικό οξύ από τα οξυγαλακτικά βακτήρια συνοδεύεται πολλές φορές από την παραγωγή κάποιων υποπροϊόντων, κυρίως αερίων, όπως είναι το διοξείδιο του άνθρακα. Η ζύμωση αυτή έχει ως αποτέλεσμα το τυρί να αποκτήσει ευχάριστη οσμή και γεύση. Εξαιρέση αποτελούν ορισμένες καλλιέργειες, όπως οι προπιονικές καλλιέργειες και ορισμένοι λακτοβάκιλλοι και στρεπτόκοκκοι, οι οποίες όταν χρησιμοποιηθούν στην τυροκομεία προσδίδουν ιδιαίτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως ξεχωριστή γεύση και δημιουργία οπών στην τυρομάζα. Επομένως, η μικροβιακή καλλιέργεια θα μπορούσε να οριστεί ως ο εμβολιασμός του αποστειρωμένου γάλακτος με οξυγαλακτικά βακτήρια, συγκεκριμένου γένους και είδους, έως ότου η επώασή τους προκαλέσει την πήξη του γάλακτος, λόγω της δημιουργίας οξύτητας από την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Τέλος, οι καλλιέργειες προστίθενται αφού προηγηθεί η παστερίωση του γάλακτος, δηλαδή όταν το γάλα έχει ήδη

παστεριωθεί και στη συνέχεια ψυχθεί στη θερμοκρασία πήξης, πριν την προσθήκη της πυτιάς. Οι ποσότητες των ειδικών μικροβιακών καλλιεργειών κυμαίνονται από 0,5 έως 3%.

3.2.4.3. Οξυγαλακτικά Βακτήρια

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια αναφέρονται ως εκκινητές (starters), καθώς με αυτά αρχίζει ουσιαστικά η τυροκόμηση και οι ζυμώσεις κατά την παραγωγική διαδικασία των τυριών, και χρησιμοποιούνται ευρέως στην παγκόσμια τυροκομεία. Μέσω της διαδικασίας της ζύμωσης, μετατρέπουν τη λακτόζη του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ. Τα ομοζυμωτικά βακτήρια δεν παράγουν αέρια κατά τη ζύμωση της λακτόζης, ενώ τα ετεροζυμωτικά έχουν την ικανότητα να παράγουν και αέρια, κυρίως CO₂. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος διεθνώς χαρακτηρίζονται με τα αρχικά LAB (Lactic Acid Bacteria). Τα γένη των *Streptococcus* και *Lactobacillus* αποτελούν, κατά κύριο λόγο, την πλειονότητα των μικροβιακών καλλιεργειών στην τυροκομεία. Τα βασικά κριτήρια επιλογής των οξυγαλακτικών βακτηρίων είναι τα ακόλουθα:

- Η έλλειψη παθογένειας ή τοξικότητας, όταν καταναλωθούν από τον άνθρωπο.
- Η ικανότητα ταχείας παραγωγής γαλακτικού οξέος στην επιθυμητή ποσότητα, έτσι ώστε να διευκολυνθούν όλες οι διεργασίες της τυροκόμησης.
- Η ικανότητα επικράτησης της ανταγωνιστικής τους μικροχλωρίδας, έναντι άλλων πιθανών παθογόνων μικροοργανισμών.
- Η ευκολία ανάπτυξης και πολλαπλασιασμού τους.
- Η σταθερότητα που παρουσιάζουν σε ότι αφορά τις επιθυμητές τους ιδιότητες, κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού και της αποθήκευσής τους.

Τα κυριότερα γένη οξυγαλακτικών βακτηρίων που συναντώνται στην τυροκομεία αναφέρονται ακολούθως:

I. Γένος *Lactococcus*: Είναι ομοζυμωτικοί, μεσόφιλοι μικροοργανισμοί, που η κύρια λειτουργία τους είναι η παραγωγή οξύτητας, με αποτέλεσμα την πτώση του pH. Η προσθήκη τους στο γάλα προκαλεί τη ζύμωση της λακτόζης και δίνει ως τελικά προϊόντα ζύμωσης σε ποσοστό 95% το γαλακτικό οξύ και 5% άλλες ενδιαφέρουσες ενώσεις. Το *Lactococcus lactis* είναι το σημαντικότερο από τα πέντε είδη του γένους *Lactococcus* και χρησιμοποιείται ευρύτατα από τις γαλακτοβιομηχανίες. Τα δύο υποείδη του είναι τα *L. lactis subsp. lactis* και *L. lactis subsp. cremoris*, από τα οποία το πρώτο είναι πιο ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες και υψηλότερη συγκέντρωση άλατος, γι' αυτό και η χρήση του είναι συχνότερη. Μία παραλλαγή του, *L. lactis biovar. diacetylactis* ζυμώνει το κιτρικό οξύ και παράγει διακετύλιο, διοξειδίο του άνθρακα και άλλα τελικά προϊόντα, τα οποία προσδίδουν ιδιαίτερη γεύση στα φρέσκα τυριά. Υπάρχουν ορισμένα στελέχη, μεταξύ των στελεχών του *L. lactis*, όπου παράγουν εξω-πολυσακχαρίτες και χορηγούνται στα γαλακτοκομικά, με απώτερο σκοπό της αύξηση τους ιξώδους στο τρόφιμο. Το γένος *Lactococcus*, παρόλο που έχει περιορισμένη πρωτεολυτική δράση, έχει την ικανότητα να χρησιμοποιεί τις πρωτεΐνες του γάλακτος, ώστε να διευκολύνει την ανάπτυξή του.

II. Γένος *Streptococcus*: Ο *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* το μεγαλύτερο ενδιαφέρον από το γένος *Streptococcus*, ιδιαίτερα για τις γαλακτοβιομηχανίες. Η πρωτεολυτική ικανότητα του μικροοργανισμού είναι σχετικά μικρή, αλλά παρουσιάζει ανθεκτικότητα στη θερμοκρασία (Ανυφαντάκης, 2004). Το είδος του συγκεκριμένου στρεπτόκοκκου επωάζεται σε θερμοκρασία 45 °C, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα στελέχη των στρεπτόκοκκων, που δεν έχουν ανθεκτικότητα σε υψηλές θερμοκρασίες και αναπτύσσονται στους 25 °C. Επιπροσθέτως, προϊόν της ανάπτυξης του συγκεκριμένου μικροοργανισμού αποτελεί το οξύ και σε θερμοκρασία 50 °C, εκτός από το οξύ παράγονται και αρωματικές ουσίες.

Ο *S. salivarius subsp. thermophilus* κατά την παστερίωση του γάλακτος επιβιώνει και όταν οι συνθήκες γίνουν ξανά ευνοϊκές έχει τη ικανότητα να αναπτυχθεί και επιτελέσει τις λειτουργίες του. Ωστόσο, γενικά θεωρείται ένας ευαίσθητος μικροοργανισμός. Ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις άλατος (2%) και αντιβιοτικών (0,01 U/mL) παρουσιάζει ευαισθησία και δυσκολεύεται να επιβιώσει. Για τα τυριά που αναθερμαίνονται σε υψηλές θερμοκρασίες είναι απαραίτητες οι ιδιότητες του *S. salivarius subsp. thermophilus*, με την προϋπόθεση ότι θα χρησιμοποιείται παράλληλα με άλλες καλλιέργειες, που αποτελούνται από άλλους μικροοργανισμούς. Τα τυριά ελβετικού τύπου, το Cheddar και άλλα σκληρά τυριά είναι ορισμένα τυριά στα οποία η ύπαρξη του στρεπτόκοκκου είναι πολύ συχνή. Τέλος, σε συνδυασμό με τον *L. bulgaricus* αποτελούν τους μικροοργανισμούς που συνθέτουν τη γιαούρτη, η οποία έπειτα λειτουργεί και ως καλλιέργεια σε ποικίλα τυριά, όπως για παράδειγμα στη Φέτα (Ζερφυρίδης, 2001).

III. Γένος *Lactobacillus*: Διάφορα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία έχουν διαφορές στη φυσιολογία τους και εμφανίζουν γενετικές τροποποιήσεις, κατατάσσονται στο γένος *Lactobacillus*. Οι λακτοβάκιλλοι παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα σε όξινα περιβάλλοντα από ότι τα υπόλοιπα οξυγαλακτικά βακτήρια και έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν το pH του γάλακτος κάτω από 4.0 (Ανυφαντάκης, 2004).

Το γένος *Lactobacillus* εμπεριέχεται σε όλα τα είδη των τυριών. Στα προχωρημένα στάδια ωρίμανσης των τυριών οι στρεπτόκοκκοι μειώνονται ή παραμένουν στάσιμοι, με αποτέλεσμα ο πληθυσμός των λακτοβακίλλων να αυξάνεται αισθητά. Αυτό συμβαίνει διότι οι στρεπτόκοκκοι δεν είναι τόσο οξύαντοχοι και συνεπώς παρεμποδίζεται η αύξηση του πληθυσμού τους, όταν βρεθούν σε συνθήκες υψηλής οξύτητας. Αντίθετα, ευνοείται η ανάπτυξη του πληθυσμού των λακτοβακίλλων. Εξάλλου, για να αναπτυχθεί ο λακτοβάκιλλος, θα πρέπει πρώτα να έχει δημιουργηθεί ένα όξινο περιβάλλον, μέσα στο οποίο θα πολλαπλασιαστεί. Η χρήση των στρεπτόκοκκων (συνήθως του *S. salivarius subsp. thermophilus*) είναι υποχρεωτική για τις καλλιέργειες παρασκευής τυριών, διότι επιτυγχάνουν την αύξηση της οξύτητας. Όταν το γαλακτικό οξύ έχει συγκέντρωση από 0,6 έως 0,8%, η δράση των στρεπτόκοκκων αναστέλλεται και αρχίζει η δράση των λακτοβακίλλων, έως ότου το γαλακτικό οξύ φτάσει ή ξεπεράσει το 1,2%. Οι καλλιέργειες του γένους *Lactobacillus* δεν χορηγούνται ποτέ μόνες τους, αλλά πάντα σε

συνδυασμό με καλλιέργειες άλλων μικροοργανισμών. Η θερμοκρασία επώασης των λακτοβακίλλων είναι στους 40 °C (Ζερφυρίδης, 2001).

Οι λακτοβάκιλλοι, ανάλογα με τα τελικά προϊόντα που προκύπτουν από τη ζύμωση, ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες:

- Τους ομοζυμωτικούς. Οι *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii subsp. lactis*, *Lb. helveticus* και *Lb. Acidophilus* ανήκουν σε αυτή την κατηγορία και ζυμώνουν αποκλειστικά τις εξόζες, παράγοντας γαλακτικό οξύ, σύμφωνα με τον κύκλο Embden-Meyerhof. Οι μικροοργανισμοί αυτοί δεν χρησιμοποιούν τις πεντόζες στη διαδικασία της ζύμωσης. Τέλος, είναι θερμοάντοχοι μικροοργανισμοί και καταφέρνουν να αναπτυχθούν σε αρκετά υψηλές θερμοκρασίες (> 45 °C) από ότι αναπτύσσονται οι υπόλοιποι γαλακτοβάκιλλοι.
- Τους προαιρετικά ετεροζυμωτικούς. Τα προϊόντα της ζύμωσης των εξοζών από τους μικροοργανισμούς αυτής της κατηγορίας είναι είτε μόνο το γαλακτικό οξύ, είτε το γαλακτικό οξύ μαζί με το οξικό οξύ, την αιθανόλη και το φορμικό οξύ, όταν η συγκέντρωση της γλυκόζης είναι λιγοστή. Επιπλέον, είναι ικανά να ζυμώνουν πεντόζες προς γαλακτικό οξύ και οξικό οξύ. Ο *Lb. Casei* ανήκει σε αυτή την κατηγορία οξυγαλακτικών βακτηρίων, αλλά δεν χρησιμοποιείται συχνά ως καλλιέργεια. Έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης και εμπλέκεται στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των τυριών.
- Τους υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς. Τα βακτήρια αυτής της κατηγορίας καταναλώνουν τις πεντόζες και τις εξόζες στη διαδικασία της ζύμωσης προς παραγωγή γαλακτικού οξέος, οξικού οξέος ή αιθανόλης και, τέλος, διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Είναι υπεύθυνοι για τον σχηματισμό αερίων και για την ανεπιθύμητη γεύση και οσμή κατά την ωρίμανση ορισμένων τυριών. Ο *Lb. Kefir*, των καλλιεργειών που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του ζυμούμενου προϊόντος Κεφίρ, αποτελεί έναν υποχρεωτικά ετεροζυμωτικό μικροοργανισμό (Ανυφαντάκης, 2004). Στα τυριά ελβετικού τύπου, τα οποία αναθερμαίνονται σε θερμοκρασίες των 50 με 53 °C, χρησιμοποιείται ο *L. helveticus*. Ο *L. bulgaricus* αυξάνει την οξύτητα και χρησιμοποιείται σε πολλά σκληρά τυριά και σε λευκά τυριά άλμης, όπως είναι το τυρί Φέτα. Τέλος, ο *L. casei* χρησιμοποιείται πιο σπάνια, διότι δίνει πολύ μεγάλη οξύτητα και μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την τυροκόμηση (Ζερφυρίδης, 2001).

IV. Γένος *Leuconostocs* ή *Betacocci*: Τα κυριότερα βακτήρια του γένους *Leuconostocs*, όπου αυτό το γένος αποτελεί μια υποκατηγορία στρεπτόκοκκων, είναι το *L. citrovorum* και *L. paracitrovorum*. Αυτά τα δύο βακτήρια εμπλέκονται στη ζύμωση του κιτρικού οξέος και, κατά συνέπεια, στην παραγωγή διακετυλίου. Επομένως, είναι υπεύθυνα για το άρωμα του τυριού, αλλά λόγω της αργής ανάπτυξής τους είναι απαραίτητο να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλη οξυγαλακτική καλλιέργεια. Οι μικροοργανισμοί του γένους *Leuconostocs* είναι οξυάντοχοι και η επιβίωσή τους στο τυρί είναι καλύτερη από ότι είναι των υπόλοιπων στρεπτόκοκκων. Όμως, οι λειτουργίες τους διεκπεραιώνονται με κάποια καθυστέρηση. Θα πρέπει να αναφερθεί πως η

αυξημένη συγκέντρωση της καλλιέργειας μπορεί να επιφέρει πικρή γεύση σε ορισμένα τυριά. Επομένως, η ποσότητα που χορηγείται θα πρέπει να είναι συγκεκριμένη και να μην υπερβαίνει το αποδεκτό όριο. Από τα πρώτα κιόλας στάδια παραγωγής τυριών έχει παρατηρηθεί ότι παρουσιάζονται ελαττώματα στο τελικό προϊόν, όταν τα στελέχη των βακτηρίων, που χορηγούνται μέσω της καλλιέργειας, δεν είναι αναγνωρισμένα και έχουν προσμίξεις. Αυτό συμβαίνει διότι στην κατηγορία αυτή υπάρχουν είδη ισχυρά ετεροζυμωτικά, που αναπτύσσονται ταχύτατα, και μπορούν να υποβαθμίσουν την ποιότητα του τυριού.

- V. Γένος *Enterococcus*: Τα βακτήρια του γένους *Enterococcus* προέρχονται από το έντερο των ζώων και των ανθρώπων. Η επιμόλυνση του γάλακτος είναι πολύ συχνή, κατά το άρμεγμα και τη μεταφορά του στις γαλακτοβιομηχανίες, κυρίως λόγω της επαφής του με σκεύη που δεν είναι αποστειρωμένα ή λόγω κακής υγιεινής (επιμόλυνση από την κοπριά των ζώων). Έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται μέχρι τους 45 °C, με βέλτιστη ανάπτυξη στους 37 °C. Η διαδικασία της παστερίωσης του γάλακτος δεν καταστρέφει τα βακτήρια, τα οποία καταφέρνουν να επιβιώσουν και χαρακτηρίζονται ως θερμοάντοχα. Εκτός από τα στελέχη του *E. faecalis*, που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή τυριών, οι υπόλοιποι μικροοργανισμοί του γένους είναι παθογόνοι και προκαλούν τροφικές λοιμώξεις στον άνθρωπο.

Η οξίνιση του τυροπήγματος στον επιθυμητό ρυθμό και βαθμό είναι αποτέλεσμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Τα στελέχη των μικροοργανισμών που συμβάλλουν στη ζύμωση του γάλακτος, αλλά και οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η ανάπτυξη αυτών, επηρεάζουν την τελική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος, που προέρχεται από τη ζύμωση της λακτόζης.

Η πτώση του pH, λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, είναι η κύρια αιτία παρεμπόδισης ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών, επηρεάζοντας ταυτόχρονα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών, κυρίως το άρωμα και τη γεύση.

Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος στα τυριά επιτελεί τις κάτωθι λειτουργίες:

- Αποβολή μεγαλύτερης ποσότητας τυρογάλακτος (ταχύτερη στράγγιση), μέσω επιτάχυνσης της συναίρεσης του τυροπήγματος.
- Αύξηση της συνεκτικότητας του τυροπήγματος, που επηρεάζει την απόδοση σε τυρί.
- Ταχύτερη πήξη του γάλακτος, λόγω επιτάχυνσης της δράσης της τυτιάς.
- Επηρεάζονται ο ρυθμός αδρανοποίησης και ο βαθμός κατακράτησης στο τελικό προϊόν.
- Παρεμπόδιση της ανάπτυξης παθογόνων και αλλοιογόνων βακτηρίων.
- Επηρεάζονται οι ρεολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες των τυριών, κυρίως η κατάσταση του κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου.
- Επηρεάζεται η τελική γεύση των τυριών.

Οι πιο σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τον ρυθμό οξίνισης του εκάστοτε τυριού είναι η αναλογία, στην οποία προστίθεται στο γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση, η

θερμοκρασία του, η προσβολή τους από βακτηριοφάγους, καθώς και η πιθανή παρουσία αντιβιοτικών ή άλλων ανασταλτικών ουσιών στο γάλα (Ανυφαντάκης, 2004).

- VI. Προπιονική καλλιέργεια: Τυριά ελβετικού τύπου, όπως το Emmental και η Γραβιέρα, αποτελούν προϊόντα προπιονικής ζύμωσης και η χρήση της καλλιέργειας προσδίδει στην τυρομάζα οπές και μια γλυκίζουσα γεύση. Οι οπές που σχηματίζονται δημιουργούν την ανοιχτή δομή. Η αυξημένη συγκέντρωση προλίνης και προπιονικού οξέος προσδίδουν χαρακτηριστική γεύση στο τυρί. Κατά τη διαδικασία της γλυκόλυσης, η ζύμωση της λακτόζης έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή γαλακτικού οξέος και διοξειδίου του άνθρακα. Το διοξείδιο του άνθρακα είναι υπεύθυνο για τον σχηματισμό των οπών στο τυρί.

Το *Propionibacterium shermanii* προστίθεται σε μικροποσότητες στο γάλα και μετά από 15 ημέρες επώασης στο τυρί, παράγει προπιονικό οξύ. Στα πρώτα στάδια της τυροκόμησης χρησιμοποιούνται μικροβιακές καλλιέργειες άλλων μικροοργανισμών. Έπειτα, κατά την ωρίμανση προστίθεται η προπιονική καλλιέργεια, η οποία στη συνέχεια δρα και προσδίδει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στο τελικό προϊόν. Το *Propionibacterium shermanii* αναπτύσσεται παρουσία σακχάρου και γαλακτικού νατρίου. Επώάζεται σε θερμοκρασία 30 °C και διατηρείται στους 16-18 °C, έως ότου χρησιμοποιηθεί. Τέλος, προϊόν του βακτηρίου αποτελεί η βιταμίνη B₁₂.

Στους πίνακες 3.5 και 3.6 παρατίθενται μερικά από τα χαρακτηριστικά των σπουδαιότερων μικροοργανισμών, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως οξυγαλακτικές καλλιέργειες στην παγκόσμια βιομηχανία τυροκόμησης.

Πίνακας 3.5: Χαρακτηριστικά σπουδαιότερων μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως οξυγαλακτικές καλλιέργειες.

Μικροοργανισμοί	Παλιά ονομασία	% Παραγωγή γαλακτικού οξέος στο γάλα	Μορφή ισομερούς γαλακτικού
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	<i>Str. thermophilus</i>	0.6	L
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Χωρίς αλλαγή	2.0	DL
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lb. bulgaricus</i>	1.8	D
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>I lactis</i>	<i>Lb. lactis</i>	1.8	D
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Str. cremoris</i>	0.8	L
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Str lactis</i>	0.8	L
<i>Leuconoxtoc lactis</i>	Χωρίς αλλαγή	<0,5	D
<i>Leuconoxtoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Leuc. cremoris</i>	0.2	D
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Str lactis</i>	0.8	L
<i>Leuconoxtoc lactis</i>	Χωρίς αλλαγή	<0,5	D
<i>Leuconoxtoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Leuc. cremoris</i>	0.2	D

[Πηγή: Fox, 1996]

Πίνακας 3.6: Χαρακτηριστικά σπουδαιότερων μικροοργανισμών γαλακτικού οξέος που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία.

Μικροοργανισμός	Ιδανική T °C	pH μετά την επώαση	Παραγωγή αρώματος	Παραγωγή αρώματος και οξέος
<i>Str. thermophilus</i>	35-40	4.6	-	-
<i>Lact. bulgaricus</i>	40-45	3.8	-	+
<i>Str. cremoris</i>	20-25	4.8	-	-
<i>Str. lactis</i>	20-30	4.5	-	-
<i>Lact. lactis</i>	40	4.5	-	+
<i>Lact. helveticus</i>	40-45	4.4	-	+
<i>Str. diacetylactis</i>	25-30	4.6	+	-
<i>Leuconostoc citrovorum</i>	20-25	5.2	+	-

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 2001]

3.2.5.1. Δευτερεύοντα Συστατικά

Για την παρασκευή του τυριού, εκτός από τα βασικά συστατικά που αναφέρθηκαν παραπάνω, ανάλογα με την περίπτωση και το είδος του τυριού, χρησιμοποιούνται και άλλες ουσίες. Οι ουσίες αυτές λειτουργούν ως ενισχυτικά γεύσης, βελτιώνουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος ή βελτιώνουν την ίδια την διαδικασία παρασκευής του τυριού. Ορισμένα δευτερεύοντα συστατικά αναλύονται παρακάτω.

Χλωριούχο ασβέστιο ($CaCl_2$): Είναι γεγονός ότι ο σχηματισμός τυροπήγματος δεν ευνοείται, όταν υπάρχει απώλεια στη συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου του γάλακτος. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η ποσότητα ασβεστίου στο γάλα φτάνει περίπου το 0,125%. Περίπου το 60% του συγκεκριμένου ποσοστού ασβεστίου έχει κολλοειδή μορφή, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό είναι διαλυτό. Η μείωση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο γάλα επιτυγχάνεται είτε με τη θέρμανση του γάλακτος σε θερμοκρασία άνω των 80 °C, είτε με την πτώση του pH, δηλαδή την οξίνισή του. Η θέρμανση του γάλακτος σε θερμοκρασίες ανώτερες των 80 °C, έχουν ως αποτέλεσμα την μετατροπή μιας ποσότητας διαλυτού ασβεστίου σε αδιάλυτη μορφή. Περίπου το 5% από τη συνολική ποσότητα του διαλυτού ασβεστίου μετατρέπεται σε αδιάλυτο. Το τυρόπηγμα που παρασκευάζεται με τη χρήση παστεριωμένου γάλακτος παρουσιάζει μαλακότερη υφή από το τυρόπηγμα που προέρχεται από μη παστεριωμένο γάλα. Αυτό συμβαίνει διότι το παστεριωμένο γάλα έχει περάσει από θερμική επεξεργασία, με αποτέλεσμα να απωλέσει ένα τμήμα του διαλυτού ασβεστίου του (Ζερφυρίδης, 2001). Η δημιουργία ελαττωματικού πήγματος είναι απόρροια της απώλειας του ασβεστίου. Μια ιδιότητα του ασβεστίου είναι η ενίσχυση των υδρόφοβων δεσμών, οι οποίοι δημιουργούνται μεταξύ των καζεϊνών του γάλακτος προς σχηματισμό πηκτής. Τέλος, η ποσότητα του άνυδρου χλωριούχου ασβεστίου ($CaCl_2$) θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ του 0,01 και του 0,03% (Κεχαγιάς, 1997). Διαφορετικά, εάν αυξηθούν οι ποσότητες του, είναι πιθανό να δημιουργηθεί πήγμα σκληρότερο του φυσιολογικού και μετέπειτα να αποκτήσει το τυρί πικρή γεύση.

Υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2): Η επεξεργασία του γάλακτος πριν από την πήξη του, με τη χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2), στοχεύει στην εξυγίανση του γάλακτος πριν την διαδικασία της τυροκόμησης. Έχει αποδειχθεί πως το υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) παρουσιάζει αντιμικροβιακές δράσεις και θεωρείται μια μέθοδος επεξεργασίας, η οποία χρησιμοποιείται σε περίπτωση που η βιομηχανία ή ο παραγωγός δεν έχει επεξεργαστεί θερμικά το γάλα. Σύμφωνα με τη νομοθεσία ορισμένων χωρών, συμπεριλαμβανομένων και των Η.Π.Α, η χρήση του υπεροξειδίου του υδρογόνου είναι αποδεκτή. Ωστόσο, στην Ελλάδα δεν χρησιμοποιείται, καθώς το απαγορεύει η εγχώρια νομοθεσία.

Χρωστικές: Η χρονική περίοδος γαλακτοπαραγωγής, αλλά και το είδος του γάλακτος είναι δύο από τους σημαντικότερους παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν τις τελικές περιεκτικότητες των συστατικών του γάλακτος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να υπάρχουν διακυμάνσεις στην ποσότητα των συστατικών του γάλακτος και, κατά συνέπεια, να υπάρχουν διαφοροποιήσεις στα τελικά προϊόντα. Κατά την περίοδο της άνοιξης και του καλοκαιριού, οι αγελάδες τρέφονται με περισσότερες

πράσινες τροφές, με αποτέλεσμα να εμπεριέχεται αρκετά υψηλότερη ποσότητα β-καροτίνης στο γάλα. Το χρώμα της β-καροτίνης που περιέχεται στο γάλα είναι αρκετά κίτρινο έως και πορτοκαλί. Η υποκίτρινη χροιά του τυριού οφείλεται στο γεγονός ότι η β-καροτίνη είναι λιποδιαλυτή και κατά την τυροκόμηση του γάλακτος, εισέρχεται αβίαστα στο τυρί. Στην παρασκευή τυριού από αγελαδινό γάλα το πρόβλημα αυτό είναι εντονότερο από ότι στην παραγωγή τυριού από πρόβειο γάλα. Αυτό συμβαίνει διότι το πρόβειο γάλα είναι λευκότερο, καθώς περιέχει περισσότερη βιταμίνη Α, από το αγελαδινό, το οποίο είναι κιτρινωπό, λόγω παρουσίας καροτίνης. Σε αντίθεση, η προβιταμίνη Α (δηλαδή η β-καροτίνη) βρίσκεται σε ίχνη στο γάλα, ανεξαρτήτως είδους και διατροφής του ζώου, το οποίο μπορεί να τρέφεται ή όχι με χλωρά φυτικά προϊόντα (Jandal, 1996). Συνεπώς, λόγω των μεταβολών της περιεκτικότητας σε καροτινοειδή, ιδιαίτερα στο αγελαδινό γάλα, προκαλούνται ανομοιομορφίες στο τελικό χρώμα των τυριών. Επομένως, η χρήση διάφορων χρωστικών, όπως του safran ή κρόκου, του κουρκουμά, του καροτένιου, του αννάτου και της χλωροφύλλης είναι αναγκαία και επιτρέπεται από τη νομοθεσία, σύμφωνα με τις προδιαγραφές που θέτει για τις χρωστικές. Άρα, οι προαναφερθείσες χρωστικές επιτρέπονται τόσο από την ελληνική, όσο και από τη νομοθεσία άλλων χωρών.

Ορισμένες από τις χρωστικές, όπως η χλωροφύλλη και σε πιο σπάνιες περιπτώσεις το διβενζοϊκό-υπεροξειδίο ($C_6H_5-CO-O-O-CO-C_6H_5$), χρησιμοποιούνται για να αποκτήσει το γάλα λευκότερη απόχρωση. Το διβενζοϊκό-υπεροξειδίο είναι υπεύθυνο για την οξείδωση των καροτινίων, μέσω του αποχρωματισμού τους. Τέλος, άλλες χρωστικές προσδίδουν χρώμα στα τρόφιμα, παραδείγματος χάριν το αννάτο που δίνει συγκεκριμένο χρώμα στο τυρί.

Νιτρικά άλατα: Ποικίλες ουσίες χορηγούνται στο γάλα πριν την πήξη του και είναι ικανές να ενισχύσουν την γεύση και γενικά να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τυριών, όπως για παράδειγμα να βελτιώσουν το χρώμα του τελικού προϊόντος ή και να προσδώσουν ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό σε αυτό. Τέλος, χρησιμοποιούνται ούτως ώστε να εξασφαλίσουν την υψηλή ποιότητα των τυριών και να μειώσουν στο ελάχιστο τα διάφορα ελαττώματά τους. Το νιτρικό κάλιο ή νάτριο ($NaNO_3$ ή KNO_3) ανήκει σε αυτές τις ουσίες. Βακτήρια του γένους *Clostridium*, όπως τα κολοβακτηριδοειδή, είναι υπεύθυνα για το σχηματισμό αερίων σε τυριά με χαμηλή οξύτητα, όπως το Edam και το Gouda. Τα νιτρικά άλατα έχουν την δυνατότητα να παρεμποδίσουν αυτόν τον σχηματισμό, ενώ ταυτόχρονα δεν επηρεάζουν τη δράση των οξυγαλακτικών, των βουτυρικών και των προπιονικών βακτηρίων. Όμως, η εθνική νομοθεσία δεν επιτρέπει τη χρήση τους στα τρόφιμα.

3.3.1. Παρασκευή τυριού

Η παρασκευή του τυριού διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία του (τυριά γάλακτος, τυριά τυρογάλακτος, κ.α.), ωστόσο μπορεί να συνοψιστεί στα ακόλουθα βασικά στάδια: (Βουδούρης και συνεργάτες, 1999).

i) Προκατεργασία του γάλακτος. Συνίστανται στην τυποποίηση (δηλαδή στη διεργασία που αποβλέπει στη λήψη γάλακτος επιθυμητής σύστασης), αλλά και στην παστερίωση, που γίνεται για την απαλλαγή των παθογόνων μικροοργανισμών.

ii) Πήξη του γάλακτος. Επιτυγχάνεται με την οξίνιση του γάλακτος ή με την προσθήκη πυτιάς. Η οξίνιση του γάλακτος προκαλείται μέσω της προσθήκης καθαρής καλλιέργειας οξυπαραγωγικών μικροοργανισμών. Η προσθήκη της καλλιέργειας έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του pH του γάλακτος έως το ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών ($pI=4.6$). Ο χρόνος που χρειάζεται για την πήξη του γάλακτος εξαρτάται από τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών και υπολογίζεται περίπου 1 με 2 ώρες, αφού εισαχθεί η καθαρή καλλιέργεια στο γάλα. Στην περίπτωση της πυτιάς, η ρεννίνη προσβάλλει αρχικά την καζεΐνη, σχηματίζοντας παρα-κ-καζεΐνη, και έπειτα ακολουθεί η πήξη του γάλακτος, λόγω και της παρουσίας των ιόντων ασβεστίου. Ο χρόνος πήξης κυμαίνεται μεταξύ 20 και 60 λεπτών, ανάλογα το είδος του τυριού που παράγεται. Στο τυρόπηγμα μεταφέρονται κατά την πήξη η καζεΐνη, το μεγαλύτερο μέρος του λίπους του γάλακτος και μια μικρή ποσότητα από τη λακτόζη και τα άλατα του γάλακτος. Ενώ στο τυρόγαλα περιέχεται σχεδόν όλη η συγκέντρωση της αλβουμίνης και της γλοβουλίνης, μαζί με το μεγαλύτερο μέρος της λακτόζης, των αλάτων, αλλά και μιας μικρής ποσότητας λίπους.

iii) Τεμαχισμός του τυροπήγματος. Η αποβολή του τυρογάλακτος παρουσιάζει αύξηση, όταν αυξάνεται η επιφάνεια του τυροπήγματος. Αυτή είναι και η κύρια αιτία που το τυρόπηγμα τεμαχίζεται με ειδικούς τυροκόπτες. Με τον τεμαχισμό αποβάλλεται όλη η περίσσεια υγρασία και εξασφαλίζεται η κανονική ωρίμανση του τυριού.

iv) Αναθέρμανση του τυροπήγματος. Γίνεται προκειμένου να παρασκευαστεί σκληρό τυρί ή ημισκληρο τυρί. Το τυρόπηγμα θερμαίνεται σε θερμοκρασία 40-50 °C, υπό συνεχή ανάδευση, ούτως ώστε να αποβληθεί από το τυρόπηγμα όσο το δυνατό μεγαλύτερη ποσότητα από το τυρόγαλα.

v) Τοποθέτηση σε καλούπια και πίεση του τυροπήγματος. Σε αυτό το στάδιο, το τυρόπηγμα παίρνει το σχήμα του καλουπιού και ταυτόχρονα αποβάλλεται επιπλέον ποσότητα τυρογάλακτος.

vi) Αλάτισμα τυριού. Το αλάτι, εκτός από τη χρήση του για τη βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τυριού, επιπλέον παίζει ρυθμιστικό ρόλο όταν προστίθεται στα τρόφιμα, καθώς είναι ικανό, κατά κάποιο τρόπο, να ελέγξει τις ζυμώσεις που γίνονται. Το αλάτισμα γίνεται είτε με απευθείας προσθήκη καθαρών κόκκων αλατιού στη μάζα του τυροπήγματος, είτε με την εμβάπτιση των τεμαχίων του τυροπήγματος σε διάλυμα αλατιού (άλμη 12-20%).

vii) Ωρίμανση του τυριού. Το στάδιο της ωρίμανσης είναι το τελευταίο και ίσως το σπουδαιότερο κατά την τυροκόμηση, καθώς κατά την περίοδο αυτή προσδίδονται τα μοναδικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά στο τελικό προϊόν, διαμορφώνονται δηλαδή η οσμή, η γεύση, η υφή και μερικές

φορές και το χρώμα του τυριού. Ο δισακχαρίτης λακτόζη διασπάται σε γλυκόζη και γαλακτόζη, οι οποίες έχουν ως προϊόν ζύμωσης το γαλακτικό οξύ. Οι πρωτεΐνες διασπώνται σε αμινοξέα και άλλες αζωτούχες ενώσεις και το λίπος υδρολύεται κατά ένα ποσοστό σε λιπαρά οξέα. Λόγω των μεταβολών που λαμβάνουν χώρα στο στάδιο της ωρίμανσης, το τυρόπηγμα, το οποίο αρχικά ήταν άγευστο και άοσμο, κατάφερε να μετατραπεί σε ένα εύπεπτο και εύγευστο τυρί (Βουδούρη και Κοντομηνά, 2009). Τέλος, σε ορισμένες ποικιλίες τυριών παραλείπεται το στάδιο της ωρίμανσης, καθώς κατατάσσονται σε προϊόντα έτοιμα προς κατανάλωση, αμέσως μετά την παραγωγή τους.

3.3.2. Ταξινόμηση Τυριού

Τα τυριά κατατάσσονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες με βάση την προέλευση της πρώτης ύλης από την οποία παρασκευάζονται, σε τυριά γάλακτος και σε τυριά τυρογάλακτος, σύμφωνα με το άρθρο 83 του Ελληνικού Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π). Τα τυριά γάλακτος διακρίνονται περαιτέρω σε τυριά που ωριμάζουν και σε τυριά που έχουν αλοιφώδη υφή και δεν ωριμάζουν. Εν συνεχεία, τα τυριά που ωριμάζουν κατατάσσονται σε τέσσερις κύριες κατηγορίες: α) πολύ σκληρά τυριά, β) σκληρά τυριά, γ) ημίσκληρα τυριά και δ) μαλακά τυριά. Ανάλογα με την υγρασία και τη λιποπεριεκτικότητά τους, τα τυριά, που ανήκουν στην κατηγορία που ωριμάζουν, επιτρέπεται να διατίθενται στην κατανάλωση σε τέσσερις ποιότητες (Scott, 1981; Walter and Hagrove, 1972).

Οι βασικές κατηγορίες των τυριών που ωριμάζουν διακρίνονται ως εξής, με βάση και την περιεκτικότητά τους σε υγρασία:

- i. Πολύ σκληρά τυριά, με περιεκτικότητα σε υγρασία < 35% (όπως Παρμεζάνα, μυζήθρα ξηρή).
- ii. Σκληρά τυριά, με περιεκτικότητα από 30 έως 40% (όπως Γραβιέρα, Cheddar).
- iii. Ημίσκληρα τυριά, με εύρος υγρασίας από 40 έως 47% (όπως Κασέρι, Roquefort, Brick).
- iv. Μαλακά τυριά, με περιεκτικότητα σε υγρασία > 47% (όπως Φέτα, Τελεμές, Μυζήθρα νοπή, ανθότυρος, Cottage, Ricotta).

Ωστόσο, ο διαχωρισμός των τυριών της παγκόσμιας αγοράς προς κατανάλωση διακρίνεται ακόμα σε πολλές κατηγορίες. Ορισμένες από αυτές είναι οι ακόλουθες:

1. Ανάλογα με την ποιότητα των τυριών, αυτά κατατάσσονται σε εξαιρετικής, πρώτης, δευτέρας ποιότητας και ημιαποβουτυρωμένα ή άπαχα τυριά.
2. Η κατηγορία των λιωμένων τυριών αποτελείται από προϊόντα, που έχουν παρόμοια σύσταση και διαδικασία παρασκευής με τα μαλακά τυριά. Ωστόσο, τα συγκεκριμένα τυριά δεν ωριμάζουν. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν τα τυριά fondue, cream cheese, Neufchatel και άλλα.
3. Τα ανακατεργασμένα τυριά προκύπτουν από την αναθέρμανση ενός ή περισσότερων ειδών τυριών κάθε κατηγορίας και η σύστασή τους είναι αλοιφώδης. Η μάζα που προκύπτει μπορεί να εμπεριέχει και άλλα τρόφιμα, παραδείγματος χάριν λαχανικά, κρέας ή και φρούτα σε ποσοστό που φτάνει μέχρι το 49% της συνολικής μάζας.
4. Η κατηγορία των τριμμένων σκληρών τυριών, τα οποία προέρχονται από τμήματα ή τρίμματα σκληρών τυριών, διατίθενται στην αγορά συσκευασμένα και πληρούν τα ίδια κριτήρια με την

κατηγορία των σκληρών τυριών. Το μέγιστο της συσκευασίας τους είναι τα 500 γραμμάρια, χωρίς να περιλαμβάνεται η φλούδα των τυριών. Απαραίτητη προϋπόθεση αυτής της κατηγορίας είναι η απουσία παθογόνων μικροοργανισμών και η μέγιστη συγκέντρωση της υγρασίας των τυριών να μην ξεπερνά το 18%.

- Τέλος, υπάρχει και η κατηγορία των αφυδατωμένων τυριών, που η περιεκτικότητά τους σε υγρασία κυμαίνεται από το 1,5 μέχρι το 3%. Στη διαδικασία παρασκευής τους χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές αφυδάτωσης, όπως για παράδειγμα η τεχνική της λυοφιλίωσης, η ξήρανση με ψεκασμό σε ατμοσφαιρική πίεση ή υπό κενό, η ξήρανση με ψεκασμό με αερό και άλλες ποικίλες τεχνικές.

Όσον αφορά τα τυριά τυρογάλακτος, που είτε ωριμάζουν, είτε όχι, η διάκρισή τους γίνεται σε τέσσερις ποιότητες. Σύμφωνα με τον Κ.Τ.Π., σε κάθε κατηγορία και ποιότητα τυριών καθορίζεται μια μέγιστη περιεκτικότητα υγρασίας επί τοις εκατό % και μια ελάχιστη περιεκτικότητα ξηράς ουσίας επί τοις εκατό %, ούτως ώστε να επιτραπεί η διακίνησή τους στην αγορά.

Ορισμένα είδη τυριών, καθώς και οι συνθήκες ωρίμανσης και σύστασής τους παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες 3.7, 3.8, 3.9 και 3.10.

Πίνακας 3.7: Είδη τυριών που ωριμάζουν με βακτήρια.

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	ΕΙΔΟΣ ΤΥΡΙΟΥ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl %
Τυριά Γάλακτος							
Φέτα	Ελλάδα	άλμης	4,4	52	25	20	2,5
Τελεμές	Ρουμανία	άλμης	4,2	54	22	18	3,0
Χαλούμι	Κύπρος	άλμης	6,0	42	28	25	-
Brindza	Ρουμανία	άλμης	4,6	56	20	18	2,2
Romano	Ιταλία	πολύ σκληρό	5,3	34	23	35	4,6
Cheddar	Αγγλία	σκληρό	5,5	37	32	25	1,5
Κεφαλοτύρι	Ελλάδα	σκληρό	5,1	35	31	24	5,0
Λαδοτύρι	Ελλάδα	σκληρό	5,3	34	31	26	1,8
Emmental	Ελβετία	σκληρό	5,6	35	30	30	1,2
Γραβιέρα	Ελλάδα	σκληρό	5,0	-	-	-	-
Κεφαλογραβιέρα	Ελλάδα	σκληρό	5,2	36	36	31	-
Pronolone	Ιταλία	σκληρό	5,4	42	27	25	3,0
Κασέρι	Ελλάδα	σκληρό	6,0	38	28	27	2,2
Μετσοβόνη	Ελλάδα	σκληρό	5,8	32	33	27	3,2
Edam	Ολλανδία	ημίσκληρο	5,7	42	24	26	2,0
Gouda	Ολλανδία	ημίσκληρο	5,8	40	28	26	2,0
Fontina	Ιταλία	ημίσκληρο	5,6	42	27	25	1,1
Lancashire	Αγγλία	ημίσκληρο	5,9	36	32	24	1,7

[Πηγή: Fox et al., 2004; Wong, 1988; Scott, 1986]

Πίνακας 3.8: Είδη τυριών που ωριμάζουν με μύκητες.

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl %
Εσωτερική ανάπτυξη μυκήτων						
Roquefort	Γαλλία	6,4	40	31	22	3,5
Blue cheese	Η.Π.Α.	6,5	42	29	21	4,5
Danablu	Δανία	6,2	0	28	22	3,5
Stilton	Αγγλία	5,5	42	24	18	3,0
Gorgonzola	Ιταλία	5,8	-	-	-	-
Επιφανειακή ανάπτυξη μυκήτων						
Camembert	Γαλλία	6,9	52	24	26	2,0
Brie	Γαλλία	6,9	49	28	20	1,9
Coulommiers	Γαλλία	6,7	53	23	22	2,0

[Πηγή: Fox et al., 2004 Wong, 1988]

Πίνακας 3.9: Είδη τυριών που δεν ωριμάζουν.

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl %
Τυριά γάλακτος						
Cottage	Η.Π.Α	5.0	80	0.4	14	1.0
Baker's	Αγγλία	4.4	74	0.2	19	1.0
Neufchatel	-	4.6	64	20	12	0.7
Cream cheese	-	4.6	54	33	10	0.7
Ymer	Δανία	4.6	72	0-3	6	<0.1
Quarg	Κεν.Ευρ.	4.5	60	0-12	15	0.7
Quesco Blanco		5.3	51	15	22	2-4
Mozzarella		5.2	56	18	22	0.7
Ricotta	Η.Π.Α.	5.9	72	12	11	<0.5
Χαλούμι	Κύπρος	6.0	42	28	25	4-5
Τυριά τυρογάλακτος						
Ricotta	Ιταλία	4.9	73	0.5	11	<0.5
Μυζήθρα	Ελλάδα	5.8	65-70	5-10	10-14	1.2
Μανούρι	Βαλκάνια	5.9	42-50	30-40	10-12	1.4
Ανθότυρος	Ελλάδα	5.8	65-70	20-21	10-12	1.0

[Πηγή: Davis, 1965; FAO/WHO, 1972; Kosikowski and Mistry, 1997, Βεϊνόγλου και Ανυφαντάκης, 1981; Scott, 1986; Μαντής, 2000]

Πίνακας 3.10: Είδη τυριών με επιφανειακή ανάπτυξη βακτηρίων.

ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΤΥΡΙΟΥ	ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	pH	ΥΓΡΑΣΙΑ %	ΛΙΠΟΣ %	ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ %	NaCl
Limburger	Βέλγιο	6,8	46	27	20	2,0
Munster	Γερμανία	6,2	43	29	23	1,8
Bel Paesa	Ιταλία	5,9	45	26	22	2,3
Port du Salut	Γαλλία	-	-	-	-	-
Tilsit	Γερμανία	5,9	42	26	25	2,6
Romadour	“	-	-	-	-	-
Brick	Η.Π.Α.	6,4	42	30	22	1,7
Κοπανιστή	Ελλάδα	5,7	48	35	12	4,5

[Πηγή: Fox et al., 2004; Wong, 1988]

3.3.3. Σύσταση - Θρεπτική Αξία Τυριού

Τα κύρια συστατικά που μεταφέρονται από το γάλα στο τυρί είναι οι πρωτεΐνες και το λίπος. Η κυριότερη πρωτεΐνη του γάλακτος που μεταφέρεται στο τυρί είναι η καζεΐνη, ενώ οι υπόλοιπες διαλυτές πρωτεΐνες αποβάλλονται μέσω του τυρογάλακτος (Ζερφυρίδης, 2001). Το μεγαλύτερο ποσοστό του λίπους εγκλωβίζεται στο τυρόπηγμα, με εξαίρεση μια μικρή ποσότητα που απομακρύνεται μέσω του διαχωρισμού τυροπήγματος και ορού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το λίπος να παραμένει ένα βασικό συστατικό του τυριού. Επειδή τα περισσότερα συστατικά του γάλακτος είναι διαλυτά, ελάχιστη είναι η ποσότητα αυτών που μεταφέρονται στο τυρί και η ποσότητα αυτή εξαρτάται, κυρίως, από τη διαδικασία ωρίμανσης και την τελική επί τοις εκατό υγρασία του παραγόμενου τυριού.

Επειδή το τυρί είναι αναπόσπαστο κομμάτι της διατροφής του ανθρώπου και έχει υψηλή διατροφική αξία, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να κατανοηθεί η σύστασή του. Το τυρί αποτελεί ένα εύπεπτο προϊόν, το οποίο είναι συμπυκνωμένο και πλούσιο σε λευκώματα υψηλής βιολογικής αξίας. Σε αυτά τα λευκώματα είναι εύκολη η πέψη, λόγω ενός μεγάλου ποσοστού των λευκωμάτων που έχει ήδη διασπαστεί. Επιπροσθέτως, τα περισσότερα είδη τυριών περιέχουν άλατα και είναι πλούσια σε ιόντα ασβεστίου και φωσφόρου, καθώς και σε λιποδιαλυτές βιταμίνες. Στο τυρί υπερτερεί το λίπος σε συγκέντρωση (> 20%) έναντι της λακτόζης (> 1%). Ακολουθεί ο πίνακας 3.11, ο οποίος δίνει πληροφορίες για την πλούσια θρεπτική αξία του τυριού συγκριτικά με ορισμένες κατηγορίες βασικών τροφίμων.

Πίνακας 3.11: Θρεπτική αξία τυριού σε σύγκριση με άλλα βασικά τρόφιμα.

Τρόφιμο 100 g					
	Τυρί Σκληρό	Γάλα πλήρες	Αυγά	Κρέας βοδινό	Ψάρια, σαρδέλες
Ενέργεια, kcal	412	65	147	180	180
Πρωτεΐνες, g	25,4	3,3	12,3	18,1	19,0
Λίπος, g	34,5	3,5	10,9	11,0	11,0
Υδατάνθρακες, g	0	4,8	0	0	0
Νερό, g	37	88	75	64	61
Ασβέστιο, mg	810	120	54	7	410
Σίδηρος, mg	0,6	0,1	2,1	1,9	2,1
Βιταμίνες					
A, µg	420	37	140	0	30
B1,mg	0,04	0,04	0,09	0,06	0,04
B2,mg	0,5	0,15	0,47	0,19	0,36
C,mg	0	1	0	0	0
D, µg	0,35	0,01	1,5	0	7

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 1998]

Σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα, η θρεπτική αξία ενός σκληρού τυριού υπερτερεί σε σύγκριση με άλλα βασικά τρόφιμα, όπως για παράδειγμα τα αυγά, το κρέας και τα ψάρια, ως προς τη συγκέντρωση πρωτεϊνών, ασβεστίου, βιταμίνης A και ριβοφλαβίνης B₂. Ωστόσο, υστερεί όσον αφορά το σίδηρο και τη βιταμίνη D. Στα διαιτολόγια βρεφικής ηλικίας μπορούν να συμπεριληφθούν πολλά είδη τυριών, κυρίως μαλακών. Τα μαλακά τυριά, λόγω της ιδιαίτερης γεύσης τους, της υψηλής διατροφικής τους αξίας και της πεπτικότητας των πρωτεϊνών τους, χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα στη διατροφή των βρεφών, αρκεί όμως τα βρέφη να έχουν ξεπεράσει το δεύτερο έτος της ηλικίας τους.

Όπως προαναφέρθηκε, η χρήση ορισμένων προσθέτων στα τυριά, προβλέπεται από την μέθοδο παρασκευής του εκάστοτε είδους και γίνεται πάντα σύμφωνα με την νομοθεσία περί προσθέτων. Ορισμένες από αυτές τις ουσίες είναι:

- α) Αβλαβείς φυσικές χρωστικές, όπως το safran, ο κουρκουμάς, το καροτένιο και το annatto.
- β) Καθαρές μικροβιακές καλλιέργειες βακτηρίων ή ευρωτομυκήτων, που προσδίδουν διάφορες οργανοληπτικές ιδιότητες στα τυριά κατά την ωρίμανσή τους.
- γ) Η χρωστική χλωροφύλλη, της οποίας η χρήση περιορίζεται μόνο στην προσθήκη της σε αγελαδινό γάλα, που προορίζεται για τυροκομεία.

Ο πίνακας 3.12 αποτυπώνει την θρεπτική αξία των μαλακών τυριών σε σύγκριση με τα αυτά των σκληρών τυριών. Συνεπώς, καταγράφονται τα βασικότερα θρεπτικά συστατικά της Φέτας, η οποία αποτελεί, ίσως, το σημαντικότερο μαλακό τυρί, καθώς και τα βασικότερα θρεπτικά συστατικά ενός σκληρού τυριού, όπως είναι το Κεφαλοτύρι. Επιπλέον, καταγράφονται και οι διατροφικές ανάγκες ενός ενήλικα άντρα, ούτως ώστε να σχηματιστεί μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα περί των θρεπτικών

συστατικών. Από τα παρακάτω αποτελέσματα προκύπτει το συμπέρασμα ότι τα σκληρά τυριά περιέχουν περισσότερη ξηρή ουσία ανά 100 γραμμάρια και, επομένως, καλύπτουν μεγαλύτερο ποσοστό ημερησίων αναγκών από ότι τα μαλακά τυριά.

Πίνακας 3.12: Κύρια θρεπτικά συστατικά σε εκατό γραμμάρια τυρί και ποσοστά κάλυψης των ημερήσιων αναγκών ενός ενήλικα άντρα.

Θρεπτικό συστατικό	Μαλακό τυρί (Φέτα)	Σκληρό τυρί (Κεφαλοτύρι)	Ημερήσιες Ανάγκες	%Κάλυψη ημερήσιων αναγκών	
				Φέτα	Κεφαλοτύρι
Λίπος, g	21	34	-	-	-
Πρωτεΐνες, g	17	25	55	31	45
Ενέργεια, kcal	250	412	3000	8	14
Ασβέστιο, mg	490	810	800	61	101
Βιταμίνη Α, µg	250	420	750	33	56
Βιταμίνη D, µg	0,3	0,5	10	3	5
Βιταμίνη B2, mg	0,75	0,5	1,8	41	28

[Πηγή: Ζερφυρίδης, 1989]

3.3.4. Διατροφική αξία

Έχει εξακριβωθεί μέσω ερευνών ότι τα τυριά είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, ενώ φαίνεται ότι 100 g σκληρό τυρί μπορεί να καλύψει τις ημερήσιες ανάγκες των ενηλίκων σε πρωτεΐνες, περίπου σε ποσοστό 40 έως 50%. Το τυρί καθίσταται λειτουργικό τρόφιμο, λόγω της παρουσίας πρωτεϊνών υψηλής βιολογικής αξίας.

Ο ρόλος των λιπαρών στα τυριά είναι ιδιαίτερα σημαντικός, καθώς είναι υπεύθυνα για τη παραγωγή απαραίτητων λιπαρών οξέων για τον ανθρώπινο οργανισμό και, ταυτόχρονα, είναι ικανά να μεταφέρουν τις λιποδιαλυτές βιταμίνες Α, D, E και Κ. Η περιεκτικότητα λίπους και λιποδιαλυτών βιταμινών είναι αναλογική. Κατά την ωρίμανση των τυριών οι λιπάσες, οι οποίες παράγονται από τους μικροοργανισμούς της καλλιέργειας, υδρολύουν ένα τμήμα της λιπαρής ύλης προς παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, εξαρτώνται από το είδος του τυριού και το βαθμός ωρίμανσής του. Η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων κυμαίνεται από 1 έως 5 γραμμάρια ανά κιλό τυριού.

Η αυξημένη τιμή λίπους και ιδιαίτερα η αυξημένη συγκέντρωση κορεσμένων λιπαρών οξέων, που διαθέτουν ορισμένα τυριά, θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα κατανάλωσης τυριών. Ενδεικτικά, στα σκληρά τυριά το λίπος ξεπερνά το 20% και για παράδειγμα στη κεφαλογραβιέρα το ποσοστό λίπους είναι 31,3%. Η υψηλή συγκέντρωση κορεσμένων λιπαρών

οξέων επιφέρει προβλήματα στον ανθρώπινο οργανισμό. Πιο αναλυτικά, τα κορεσμένα λιπαρά οξέα ευθύνονται για την αύξηση των λιπιδίων και της χοληστερόλης στο αίμα και, επομένως, αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιακών παθήσεων και στεφανιαίας νόσου.

Ο ανθρώπινος οργανισμός για να εκτελέσει φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες απαιτούνται άλατα ασβεστίου και φωσφόρου. Η ημερήσια ανάγκη ενός ενήλικου ατόμου σε ασβέστιο είναι 800mg ανά ημέρα, τα οποία καλύπτονται με 114g σκληρού τυριού. Η ποσότητα λακτόζης στα σκληρά τυριά είναι ελάχιστη, διότι ζυμώνεται σχεδόν εξ ολοκλήρου σε γαλακτικό οξύ, κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης. Επομένως, το ώριμο σκληρό τυρί μπορεί να ενταχθεί στο διαιτολόγιο διαβητικών ή ατόμων με δυσανεξία σε λακτόζη (Ανυφαντάκης 2004).

3.3.5. Αλλοιώσεις και κίνδυνοι στα τυριά

Οι συνθήκες καθαριότητας και οι συνθήκες του περιβάλλοντα χώρου, σε συνδυασμό με την ποιότητα των πρώτων υλών και των μεθόδων επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται σε όλα τα στάδια της τυροκόμησης επηρεάζουν την ποιότητα του τελικού προϊόντος. Οι συνηθέστερες αλλοιώσεις των τυριών είναι η διόγκωση, τα ρήγματα, η ευρωτίαση (μούχλιασμα), καθώς και η αλλοιωμένη οσμή, γεύση και χρώση. Όσον αφορά τη διόγκωση, οφείλεται, κυρίως, στη δράση διάφορων μικροοργανισμών που παράγουν αέρια, όπως για παράδειγμα το διοξείδιο του άνθρακα, προκαλώντας διόγκωση στο τυρί. Η πρόκληση ρηγμάτων είναι αποτέλεσμα κακών χειρισμών κατά την παραγωγική διαδικασία του τυριού. Τα ρήγματα ευνοούν την ανάπτυξη των παθογόνων βακτηρίων, υποβαθμίζοντας την τελική ποιότητα του τροφίμου. Οι ευρωμύκητες αναπτύσσονται στην επιφάνεια και στο εσωτερικό των τυριών, όταν δεν τηρούνται οι κατάλληλες συνθήκες διατήρησής τους, προκαλώντας την πιθανότητα ευρωτίασης. Συνεπώς, αποτέλεσμα της δράσης των ευρωτομυκήτων είναι η δημιουργία έγχρωμων κηλίδων ή η κάλυψη ολόκληρης της επιφάνειας του τυριού από μούχλα. Η παρουσία βουτυρικού οξέος στο τυρί προέρχεται από την υδρόλυση του λίπους από το ένζυμο λιπάση, προσδίδοντας ταγγή γεύση στο προϊόν. Απόρροια της δράσης ορισμένων μικροοργανισμών είναι οι αλλοιώσεις του χρώματος των τυριών που παράγονται (Βουδούρη και Κοντομηνά, 2009; Harper and Hall, 1976).

Η ύπαρξη μυκοτοξινών και ειδικότερα αφλατοξινών είναι ένα ακόμα πρόβλημα που πρέπει να αντιμετωπιστεί κατά τη διαδικασία παραγωγής τυριών. Η εμφάνιση των μυκοτοξινών, τα οποία είναι προϊόντα δράσης τοξικών μυκήτων, είναι σχετικά σπάνια στα τυριά, αλλά αρκετά επικίνδυνη. Οι αφλατοξίνες παράγονται κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των τροφών που προορίζονται για την θρέψη των ζώων, καθώς και σε χωράφια που καλλιεργούνται φυτά (Moss, 1989). Οι περιβαλλοντικές συνθήκες όπως είναι η υγρασία, η θερμοκρασία, το pH, το φως και το διαθέσιμο οξυγόνο, αλλά και οι βιολογικοί παράγοντες, παραδείγματος χάριν η ευαισθησία του φυτού σε στέλεχος του αφλατοξινογόνου μύκητα, επηρεάζουν την ανάπτυξη των μυκήτων. Ωστόσο, ο σημαντικότερος παράγοντας όλων αποδεικνύεται η υγρασία και, κυρίως, η υψηλή περιεκτικότητα

της υγρασίας, που αποτελεί ιδανική συνθήκη για την ανάπτυξη των μυκήτων (Diekman and Green, 1992). Η παρουσία τους στα τυριά πιθανόν να οφείλεται στις ακόλουθες αιτίες:

1. Στην αφλατοξίνη M₁ (AFM₁), της οποίας η παρουσία είναι πιθανή στο γάλα των ζώων, που έχουν τραφεί με ζωοτροφές, που είχαν μολυνθεί με την αφλατοξίνη B₁ (η αφλατοξίνη M₁ αποτελεί υδροξυπαράγωγο της B₁).
2. Στην παραγωγή των αφλατοξινών B₁, B₂, G₁, G₂, οι οποίες είναι παράγωγα των μυκήτων *Aspergillus flavus* και *Aspergillus paracitrus*, που αναπτύχθηκαν στο τυρί.
3. Στη μεταφορά αφλατοξίνης M₁ από τη σκόνη γάλακτος στο τυρί. Η σκόνη γάλακτος περιείχε ήδη την αφλατοξίνη και λόγω της χρήσης της για εμπλουτισμό του προς τυροκόμηση γάλακτος, επιμόλυνε, εν συνεχεία, και το ίδιο το τυρί (Zerfiridis, 1985; Van Egmond, 1991; Blanco et al., 1988; Kamkar et al., 2008).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση (Commission Regulation EC, 2006) και οι επιτροπές του Κώδικα τροφίμων (Codex Alimentarius Commission, 2001) έχουν θεσπίσει συγκεκριμένα όρια για τις αφλατοξίνες στο γάλα. Ωστόσο, δεν έχουν θεσπιστεί τέτοια όρια για το τυρί. Τέλος, ο έλεγχος των αφλατοξινών στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα επιτυγχάνεται με τον περιορισμό της AFB₁ στις ζωοτροφές (Georgala et al., 2009).

Στον πίνακα 3.13 παρουσιάζονται τα μικροβιολογικά κριτήρια ασφαλείας για τα τυριά.

Πίνακας 3.13: Κριτήρια ασφάλειας από μικροβιολογικής άποψης στα τυριά.

Μικροοργανισμός	Πλάνο δειγματοληψίας ¹		Όρια ²
1. Κριτήρια ασφαλείας			
	n	c	m M
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g ³
<i>Salmonella</i>	5	0	Απουσία σε 25 g ⁴
Σταφυλοκοκκικές εντεροτοξίνες	5	0	Απουσία σε 25 g ⁵
2. Κριτήρια υγιεινής κατά την διάρκεια της διαδικασίας για τυριά από νοπό γάλα			
	n	c	m M
Σταφυλόκοκκοι θετικοί στην πηκτάση	5	2	10 ⁴ cfu/g 10 ⁵ cfu/g

[Πηγή: ΕΘΙΑΓΕ]

¹n= αριθμός μονάδων / δείγμα, c= αριθμός μονάδων με τιμές > m ή μεταξύ m και M

²m= M για τυριά και άλλα προϊόντα, σε ότι αφορά τα κριτήρια ασφαλείας

3.4.1. Εισαγωγή Σχεδίου HACCP για την Παραγωγή Τυριών Τυρογάλακτος

Η προστασία της υγείας του πολίτη επιτυγχάνεται με την κατανάλωση ασφαλών τροφίμων. Η παραγωγή τροφίμων που δεν θα προκαλέσουν βλάβη στην δημόσια υγεία είναι πρωταρχικής σημασίας υποχρέωση τόσο του παρασκευαστή του τροφίμου, όσο και των αρμόδιων αρχών ελέγχου, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την επαλήθευση της συμμόρφωσης των υπευθύνων των επιχειρήσεων τροφίμων με τις απαιτήσεις της εκάστοτε νομοθεσίας. Τα προληπτικά μέτρα που λαμβάνονται για την διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων είναι, κυρίως, η εφαρμογή ορθών πρακτικών υγιεινής και η εφαρμογή διαδικασιών, οι οποίες διέπονται από αρχές βασιζόμενες στον προσδιορισμό και την ανάλυση των κινδύνων στα τρόφιμα, αλλά και των κρίσιμων σημείων ελέγχου τους. Στα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας, στην παραλαβή των πρώτων υλών, καθώς και στην συσκευασία, αποθήκευση και διανομή των τελικών προϊόντων εφαρμόζονται προληπτικά μέτρα, συνθέτοντας, έτσι, το σύστημα αυτοελέγχου της εκάστοτε επιχείρησης τροφίμων. Η θέσπιση, η εφαρμογή και η τήρηση μιας διαρκούς διαδικασίας για τη διασφάλιση της υγιεινής των τροφίμων, η οποία θα βασίζεται στις αρχές του HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points = Ανάλυση Κινδύνων Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου), είναι υποχρεωτική για τους υπεύθυνους των επιχειρήσεων, σύμφωνα με το άρθρο 5 του κανονισμού (ΕΚ) 852/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου. Το σύστημα HACCP προσαρμόζεται στη φύση, στο μέγεθος και στη δραστηριότητα κάθε επιχείρησης, προκειμένου να εφαρμόζεται σε όλες τις περιπτώσεις και ιδίως σε μικρές επιχειρήσεις τροφίμων (ΕΦΕΤ, 2012).

Η δράση των βιολογικών παραγόντων κινδύνου στα τυριά

Πολλά ψυχρότροφα βακτήρια, όπως η *Listeria monocytogenes*, αναπτύσσονται, έστω και με βραδείς ρυθμούς, σε θερμοκρασίες ψύξης. Στο γάλα θερμοκρασίας 2 με 7 °C, η παρουσία τέτοιων βακτηρίων υποβαθμίζει την ποιότητά του, παράγοντας ένζυμα, τα οποία μειώνουν τις αποδόσεις στην τυροκόμηση.

Σκληρά τυριά και τυριά άλμης, κατά την ωρίμανσή τους, διαθέτουν ισχυρούς μηχανισμούς εξυγίανσης έναντι των παθογόνων βακτηρίων και λόγω του ότι αποτελούν προϊόντα ζύμωσης έχουν σχετικά χαμηλό pH και η περιεκτικότητά τους σε αλάτι είναι σημαντική. Ωστόσο, τα παθογόνα βακτήρια και οι τοξίνες, όταν εμπεριέχονται στο γάλα που προορίζεται για τυροκόμηση, είναι ικανά να προκαλέσουν τροφολοιμώξεις (ή και σπανιότερα θάνατο) σε καταναλωτές. Συνεπώς, οι υψηλοί πληθυσμοί των τοξινογόνων βακτηρίων, όπως για παράδειγμα του *Staphylococcus aureus*, αλλά και οι πληθυσμοί των παθογόνων βακτηρίων, όπως της σαλμονέλλας και της *Listeria monocytogenes*, είναι υπεύθυνοι για την πρόκληση προβλημάτων, στην περίπτωση που καταναλωθεί μολυσμένο τυρί (ΕΦΕΤ, 2012).

Επομένως, η παστερίωση του γάλακτος επιβάλλεται για την προάσπιση της δημόσιας υγείας, καθώς θανατώνει τους παθογόνους μικροοργανισμούς που τυχόν υπάρχουν στο γάλα, πλην των σπόρων, της εντεροτοξίνης που παράγεται από τον *Staphylococcus aureus* και των μυκοτοξινών

του *Mycobacterium paratuberculosis*. Επιπλέον, η παστερίωση εφαρμόζεται και για την ορθή πορεία της περαιτέρω επεξεργασίας, καθώς μειώνει σημαντικά την κοινή μικροβιακή χλωρίδα του γάλακτος. Η μικροχλωρίδα του γάλακτος, που επιβίωσε της παστερίωσης, στη συνέχεια ελέγχεται και εμπλουτίζεται με την προσθήκη οξυγαλακτικών καλλιιεργειών (ΕΦΕΤ, 2012).

Οι εντεροτοξινογόνοι σταφυλόκοκκοι πολλαπλασιάζονται και παράγουν εντεροτοξίνες, κατά το αρχικό στάδιο της παραγωγής των τυριών, κυρίως, όταν η τιμή του pH του τυροπήγματος είναι ακόμη υψηλή και δεν έχει προλάβει να δράσει πλήρως η καλλιέργεια, δηλαδή όταν τα ανταγωνιστικά οξυγαλακτικά βακτηρίδια της καλλιέργειας βρίσκονται σε μικρό πληθυσμό. Στην περίπτωση της εντεροτοξίνης του *Staphylococcus aureus*, ισχύει ότι εάν προϋπάρχει, ή παραχθεί στα πρώτα στάδια της τυροκόμησης, παραμένει σταθερή κατά την ωρίμανση και την συντήρηση του τυριού. Επομένως, η κατάλληλη θερμοκρασία στο χώρο παραγωγής, η τήρηση αυστηρών υγειονομικών μέτρων στην εγκατάσταση και η τήρηση κανόνων ατομικής υγιεινής από το προσωπικό απαιτεί μεγάλη προσοχή, έτσι ώστε να αποφεύγεται η επιμόλυνση του γάλακτος και του τυροπήγματος.

Η ύπαρξη μεγάλου πληθυσμού κολοβακτηριοειδών, καθώς και η παρουσία άλλων μικροοργανισμών, όπως θερμοφίλων και ψυχρόφιλων βακτηρίων, σε ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξή τους (π.χ. υψηλό pH, υψηλή θερμοκρασία και υγρασία), μπορεί να προκαλέσει πρόβλημα στην ανάπτυξη της οξυγαλακτικής χλωρίδας στο γάλα που τυροκομείται. Η σωστή ωρίμανση του τυριού εκτρέπεται από την ανάπτυξη των ανεπιθύμητων αυτών βακτηρίων, με αποτέλεσμα την πιθανή εμφάνιση ελαττωμάτων ή αλλοιώσεων, μικρής ή μεγάλης έκτασης και έντασης στο τυρί. Η διαδικασία της ωρίμανσης ολοκληρώνει την εξυγίανση των τυριών από ορισμένα παθογόνα βακτήρια, που πιθανόν να επιβίωσαν κατά την διαδικασία της τυροκόμησης. Ο απαιτούμενος χρόνος ωρίμανσης διαφέρει σε κάθε τυρί και για το λόγο αυτό, ορίζεται σύμφωνα με την τεχνολογία παρασκευής του εκάστοτε τυριού, προκειμένου να διατεθεί στην κατανάλωση (ΕΦΕΤ, 2012).

Τα τυριά τυρογάλακτος ανήκουν στην κατηγορία των φρέσκων τυριών, στα οποία δεν υφίσταται η ωρίμανση, και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην διαθέτουν μηχανισμούς εξυγίανσης. Χαρακτηριστικό των νωπών τυριών είναι η υψηλή περιεκτικότητα τους σε υγρασία και το υψηλό τους pH. Η δράση των παθογόνων μικροβίων, που πιθανό να τα επιμολύνουν μετά την παραγωγή τους, δεν αναστέλλεται λόγω της έλλειψης φυσικής οξυγαλακτικής χλωρίδας, η οποία καταστράφηκε από την θέρμανση του τυρογάλακτος. Επομένως, επιβάλλεται η τήρηση αυστηρών υγειονομικών μέτρων για την αποφυγή επιμολύνσεων από το περιβάλλον, τους χειρισμούς και το προσωπικό, ιδιαίτερα μετά την θερμική επεξεργασία του γάλακτος. Η συντήρηση και η διακίνηση των νωπών τυριών είναι αναγκαίο να γίνεται αυστηρά υπό ψύξη. (ΕΦΕΤ, 2012).

Η δράση των βιολογικών παραγόντων κινδύνου στα τυριά τυρογάλακτος

Όπως προαναφέρθηκε, τα τυριά τυρογάλακτος πρόκειται για φρέσκα τυριά, με υψηλή υγρασία και χαμηλή οξύτητα (pH περίπου 6.0), που δεν υφίστανται ωρίμανση και λόγω της θέρμανσης του τυρογάλακτος, στερούνται φυσικής οξυγαλακτικής χλωρίδας, οπότε δεν αναστέλλεται η δράση των παθογόνων μικροβίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα τυριά τυρογάλακτος να έχουν αυξημένο κίνδυνο και να καθίστανται ακατάλληλα ταχύτερα σε σχέση με τα τυριά που ζυμώνονται και ωριμάζουν (ΕΦΕΤ, 2012).

Επιπροσθέτως, για την ασφάλεια των τυριών τυρογάλακτος είναι αναγκαία η τήρηση των κανόνων ορθής υγιεινής πρακτικής, για την αποφυγή διασταυρούμενων επιμολύνσεων, καθώς αποτελούν εξαιρετικό υπόστρωμα για την μικροβιακή ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, όπως είναι ο *Staphylococcus aureus* και η *Listeria monocytogenes*.

Με βάση τα ανωτέρω, το shelf life των τυριών τυρογάλακτος είναι πεπερασμένο και για αυτό τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου στο τελικό στάδιο παραγωγής, αφορούν μόνο την συγκεκριμένη παρτίδα, χωρίς τη δυνατότητα εφαρμογής περαιτέρω διορθωτικών ενεργειών.

Τέλος, η επιμόλυνση στο στάδιο της στράγγισης μπορεί να οδηγήσει στην διανομή μη ασφαλών προϊόντων. Τα αποτελέσματα των εργαστηριακών αναλύσεων αποτελούν σύμβουλο για την λήψη μελλοντικών προληπτικών υγειονομικών μέτρων, με απώτερο στόχο τη βελτιστοποίηση των μελλοντικών παρτίδων (ΕΦΕΤ, 2012).

3.4.2. Βασικά χαρακτηριστικά ορισμένων Ελληνικών Τυριών

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών και τη σχετική βιβλιογραφία, παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα τα χαρακτηριστικά των κυριότερων ελληνικών τυριών, καθώς και τα στοιχεία της τεχνολογίας παρασκευής αυτών. Οι τιμές των ποικίλων παραγόντων που επηρεάζουν την παραγωγή του εκάστοτε τυριού είναι ενδεικτικές και είναι πιθανό να μεταβάλλονται, ανάλογα με την τεχνολογική μέθοδο που εφαρμόζεται από τον κάθε παραγωγό ή την κάθε βιομηχανία. Ο προσδιορισμός των κινδύνων και η καλύτερη αξιολόγησή τους, ούτως ώστε να παραχθούν ποιοτικά και ασφαλή τυριά, παρέχονται από αυτές τις ενδεικτικές τιμές (ΕΦΕΤ, 2012).

Πίνακας 3.14: Βασικά χαρακτηριστικά ορισμένων Ελληνικών Τυριών.

Είδος τυριού	Είδος Γάλακτος ¹	Οξυγαλακτική Καλλιέργεια	Ελάχιστος Χρόνος Ωρίμανσης	pH	Μέγιστη Υγρασία %	NaCl %
<u>ΠΟΛΥ ΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ</u>						
Κεφαλοτύρι	Π, ΑΠ, Α	+	3 μήνες	5,1	35	5,0
<u>ΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ</u>						
Λαδοτύρι	Π, ΑΠ	+	3 μήνες	5,3	38	2,7
Γραβιέρα	Π, ΑΠ, Α	+	3 μήνες	5	38	2,02
Κεφαλογραβιέρα	Π, ΑΠ	+	3 μήνες	5,6	40	2,4
Μετσοβόνη	Π, ΑΠ, Α	+	3 μήνες	5,5	38	2,8
Φορμαέλα	Π, ΑΠ	--	--		50	2,1
<u>ΗΜΙΣΚΛΗΡΑ ΤΥΡΙΑ</u>						
Κασέρι	Π, ΑΠ	+	3 μήνες	5,7	45	3,1
<u>ΤΥΡΙΑ ΑΛΜΗΣ</u>						
Φέτα, Λευκό Τυρί, Τελεμές	Π, ΑΠ, Α	+	2 μήνες	4,3	52	2,5
<u>ΜΑΛΑΚΑ ΤΥΡΙΑ ΜΕ ΑΛΟΙΦΩΔΗ ΥΦΗ</u>						
Κοπανιστή	Π, ΑΠ, Α	ζύμωση με μύκητες	30-40 ημέρες	4,6	56	3,0
Γαλοτύρι	Π, ΑΠ	+	2 μήνες	4,1	75	2,7
<u>ΤΥΡΙΑ ΤΥΡΟΓΑΛΑΚΤΟΣ</u>						
Μυζήθρα (νωπή)	τυρόγαλα	--	--	5,8	65-70	1,2
Μυζήθρα (ξηρή)	τυρόγαλα	--	--	5,8	65-70	1,2
Μανούρι	τυρόγαλα	--	--	5,9	60	0,8

1. Α: αγελαδινό γάλα, Π: πρόβειο γάλα, ΑΠ: αιγοπρόβειο γάλα.

[Πηγή: ΕΦΕΤ, 2012]

2. Η περιεκτικότητα σε NaCl ποικίλλει ανάλογα με το είδος της γραβιέρας.

3.4.3. Εφαρμογή του HACCP κατά την Παραγωγή Γαλακτοκομικών Προϊόντων

3.4.3.1. Περιγραφή τυριών τυρογάλακτος

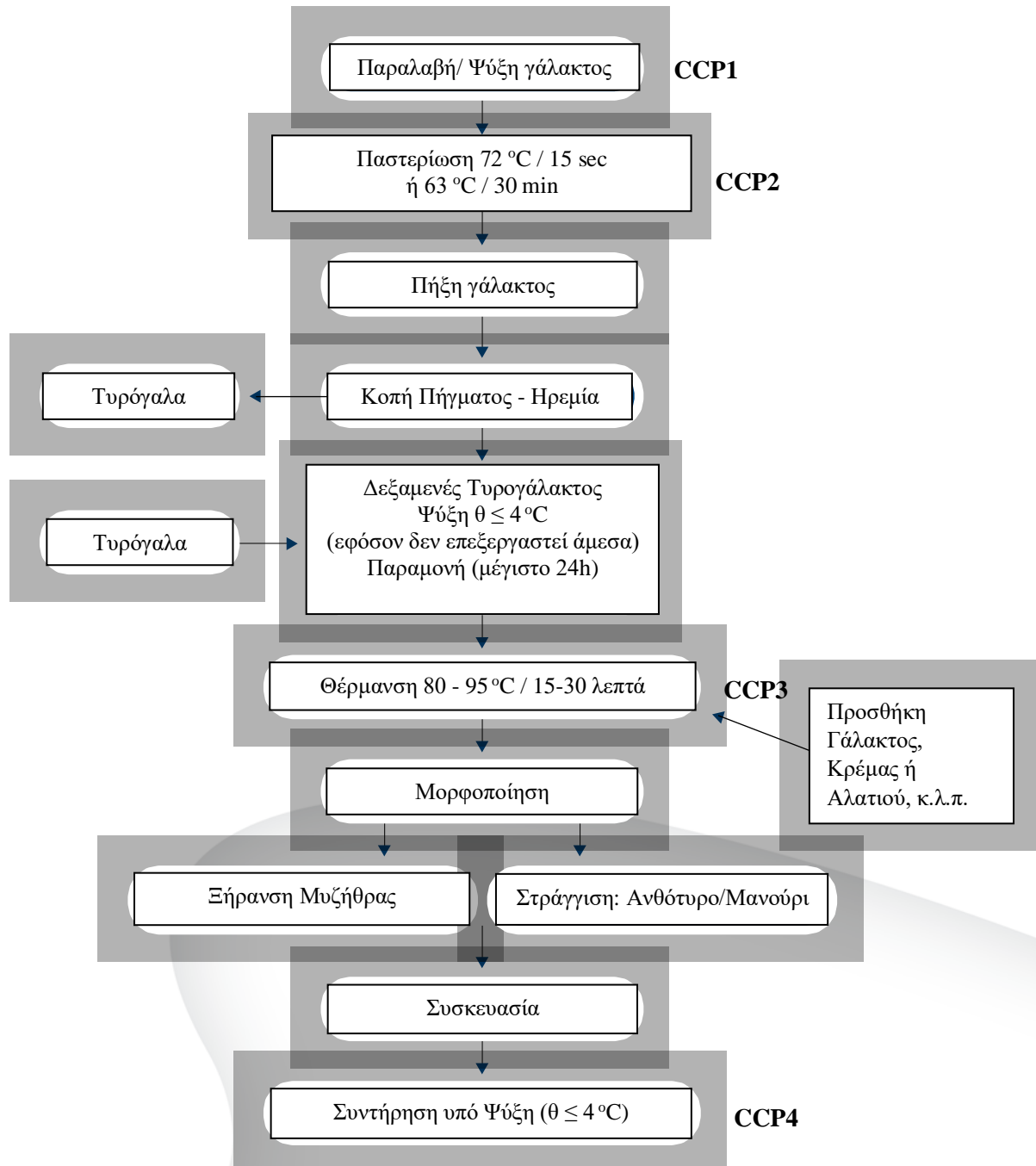
Πίνακας 3.15: Περιγραφή τυριών τυρογάλακτος.

ΟΝΟΜΑ	ΜΥΖΗΘΡΑ (ΞΕΡΗ), ΑΝΘΟΤΥΡΟ, ΜΑΝΟΥΡΙ (Π.Ο.Π.)		
Σύνθεση	Αιγοπρόβειο ή αγελαδινό (μυζήθρα) τυρόγαλα, αιγοπρόβειο ή αγελαδινό γάλα (πρόσγαλα) ή/και προσθήκη κρέμας, αλάτι		
Φυσικοχημικά Χαρακτηριστικά	ΜΥΖΗΘΡΑ	ΑΝΘΟΤΥΡΟ	ΜΑΝΟΥΡΙ
Ενέργεια	366 Kcal/100gr	191 Kcal/100gr	374 Kcal/100gr
Πρωτεΐνες	20%	1 %	10,5%
Λίπος	30%	19,5%	36%
Υγρασία (Μέγιστη)	50%	70%	60%
NaCl (Μέγιστη)	1,2%	1,2%	1,4%
Ελάχιστη λιποπεριεκτικότητα επί ξηρού	70%	70%	70%
Συσκευασία	Ανάλογα με τον τύπο του τυριού χρησιμοποιείται αεροστεγής συσκευασία των 200 g, 1, 1,5, 2 kg.		
Συνθήκες Συντήρησης	Διατηρείται σε ψύξη ($\theta \leq 4^{\circ} \text{C}$)		
Συνθήκες Διανομής	Υπό ψύξη ($\theta \leq 4^{\circ} \text{C}$)		
Συνθήκες Χρήσης	Τα τυριά τυρογάλακτος αποτελούν συνοδευτικό γεύματος και μέρος συνταγής μαγειρικής.		
Χρόνος Ζωής του Προϊόντος	ΜΥΖΗΘΡΑ	ΑΝΘΟΤΥΡΟ	ΜΑΝΟΥΡΙ
	Ένα έτος	30 ημέρες	90 ημέρες

[Πηγή: ΕΦΕΤ, 2012]

3.4.3.2. Διάγραμμα ροής παραγωγής τυριών τυρογάλακτος [Πηγή: ΕΦΕΤ, 2012]

Σχήμα 3.1: Διάγραμμα ροής παραγωγής τυριών τυρογάλακτος.



3.4.3.3. Ανάλυση και έλεγχος κινδύνων κατά την παραγωγή τυριών τυρογάλακτος

Η παραγωγή τυριών τυρογάλακτος αποτελεί συνήθως παράλληλη δραστηριότητα της γαλακτοκομικής μονάδας με την παραγωγή άλλων ειδών τυριών. Αυτό σημαίνει ότι οι διαδικασίες που ακολουθούνται και τα μέτρα πρόληψης των κινδύνων για την παραγωγή ασφαλών τυριών είναι ίδιες μέχρι το στάδιο της πήξης του γάλακτος και την παραλαβή του τυρογάλακτος για την περαιτέρω επεξεργασία (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Παραλαβή Γάλακτος (CCP1)**

Η παραλαβή γάλακτος στην εγκατάσταση περιλαμβάνει:

α. Παραλαβή του νοπού γάλακτος (από βυτία ή γαλακτοδοχεία)

Στο στάδιο αυτό γίνεται: 1. Οπτικός έλεγχος του γάλακτος

2. Εργαστηριακός έλεγχος του γάλακτος

3. Τήρηση κανόνων υγιεινής στο χώρο παραλαβής του γάλακτος

Κατά τον οπτικό έλεγχο ο υπεύθυνος ελέγχει την θερμοκρασία του γάλακτος. Κατά την παραλαβή η θερμοκρασία του γάλακτος πρέπει να είναι μέχρι 10°C , εφόσον αυτό δεν υποβάλλεται για επεξεργασία μέσα σε διάστημα 2 ωρών από το άρμεγμα. Επιπλέον, να ελέγχει τις οργανοληπτικές ιδιότητες (οσμή, χρώμα, πηκτικότητα) και την πιθανότητα ύπαρξης ξένων σωμάτων.

Κατά τον εργαστηριακό έλεγχο ο υπεύθυνος ελέγχει με δικά του μέσα ή με την υποστήριξη εξωτερικού εργαστηρίου:

- Το συνολικό αριθμό μικροβίων (ΣΑΜ)
- Την αρίθμηση σωματικών κυττάρων (σε αγελαδινό γάλα μόνο)
- Την πιθανή παρουσία αντιβιοτικών
- Το είδος του γάλακτος (αγελαδινό – πρόβειο - γίδινο)
- Τη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος
- Το pH του γάλακτος

Κατά τον έλεγχο της τήρησης των κανόνων υγιεινής ελέγχει τον καλό καθαρισμό του εξοπλισμού μεταφοράς του γάλακτος, των εργαλείων και γενικά του χώρου παραλαβής.

β. Αποθήκευση / συντήρηση του νοπού γάλακτος ($\theta \leq 6^{\circ}\text{C}$) σε δεξαμενές ψύξης

Το νοπό γάλα αποθηκεύεται σε δεξαμενές ψύξης σε θερμοκρασία $\leq 6^{\circ}\text{C}$, εφόσον η επεξεργασία του γάλακτος δεν αρχίζει αμέσως μετά το άρμεγμα, ή μέσα σε 4 ώρες από την παραλαβή του στην εγκατάσταση. Κατά την αποθήκευση - συντήρηση υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης του γάλακτος από μη καλό καθαρισμό των δεξαμενών και εργαλείων, καθώς και κίνδυνος πολλαπλασιασμού επικίνδυνων μικροοργανισμών από μη ορθή θερμοκρασία συντήρησης.

Ο υπεύθυνος κατά την αποθήκευση του γάλακτος ελέγχει τη θερμοκρασία αποθήκευσης του γάλακτος ($\theta \leq 6^{\circ}\text{C}$), τον καλό καθαρισμό και την απολύμανση των δεξαμενών και εργαλείων (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Η φυγοκέντρωση (CP)**

Ο υπεύθυνος πρέπει να ελέγχει καθημερινά την καλή λειτουργία του φυγοκεντρικού φίλτρου – κορυφολόγου, καθώς και τον καλό καθαρισμό και την αποβολή των ιζημάτων του φίλτρου.

Ο καθαρισμός και η συντήρηση του κορυφολόγου δεν πρέπει να γίνεται στο χώρο παραγωγής, ώστε να αποτρέπονται οι επιμολύνσεις (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Η παστερίωση (CCP2)**

Η παστερίωση του γάλακτος σύμφωνα με την ισχύουσα κοινοτική νομοθεσία γίνεται στον παστεριωτήρα στους 72 °C τουλάχιστον για 15 δευτερόλεπτα (συνήθως κλειστού τύπου παστερίωση), ή στους 63 °C τουλάχιστον για 30 λεπτά (συνήθως ανοικτού τύπου παστερίωση), ή σε οποιονδήποτε άλλο συνδυασμό θερμοκρασίας και χρόνου δίνει το αντίστοιχο αποτέλεσμα.

Πως ελέγχεται:

- Με τη συνεχή παρακολούθηση της θερμοκρασίας του γάλακτος ώστε να φθάσει στην απαιτούμενη τιμή, καθώς και του χρόνου παραμονής σε αυτή την θερμοκρασία.
- Με την εφαρμογή της δοκιμής της αλκαλικής φωσφατάσης, το αποτέλεσμα της οποίας θα πρέπει να είναι αρνητικό.

Στους κλειστού τύπου παστεριωτήρες γίνεται:

- Έλεγχος καθημερινά της βαλβίδας αντιστροφής της ροής για την διασφάλιση της ορθής λειτουργίας της, ώστε το γάλα που δεν θερμάνθηκε στην κατάλληλη θερμοκρασία και για όσο χρόνο απαιτείται να επιστρέφει πίσω για να παστεριωθεί κανονικά.
- Έλεγχος των θερμαντικών πλακών στους παστεριωτήρες υψηλής παστερίωσης ότι δεν εμφανίζουν διαρροή.

Η παστερίωση είναι η σημαντικότερη διαδικασία για την ασφάλεια των γαλακτοκομικών προϊόντων. Εδώ θανατώνονται τα επικίνδυνα για την δημόσια υγεία βακτήρια, που πιθανόν να υπάρχουν στο γάλα και μειώνεται ο αριθμός των μικροβίων. Ο μικρός αριθμός των κοινών μικροβίων που πιθανόν να επιβιώνει κατά την παστερίωση, ελέγχεται στη συνέχεια με την προσθήκη της οξυγαλακτικής καλλιέργειας.

Η επιβίωση ή ανάπτυξη βακτηρίων επικίνδυνων για την δημόσια υγεία και την αλλοίωση των τυριών συμβαίνει όταν δεν επιτυγχάνεται η κατάλληλη θερμοκρασία ή ο κατάλληλος χρόνος παστερίωσης και όταν γίνεται ανάμειξη παστεριωμένου γάλακτος με νωπό ή ανεπαρκώς παστεριωμένο γάλα.

Μετά την παστερίωση το γάλα ψύχεται στους 32°C περίπου. Ο υπεύθυνος φροντίζει ώστε ο εξοπλισμός και οι δεξαμενές της παστερίωσης να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται μετά το τέλος της διαδικασίας. Τέλος, ελέγχει τον εξοπλισμό για υπολείμματα καθαριστικών και απολυμαντικών, διότι η παρουσία τους αποτελεί κίνδυνο για χημική επιμόλυνση του γάλακτος στην επόμενη χρήση του εξοπλισμού (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Δεξαμενές αποθήκευσης τυρογάλακτος**

Ο υπεύθυνος πρέπει να ελέγχει τον καλό καθαρισμό και την απολύμανση των δεξαμενών. Όταν η επεξεργασία του τυρογάλακτος δεν γίνεται άμεσα, αυτό πρέπει να ψύχεται και να παραμένει σε χαμηλή θερμοκρασία ($\theta \leq 4^{\circ}\text{C}$), για να παρεμποδίζεται ο πολλαπλασιασμός των μικροβίων.

Πάντως και ο χρόνος παραμονής σε ψύξη δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 24 ώρες (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Θέρμανση (80-95°C / 15-20 λεπτά) και προσθήκη προσθέτων (CCP3)**

Στο στάδιο αυτό γίνεται η βασική επεξεργασία του πήγματος. Όταν η θερμοκρασία υπερβεί τους 60°C προστίθενται ανάλογα με την περίπτωση (είδος παραγόμενου τυριού τυρογάλακτος) γάλα, κρέμα, αλάτι ή άλλα πρόσθετα. Λόγω της ισχυρής θερμικής επεξεργασίας εξυγιαίνεται το προϊόν από τα παθογόνα βακτήρια, χωρίς να καταστρέφονται οι θερμοάντοχοι σπόροι των σπορογόνων βακτηρίων καθώς και οι τοξίνες τους. Ο υπεύθυνος πρέπει να ελέγχει την εφαρμογή της ορθής υγιεινής πρακτικής κατά την προσθήκη των συστατικών για την αποτροπή επιμολύνσεων του τυρογάλακτος (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Μορφοποίηση (Στράγγιση - Ξήρανση) - Συσκευασία (CP)**

Ο υπεύθυνος πρέπει να ελέγχει την εφαρμογή αυστηρών μέτρων ορθής υγιεινής πρακτικής. Να φροντίζει για την αποφυγή επιμολύνσεων από το περιβάλλον, την ύπαρξη τρωκτικών και εντόμων, τον μη καλό καθαρισμό του χώρου εργασίας, των πάγκων εργασίας, των σκευών, του ξηραντήρα.

Επιπλέον, πρέπει να ελέγχει τη θερμοκρασία του χώρου, καθώς και την καταλληλότητα των υλικών συσκευασίας. Για την μυζήθρα που ξηραίνεται σε ημιυπαίθριους χώρους απαιτούνται ειδικά μέτρα προστασίας (π.χ. τοποθέτηση κατάλληλης σίτας) για την αποτροπή κινδύνων επιμόλυνσης από το περιβάλλον.

Το στάδιο μορφοποίησης των τυριών τυρογάλακτος χαρακτηρίζεται ως το πιο επικίνδυνο από άποψη ασφάλειας, γιατί τα παραγόμενα προϊόντα αν επιμολυνθούν δεν ακολουθεί άλλη διαδικασία για την εξυγίανση τους (ΕΦΕΤ, 2012).

- **Συντήρηση ($\theta \leq 4^\circ\text{C}$) (CCP4)**

Ο υπεύθυνος ελέγχει την θερμοκρασία συντήρησης (4°C) για την αποτροπή του πολλαπλασιασμού μικροβίων.

Μετά το τέλος της διαδικασίας παραγωγής τα τυριά τυρογάλακτος θα πρέπει να οδηγούνται άμεσα στη συντήρηση υπό ψύξη. Επιπλέον, πρέπει να διακινούνται και στα σημεία πώλησης υπό ψύξη (ΕΦΕΤ, 2012).

3.4.3.4. Σχέδιο HACCP για την παραγωγή Τυριών Τυρογάλακτος (ΕΦΕΤ, 2012)

Πίνακας 3.16: Σχέδιο HACCP για την παραγωγή Τυριών Τυρογάλακτος.

a/a	ΣΤΑΔΙΟ	ΠΙΘΑΝΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ	ΕΙΔΟΣ ΣΗΜΕΙΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΚΡΙΣΙΜΟ ΟΡΙΟ	ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ			ΔΙΟΡΘΩΤΙΚΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ
					Προληπτικά Μέτρα	Συχνότητα	Υπευθυνότητα	
1	Παραλαβή / αποθήκευση - ψύξη νοπού γάλακτος	Η περιορισμένη εφαρμογή μηχανικής άμελης καθιστά δύσκολη την διατήρηση ικανοποιητικής μικροβιολογικής ποιότητας στο νοπό γάλα	CCP 1	Μικροβιακό φορτίο νοπού γάλακτος εντός ορίων με βάση τους κανονισμούς (Παράρτημα III, Τμήμα IX του Κανονισμού (ΕΚ) 853/2004)	Ορθή εφαρμογή μηχανικής άμελης	Κάθε παρτίδα	Υπεύθυνος παραγωγής	Αλλαγή προμηθευτή γάλακτος
		Ατελής ψύξη νοπού γάλακτος σε $\theta \leq 6 \text{ }^\circ\text{C}$, ώστε να αποτραπεί η ανάπτυξη αλλοιογόνων και παθογόνων βακτηρίων		Θερμοκρασία $\leq 6 \text{ }^\circ\text{C}$	Τήρηση θερμοκρασίας ψύξης ($\leq 6 \text{ }^\circ\text{C}$)	Κάθε παρτίδα	Υπεύθυνος παραγωγής	Αλλαγή προμηθευτή γάλακτος
		Τα αντιβιοτικά στο γάλα δυσχεραίνουν την ωρίμανση των τυριών, γεγονός που οδηγεί στην ποιοτική υποβάθμιση έως και καταστροφή του προϊόντος, ακόμα και στην ανάπτυξη επικίνδυνων μικροοργανισμών		Απουσία αντιβιοτικών στο γάλα	Μακροσκοπικός έλεγχος παρουσίας αντιβιοτικών	Κάθε παρτίδα	Υπεύθυνος παραγωγής	Αλλαγή προμηθευτή γάλακτος
		Οι περιβαλλοντικοί ρυπαντές ασκούν χρόνια τοξική δράση επιμολύνοντας τα παραγόμενα ζωικά προϊόντα (π.χ. κρέας, γάλα)		Απουσία περιβαλλοντικών ρυπαντών	Μακροσκοπικός έλεγχος παρουσίας περιβαλλοντικών ρυπαντών	Κάθε παρτίδα	Υπεύθυνος παραγωγής	Αλλαγή προμηθευτή γάλακτος
		Κατά την παραλαβή πραγματοποιείται οπτικός έλεγχος του γάλακτος, εργαστηριακός έλεγχος του γάλακτος και έλεγχος τήρησης κανόνων υγιεινής		Μικροβιακό φορτίο νοπού γάλακτος εντός ορίων με βάση τους κανονισμούς (Παράρτημα III, Τμήμα IX του Κανονισμού (ΕΚ) 853/2004)	Οπτικός έλεγχος: 1. Θερμοκρασία του γάλακτος μέχρι $10 \text{ }^\circ\text{C}$ 2. Οργανοληπτικές του ιδιότητες (οσμή, χρώμα, πηκτικότητα) 3. Ύπαρξη ξένων σωμάτων.	Κάθε παρτίδα	Υπεύθυνος παραλαβής (οπτικού ελέγχου)	Επανάληψη διαδικασίας και Δειγματοληπτικός έλεγχος προϊόντος

					<p>Εργαστηριακός έλεγχος:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Συνολικός αριθμός μικροβίων 2. Αρίθμηση σωματικών κυττάρων (σε αγελαδινό γάλα μόνο) 3. Πιθανή παρουσία αντιβιοτικών 4. Είδος του γάλακτος (αγελαδινό – πρόβειο - γίδινο) 5. Περιεκτικότητα Λίπους του γάλακτος 6. pH του γάλακτος 		Υπεύθυνος παραλαβής (εργαστηριακού ελέγχου)	Επανάληψη διαδικασίας και Λειτουργικός έλεγχος προϊόντος
					Έλεγχος τήρησης κανόνων υγιεινής (καλός καθαρισμός του εξοπλισμού μεταφοράς του γάλακτος, των εργαλείων και γενικά του χώρου παραλαβής)		Υπεύθυνος παραλαβής	Ενημέρωση προμηθευτή γάλακτος
		Κατά την αποθήκευση / συντήρηση του νοπού γάλακτος ($\theta \leq 6^\circ \text{C}$) υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης από τον εξοπλισμό και τις δεξαμενές και κίνδυνος ανάπτυξη επικίνδυνων μικροοργανισμών		Απουσία παθογόνων σε εξοπλισμό και δεξαμενές	Έλεγχος καλού καθαρισμού του εξοπλισμού και των δεξαμενών	Κάθε παρτίδα	Υπεύθυνος αποθήκευσης	Επανάληψη καθαρισμού
				Θερμοκρασία $\leq 6^\circ \text{C}$	Τήρηση θερμοκρασίας ψύξης ($\leq 6^\circ \text{C}$)			
2	Φυγοκέντρωση	Ατελής καθαρισμός του φυγοκεντρικού φίλτρου	CP		Έλεγχος καλού καθαρισμού του φυγοκεντρικού φίλτρου	Καθημερινά	Υπεύθυνος παραγωγής	Επανάληψη καθαρισμού
3	Παστερίωση	Επιβίωση μικροβίων λόγω ατελούς παστερίωσης	CCP 2	72°C / 15 δευτερόλεπτα ή 63°C / 30	Έλεγχος διαγράμματος παστερίωσης	Συνεχής	Υπεύθυνος παστερίωσης γάλακτος	Επανάληψη παστερίωσης
		Χημική επιμόλυνση από υπολείμματα καθαριστικών και απολυμαντικών	CP	λεπτά ή οποιοδήποτε άλλο συνδυασμό θερμ./χρόνου για την επίτευξη ισοδύναμου αποτελέσματος	<p>Δοκιμή αλκαλικής φωσφατάσης</p> <p>Δοκιμή αλκαλικής φωσφατάσης</p>	<p>Περιοδικά</p> <p>Μετά το πέρας των διαδικασιών</p>		Επανάληψη έκπλυσης του παστεριωτήρα

4	Πλήρωση δεξαμενών τυρογάλακτος	Μικροβιακή επιμόλυνση από ατελή καθαρισμό - απολύμανση των μέσων μεταφοράς του και των δεξαμενών υποδοχής	CP		Μακροσκοπικός έλεγχος καθαρισμού - απολύμανσης	Καθημερινά	Υπεύθυνος παραγωγής	Επανάληψη καθαρισμού
		Πολλαπλασιασμός βακτηρίων από πολύωρη παραμονή σε θερμοκρασία > 4°C (σε περίπτωση μη άμεσης επεξεργασίας)			Τήρηση θερμοκρασίας ψύξης (≤ 4°C) και χρόνου (έως 24 ώρες	Καθημερινά		
5	Θέρμανση 80 - 95 °C 15 - 20 λεπτά Πρόσθετα	Επιβίωση μικροβίων λόγω ατελούς θερμικής επεξεργασίας	CCP 3	80 - 95°C / 15 - 20 λεπτά	Έλεγχος θερμοκρασίας – χρόνου	Συνεχής	Υπεύθυνος παραγωγής	Επανάληψη διαδικασίας
		Μικροβιακή επιμόλυνση από ατελή καθαρισμό – απολύμανση του βραστήρα			Μακροσκοπικός έλεγχος καθαρισμού του βραστήρα	Καθημερινά		Επανάληψη καθαρισμού
		Χημική επιμόλυνση από υπολείμματα καθαριστικών και απολυμαντικών			Μακροσκοπικός έλεγχος καθαρισμού- απολύμανσης	Μετά το πέρας των διαδικασιών		Επανάληψη έκπλυσης του βραστήρα
		Μικροβιακή επιμόλυνση από ακατάλληλους χειρισμούς του προσωπικού			Τήρηση κανόνων ορθής υγιεινής πρακτικής του προσωπικού	Συνεχής		Εκπαίδευση προσωπικού
		Αστοχία επιθυμητής δράσης των προσθέτων (καλλιέργεια, πτυτιά, γλωριούχο ασβέστιο)			Έλεγχος προσθέτων. Έλεγχος παστερίωσης προσγάλακτος. Αξιολόγηση του προμηθευτή	Κάθε παρτίδα		Ενημέρωση προμηθευτή βοηθητικών υλών

6	Μορφοποίηση: Ξήρανση - Στράγγιση	Μικροβιακή επιμόλυνση από ατελή καθαρισμό εξοπλισμού	CP		Μακροσκοπικός έλεγχος σκευών και ξηραντήρα	Καθημερινά	Υπεύθυνος παραγωγής	Επανάληψη καθαρισμού	
		Επιμόλυνση από το περιβάλλον, πτώση ξένων σωμάτων, παρουσία εντόμων, τρωκτικών (όταν γίνεται χρήση ημιυπαίθριου ή εξωτερικού χώρου ξήρανσης)			Μέτρα προστασίας από ξένα σώματα, και έντομα, τρωκτικά (ακεραιότητα προστατευτικού πλέγματος - σίτας, ατομική υγιεινή, αποτελεσματική εντομοκτονία και μυοκτονία)	Καθημερινά			Δειγματοληπτικός έλεγχος τελικού προϊόντος (για χαρακτηρισμό μελλοντικών παρτίδων)
		Αύξηση μικροβιακού φορτίου λόγω ακατάλληλης θερμοκρασίας χώρου			Έλεγχος θερμοκρασίας χώρου	Συνεχής			
		Μικροβιακή επιμόλυνση από ακατάλληλους χειρισμούς του προσωπικού			Τήρηση κανόνων ορθής υγιεινής πρακτικής του προσωπικού	Συνεχής			
7	Συσκευασία	Επιμόλυνση από το περιβάλλον. Πτώση ξένων σωμάτων, εντόμων	CP		Μέτρα προστασίας από ξένα σώματα, αποτελεσματική εντομοκτονία	Καθημερινά	Υπεύθυνος παραγωγής	Εντείνονται τα μέτρα υγιεινής από το στάδιο 6.	
		Αύξηση μικροβιακού φορτίου λόγω ακατάλληλης θερμοκρασίας χώρου			Έλεγχος θερμοκρασίας χώρου και ολοκλήρωση της διαδικασίας σε σύντομο χρονικό διάστημα	Συνεχής			
		Επιμόλυνση από χειρισμούς του προσωπικού			Τήρηση κανόνων ορθής υγιεινής πρακτικής του προσωπικού	Συνεχής			
		Επιμόλυνση από υλικά συσκευασίας			Έλεγχος καταλληλότητας των υλικών συσκευασίας Αξιολόγηση του προμηθευτή	Κάθε παρτίδα			Αλλαγή προμηθευτή υλικών συσκευασίας
8	Συντήρηση υπό ψύξη	Επιβίωση και ανάπτυξη βακτηρίων λόγω ακατάλληλης θερμοκρασίας θαλάμων συντήρησης	CCP 4	Θερμοκρασία $\leq 4^{\circ}\text{C}$	Έλεγχος θερμοκρασίας θαλάμων συντήρησης	Συνεχής	Υπεύθυνος παραγωγής	Δειγματοληπτικός έλεγχος του τελικού προϊόντος (βλ. προηγούμενο σχόλιο)	
				Απουσία παθόνων σε 25 γραμ.	Έλεγχος τελικού προϊόντος	Περιοδικά			

[Πηγή: ΕΦΕΤ, 2012]

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπό της μελέτης αποτέλεσε η μείωση της συγκέντρωσης των παθογόνων μικροοργανισμών και συγκεκριμένα της *Listeria monocytogenes* στο υπόστρωμα τυριών τυρογάλακτος, με τη χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν προορατικά μοντέλα μικροβιολογίας για την προσομοίωση των πραγματικών συνθηκών ανάπτυξης των οξυγαλακτικών βακτηρίων και της *Listeria monocytogenes* σε υπόστρωμα τυριών τυρογάλακτος. Τα δύο είδη μοντέλων που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της πιθανότητας ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι τα προορατικά προγράμματα ComBase Predictor και Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP). Αντικείμενο έρευνας των προορατικών μοντέλων αποτέλεσε η εύρεση της πιθανότητας ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes*, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), καθώς και της συνύπαρξης των δύο μικροοργανισμών στο ίδιο υπόστρωμα, δηλαδή στα τυριά τυρογάλακτος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας με τη μέθοδο ComBase Predictor

Η ComBase είναι ένα πρόγραμμα συνεργασίας ανάμεσα στο Πανεπιστήμιο της Τασμανίας και τη USDA Υπηρεσία Αγροτικής Έρευνας (USDA-ARS). Χρησιμοποιείται online για να προσδιορίσει την ποσοτική μικροβιολογία τροφίμων. Το κύριο χαρακτηριστικό της είναι η βάση δεδομένων της και τα ComBase μοντέλα που διαθέτει. Ο βασικός στόχος της είναι να περιγράφει και να προβλέπει τον μηχανισμό ανάπτυξης και επιβίωσης των μικροοργανισμών σε ποικίλες συνθήκες, κατά κύριο λόγο, σχετιζόμενες με τα τρόφιμα.

Είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για τις βιομηχανίες τροφίμων, έτσι ώστε να επινοήσουν ασφαλέστερους τρόπους διαχείρισης κατά την παραγωγή και την αποθήκευση των τροφίμων. Αυτό το πρόγραμμα περιέχει αναπτυσσόμενα νέα προϊόντα τροφίμων, καθώς και ανασυντιθέμενα τρόφιμα. Σχεδιάζει πρωτόκολλα, παράγει σχέδια ασφάλειας τροφίμων και βοηθάει τους δημόσιους οργανισμούς υγείας να αναπτύξουν πολιτικές διαχείρισης τροφίμων, οι οποίες είναι βασισμένες στην επιστήμη, μέσω της ποσοτικής αξιολόγησης της επικινδυνότητας των τροφίμων. Πάνω από 60.000 καταγραφές έχουν εισαχθεί στα δεδομένα της ComBase, περιγράφοντας πως τα περιβάλλοντα των τροφίμων, όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, η περιεκτικότητα αλατιού, η ενεργότητα νερού και άλλοι παράγοντες (π.χ. τα συντηρητικά και η ατμόσφαιρα) επηρεάζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων.

Τέλος, κάθε καταγραφή δεδομένων δείχνει στους χρήστες πως οι πληθυσμοί βακτηρίων τροποποιούνται για κάθε συγκεκριμένο συνδυασμό περιβαλλοντικών παραμέτρων. Τα μαθηματικά μοντέλα (της ComBase broth και των μοντέλων τροφίμων) αναπτύχθηκαν ως συστηματικά παραγωγικά δεδομένα για την πρόβλεψη της ανάπτυξης ή της επιβίωσης ποικίλων μικροοργανισμών, υπό διάφορες συνθήκες.

4.2. Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας με τη μέθοδο Food Spoilage and Safety Predictor

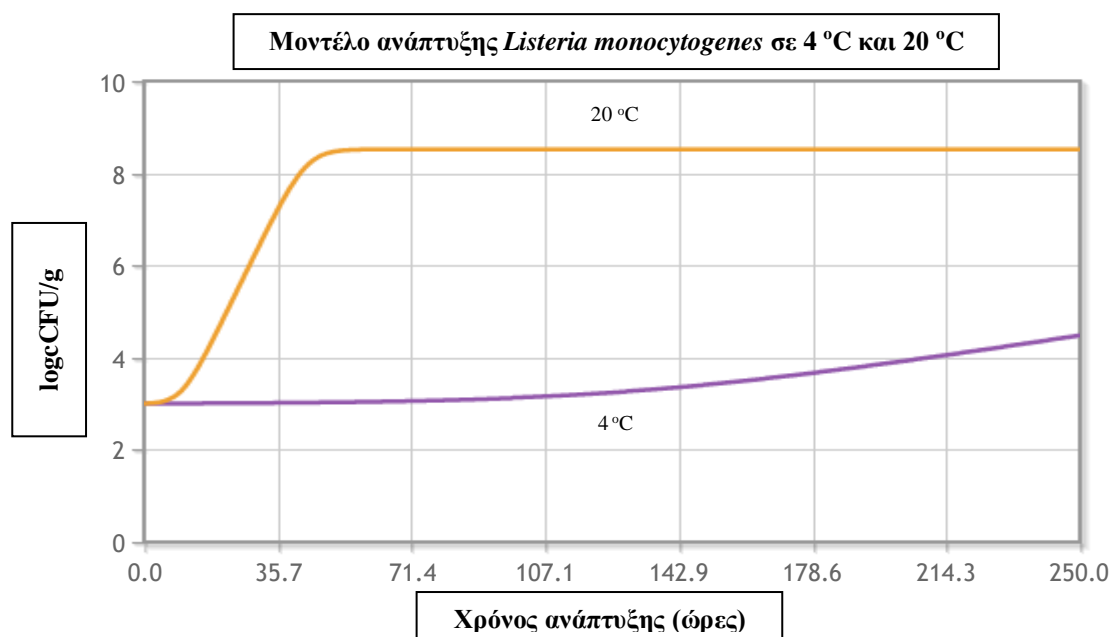
Το λογισμικό προορατικής μοντελοποίησης FSSP χρησιμοποιείται από το 1999 και αναπτύχθηκε βάσει μαθηματικών μοντέλων. Το πρόγραμμα Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) αποτελεί μοντέλο με Ντετερμινιστική προσέγγιση (Koutsoumanis et al., 2016). Μεταγενέστερα, δημιουργήθηκαν εκτεταμένα μοντέλα ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) σε κατεψυγμένα θαλασσινά, προϊόντα κρέατος και τυριού τύπου cottage, έτσι ώστε να προβλεφθεί η διατηρησιμότητα του εκάστοτε τροφίμου. Τέλος, η εξέλιξη του λογισμικού αναβαθμίστηκε χρησιμοποιώντας περισσότερες παραμέτρους, εκτός της θερμοκρασίας, όπως είναι η προσθήκη άλατος (NaCl / a_w), το pH, η διαφορετική συγκέντρωση CO_2 στην συσκευασία, η ένταση του καπνού, τα νιτρώδη, κ.α. Επομένως, δημιουργήθηκε ένα γενικό μοντέλο για την πρόβλεψη της ανάπτυξης μικροοργανισμών στα τρόφιμα ανάλογα με τη θερμοκρασία και τους παραπάνω παράγοντες.

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΟΡΑΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ
LISTERIA MONOCYTOGENES ΚΑΙ ΤΩΝ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ (LAB) ΣΕ
ΟΥΔΕΤΕΡΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΚΑΙ ΣΕ ΤΥΡΙΑ**

5.1. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (ComBase Predictor):

5.1.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Broth Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός *Listeria monocytogenes*

Σχήμα 5.1: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.1: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.

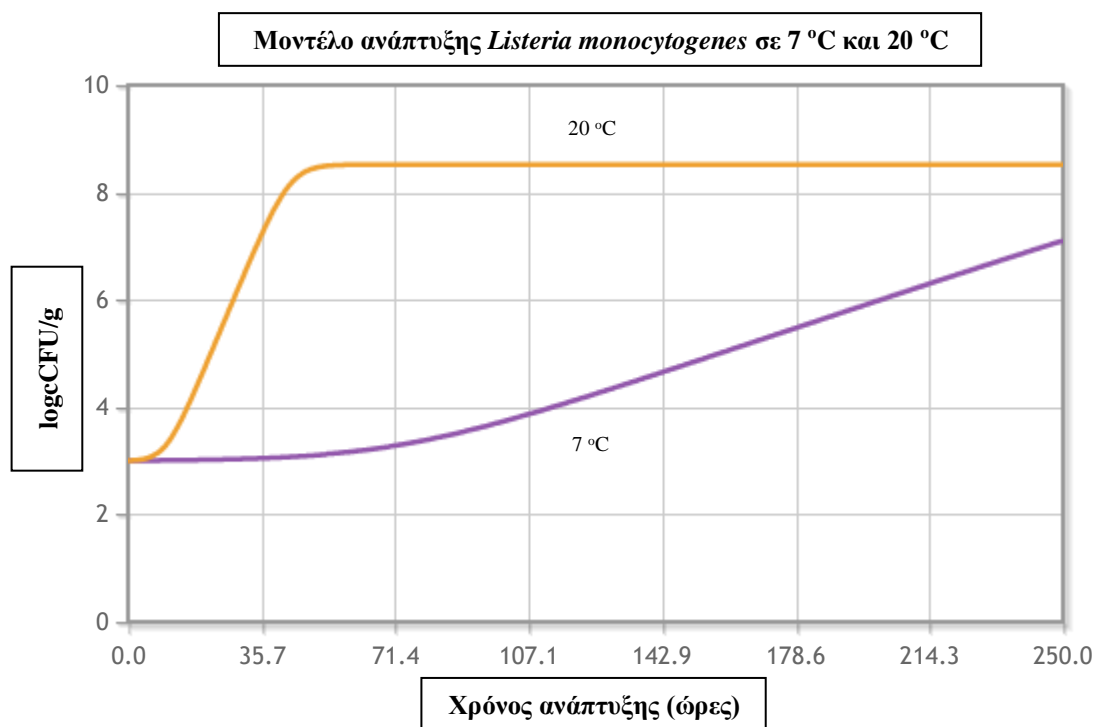
— *Listeria monocytogenes* (μωβ καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	4	5.8	0.994	0.013	23.819	130.29	23.819

— *Listeria monocytogenes* (κίτρινη καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	20	5.8	0.994	0.167	1.806	10.14	8.52

Σχήμα 5.2: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νοπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 7 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.2: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νοπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 7 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.

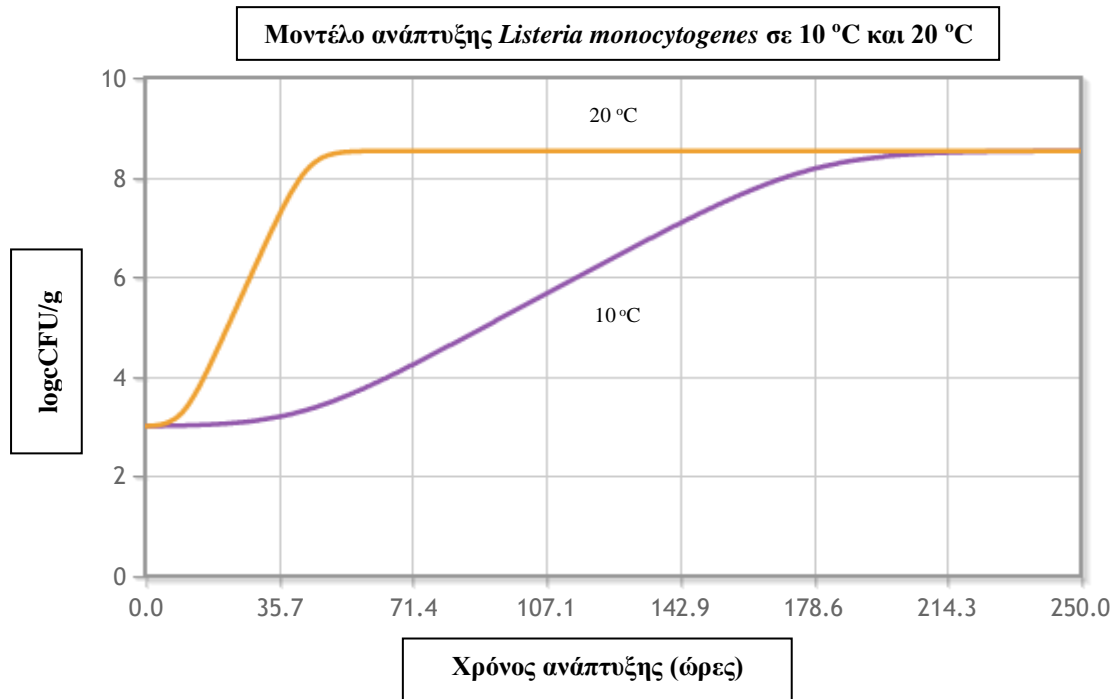
— *Listeria monocytogenes* (μωβ καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	7	5.8	0.994	0.023	12.902	73.64	8.52

— *Listeria monocytogenes* (κίτρινη καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	20	5.8	0.994	0.167	1.806	10.14	8.52

Σχήμα 5.3: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 10 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.3: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 10 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.

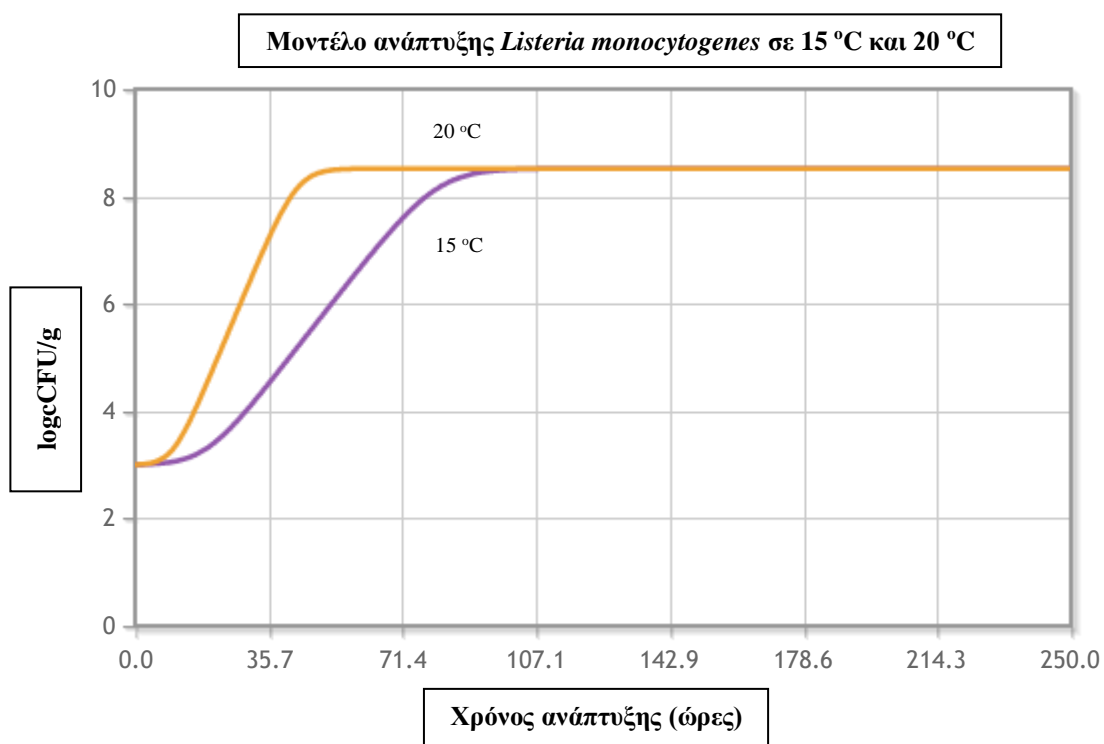
— *Listeria monocytogenes* (μωβ καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	10	5.8	0.994	0.041	7.418	41.31	8.52

— *Listeria monocytogenes* (κίτρινη καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	20	5.8	0.994	0.167	1.806	10.14	8.52

Σχήμα 5.4: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 15 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.4: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 15 °C και 20 °C, παρουσία αέρα.

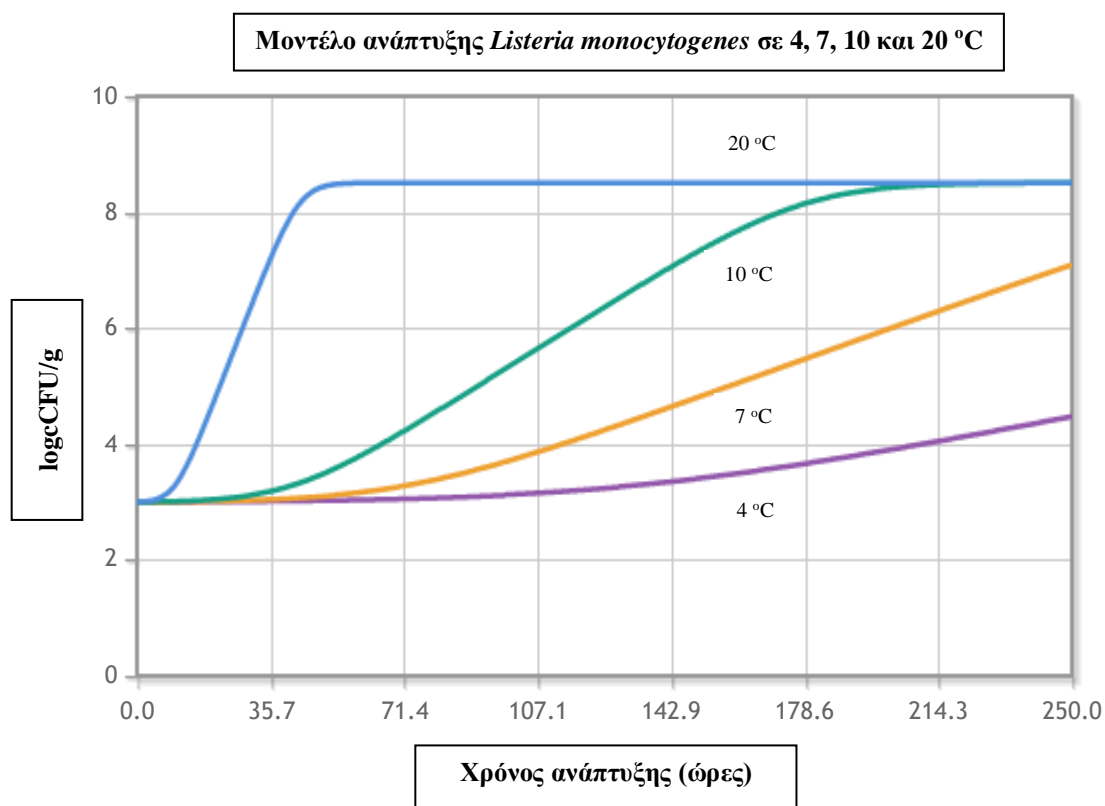
— *Listeria monocytogenes* (μωβ καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	15	5.8	0.994	0.089	3.369	19.03	8.52

— *Listeria monocytogenes* (κίτρινη καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	20	5.8	0.994	0.167	1.806	10.14	8.52

Σχήμα 5.5: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό (cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4, 7, 10 και 20 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.5: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %), ίδιο αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4, 7, 10 και 20 °C, παρουσία αέρα.

— *Listeria monocytogenes* (μωβ καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	4	5.8	0.994	0.013	23.819	130.29	8.52

— *Listeria monocytogenes* (κίτρινη καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	7	5.8	0.994	0.023	12.902	73.64	8.52

— *Listeria monocytogenes* (πράσινη καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	10	5.8	0.994	0.041	7.418	41.31	8.52

— *Listeria monocytogenes* (μπλε καμπύλη)

Init. level	Phys.state	Temp (°C)	pH	Aw	Max. rate (log.conc/h)	Dbl. time (Hours)	Lag time (Hours)	MPD (log CFU/g)
3	2.0e-2	20	5.8	0.994	0.167	1.806	10.14	8.52

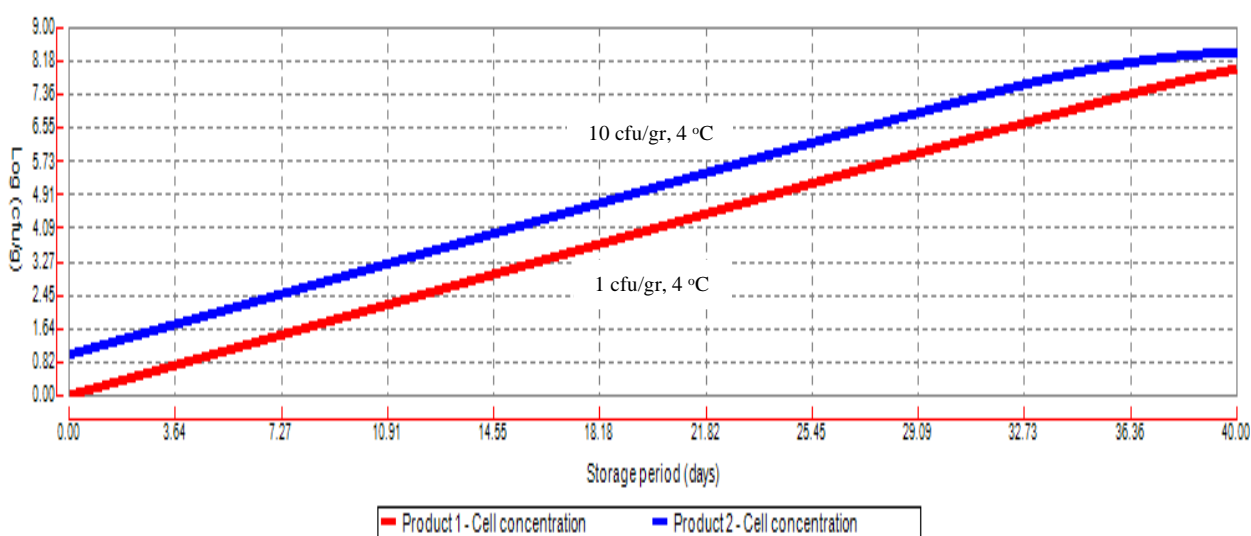
5.2. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

5.2.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός *Listeria monocytogenes*

Πίνακας 5.6: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1 cfu/gr	10 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	4 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.6: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.



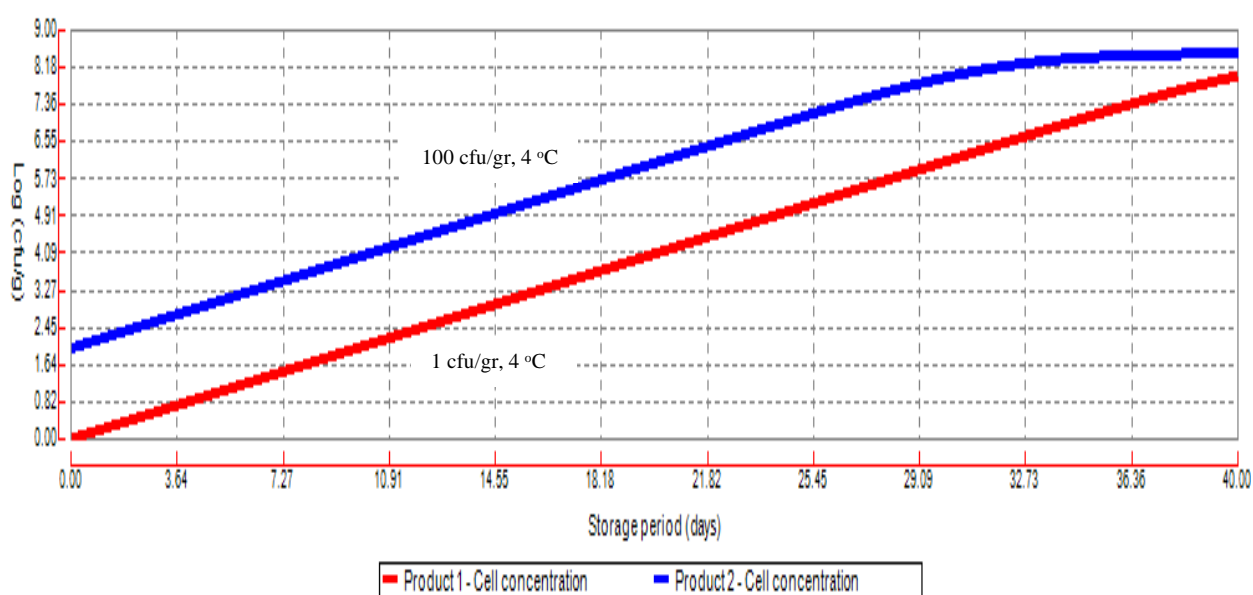
Πίνακας 5.7: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0196	0,0196
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2963	0,2963
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αυξηθούν 100-fold (d)	9,8 ημέρες	9,8 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	34,38 ημέρες	29,48 ημέρες

Πίνακας 5.8: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1 cfu/gr	100 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	4 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.7: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.



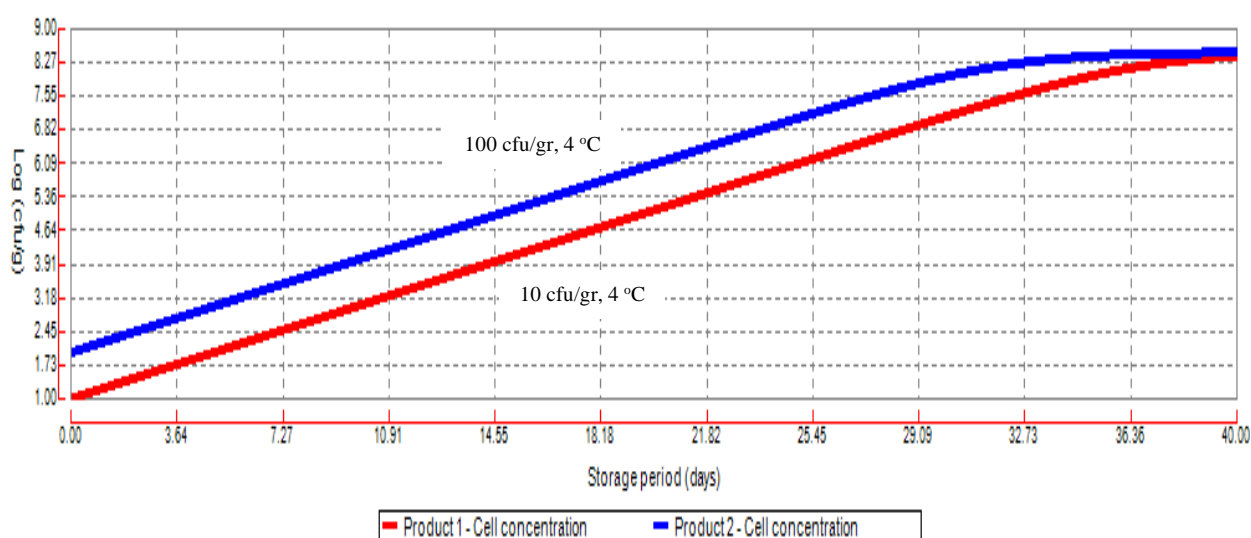
Πίνακας 5.9: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0196	0,0196
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2963	0,2963
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	9,8 ημέρες	9,8 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	34,38 ημέρες	24,57 ημέρες

Πίνακας 5.10: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	10 cfu/gr	100 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	4 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.8: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.



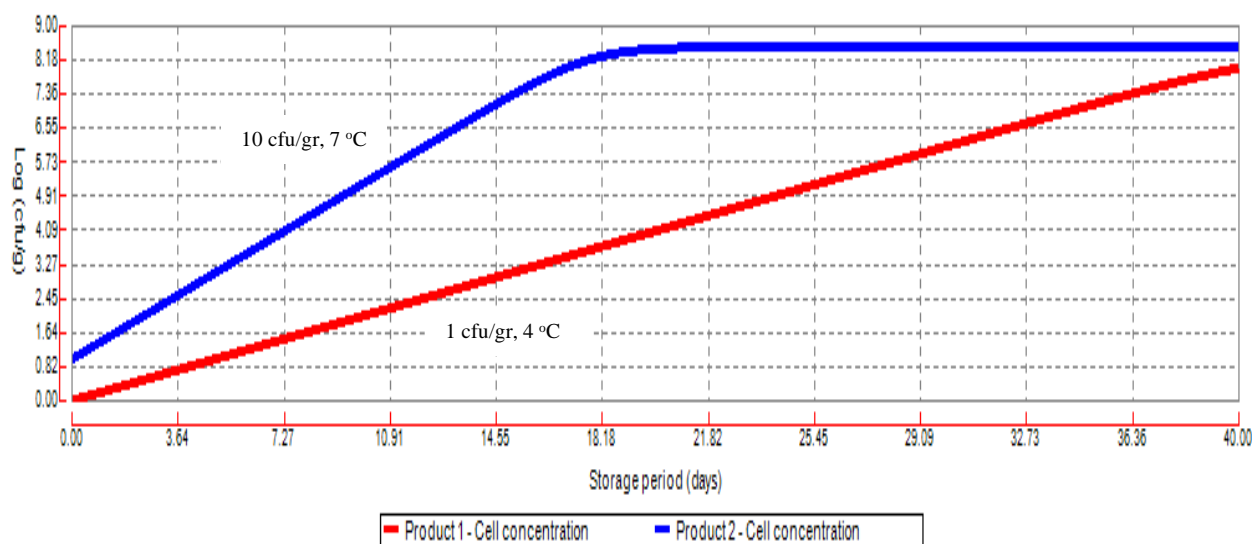
Πίνακας 5.11: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0196	0,0196
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2963	0,2963
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	9,8 ημέρες	9,8 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	29,48 ημέρες	24,57 ημέρες

Πίνακας 5.12: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1 cfu/gr	10 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	7 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.9: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



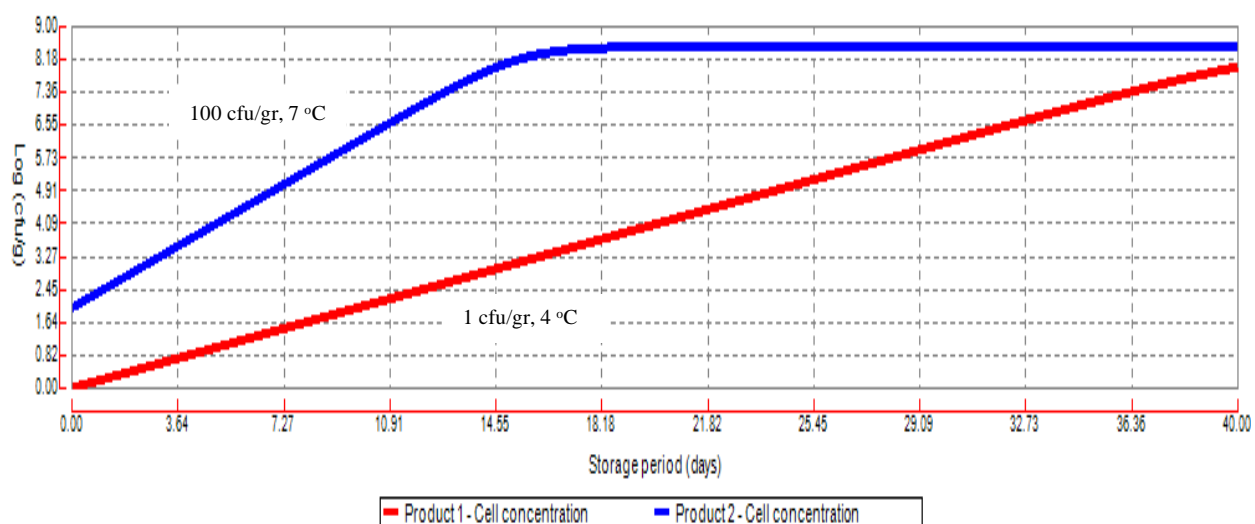
Πίνακας 5.13: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0196	0,0405
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2963	0,2178
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	9,8 ημέρες	4,73 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	34,38 ημέρες	14,23 ημέρες

Πίνακας 5.14: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1 cfu/gr	100 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	7 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.10: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



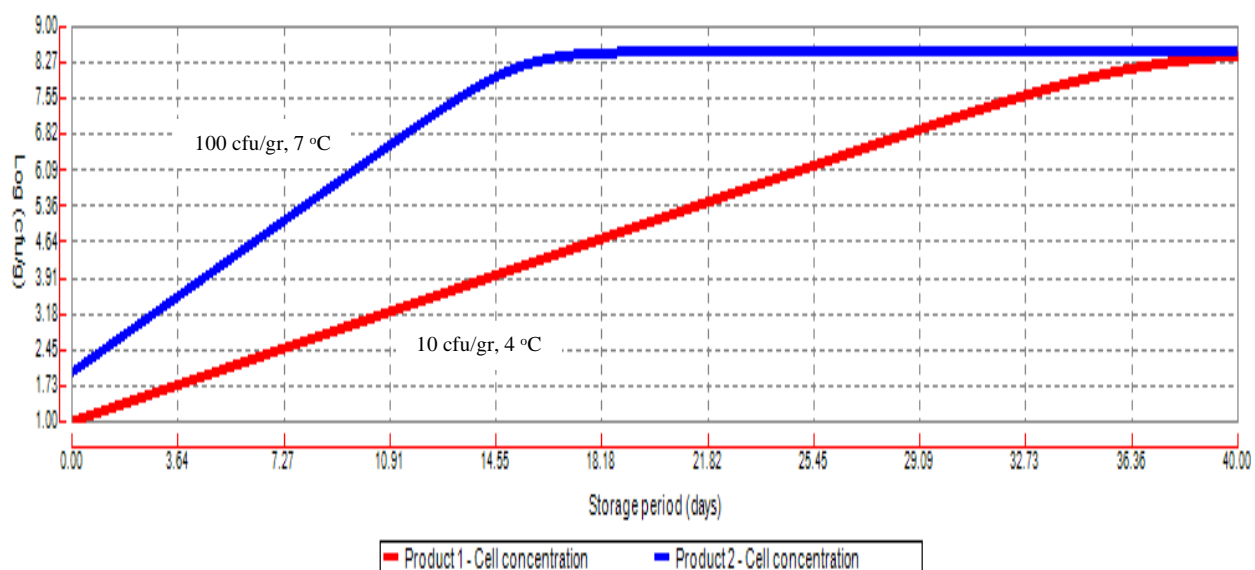
Πίνακας 5.15: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0196	0,0405
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2963	0,2178
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	9,8 ημέρες	4,73 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	34,38 ημέρες	11,86 ημέρες

Πίνακας 5.16: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	10 cfu/gr	100 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	7 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.11: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.17: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό *Listeria monocytogenes* και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0196	0,0405
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2963	0,2178
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	9,8 ημέρες	4,73 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	29,48 ημέρες	11,86 ημέρες

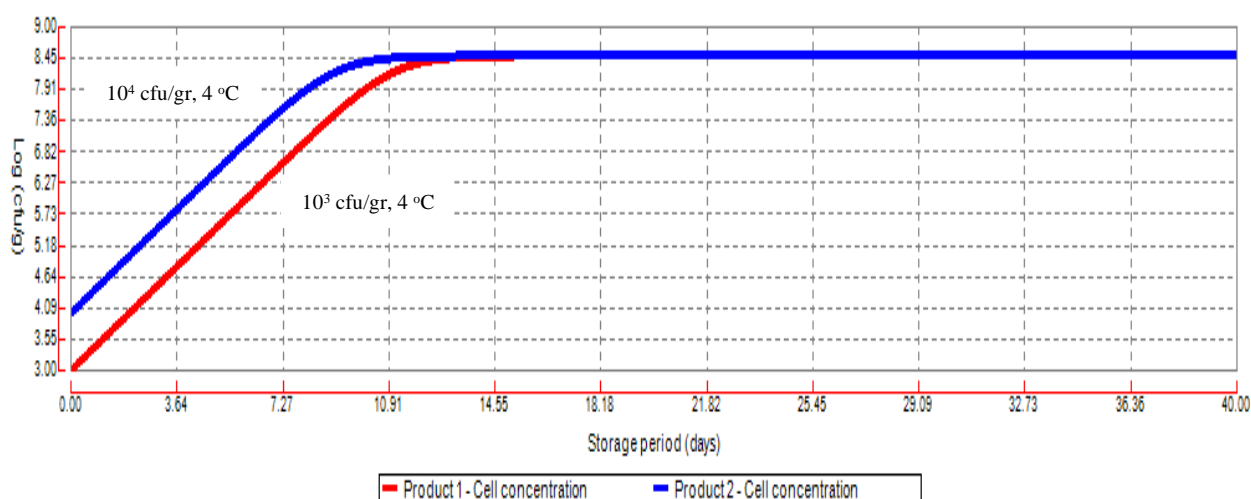
5.3. Συνθήκες ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

5.3.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός Lactic Acid Bacteria (LAB)

Πίνακας 5.18: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1000 cfu/gr	10.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4°C	4°C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.12: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (Lactic Acid Bacteria (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.



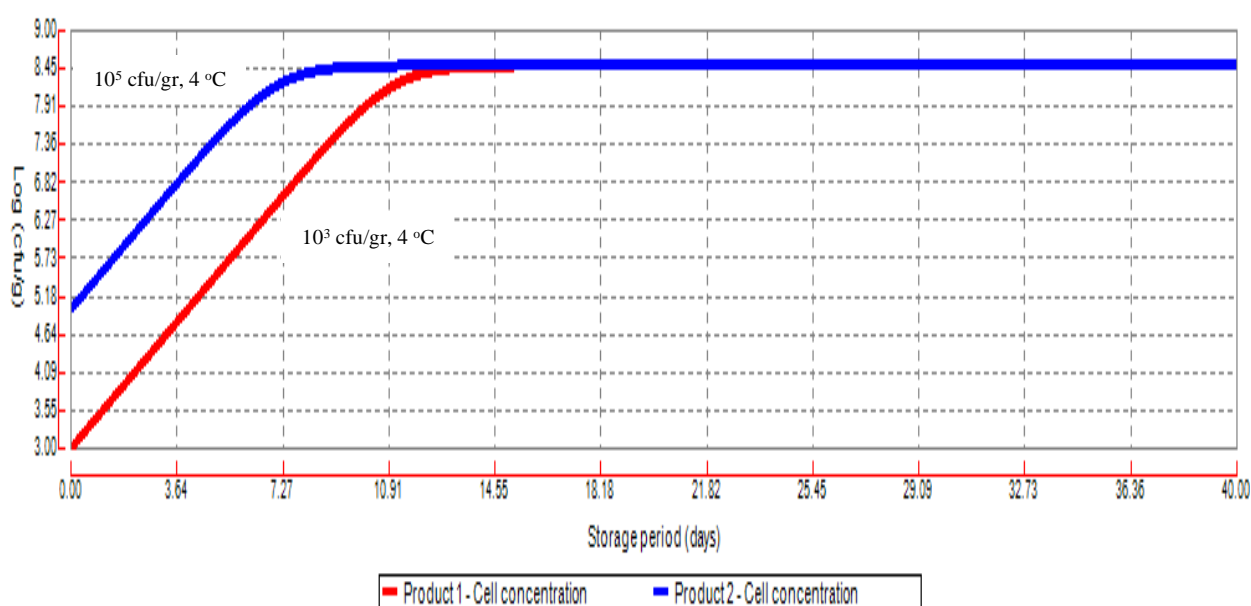
Πίνακας 5.19: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0479	0,0479
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2442	0,2442
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αυξηθούν 100-fold (d)	4,01 ημέρες	4,01 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	8,04 ημέρες	6,04 ημέρες

Πίνακας 5.20: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	4 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.13: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (Lactic Acid Bacteria (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.



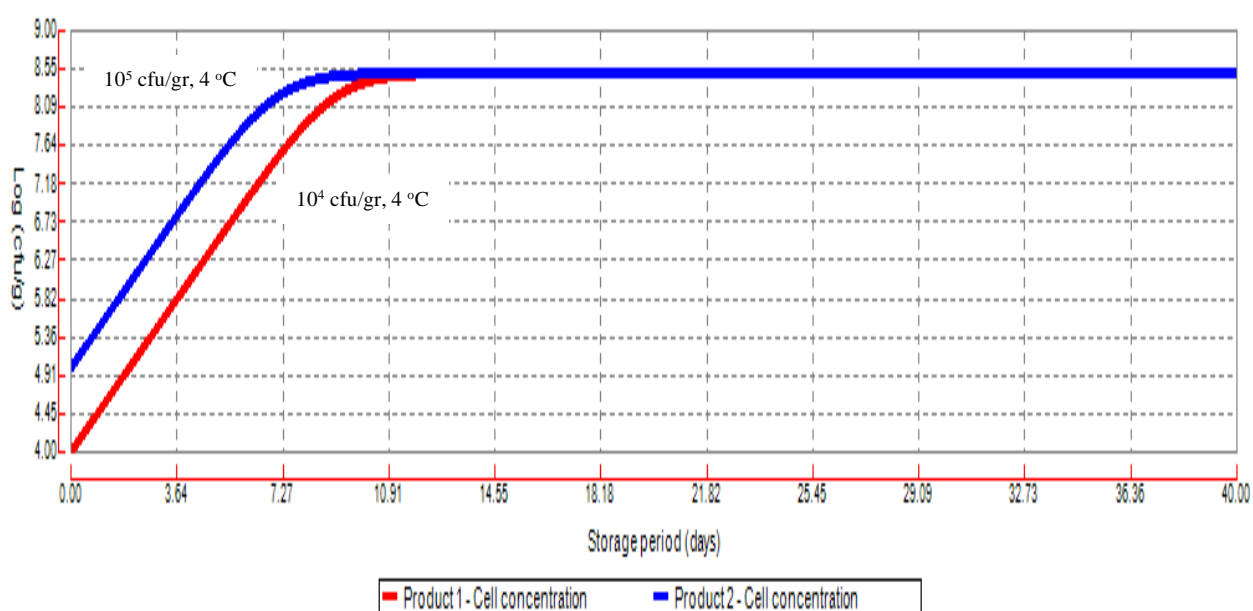
Πίνακας 5.21: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0479	0,0479
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2442	0,2442
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	4,01 ημέρες	4,03 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	8,04 ημέρες	4,03 ημέρες

Πίνακας 5.22: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	10.000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	4 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.14: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (Lactic Acid Bacteria (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.



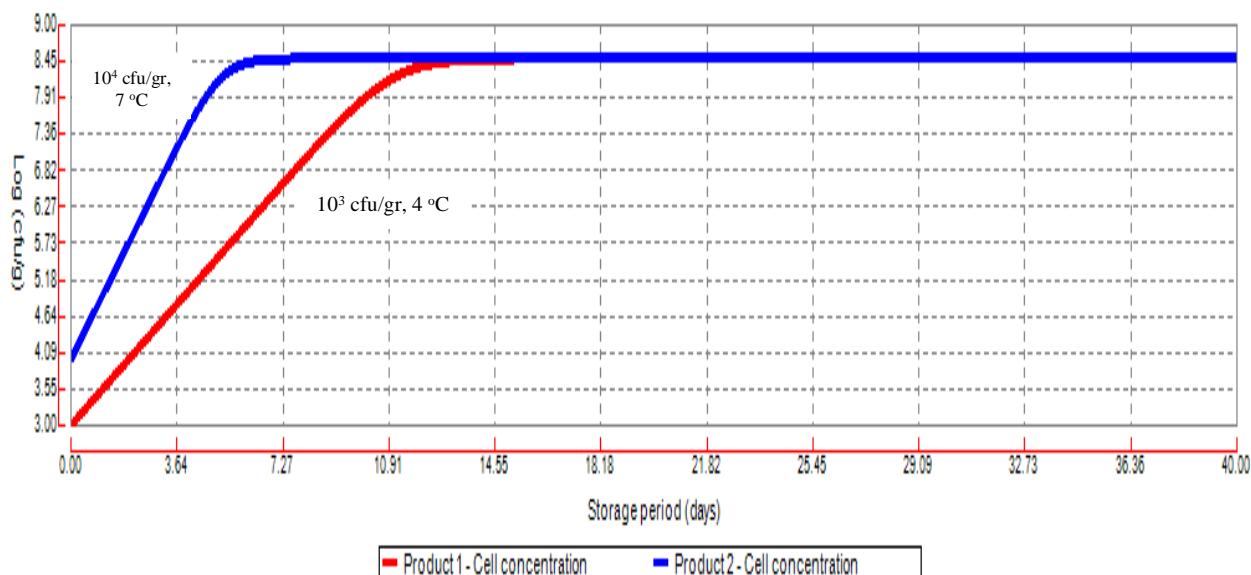
Πίνακας 5.23: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0479	0,0479
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2442	0,2442
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αυξηθούν 100-fold (d)	4,01 ημέρες	4,03 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	6,04 ημέρες	4,03 ημέρες

Πίνακας 5.24: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1000 cfu/gr	10.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	7 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.15: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (Lactic Acid Bacteria (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



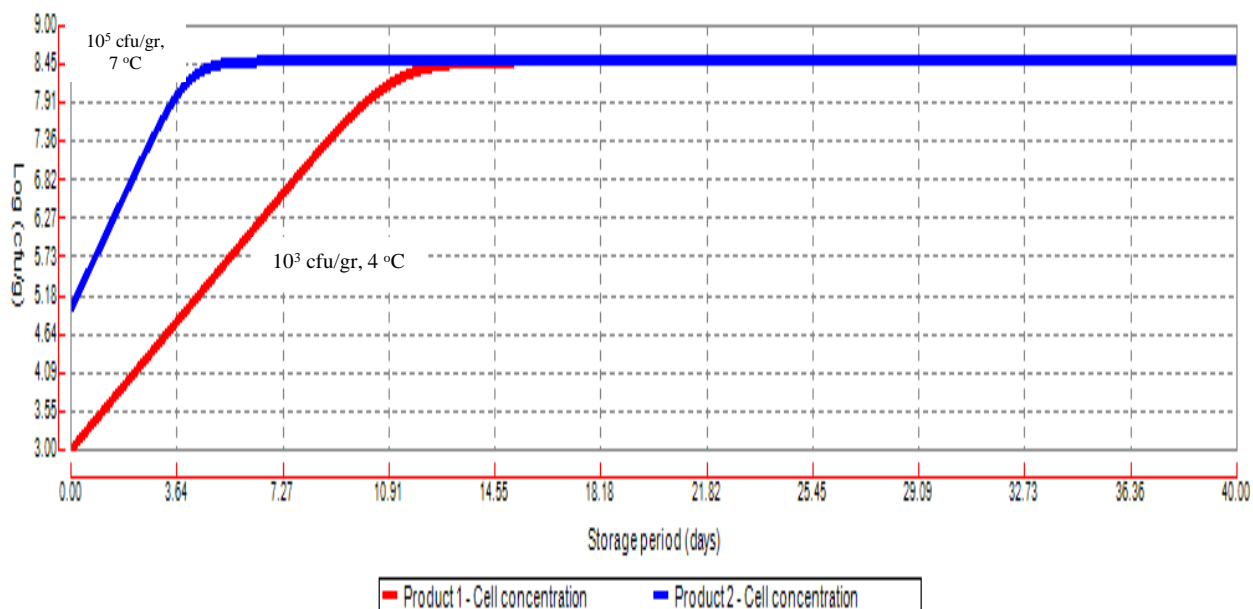
Πίνακας 5.25: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0479	0,084
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2442	0,1796
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	4,01 ημέρες	2,29 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	8,04 ημέρες	3,44 ημέρες

Πίνακας 5.26: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	1000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	7 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.16: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (Lactic Acid Bacteria (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



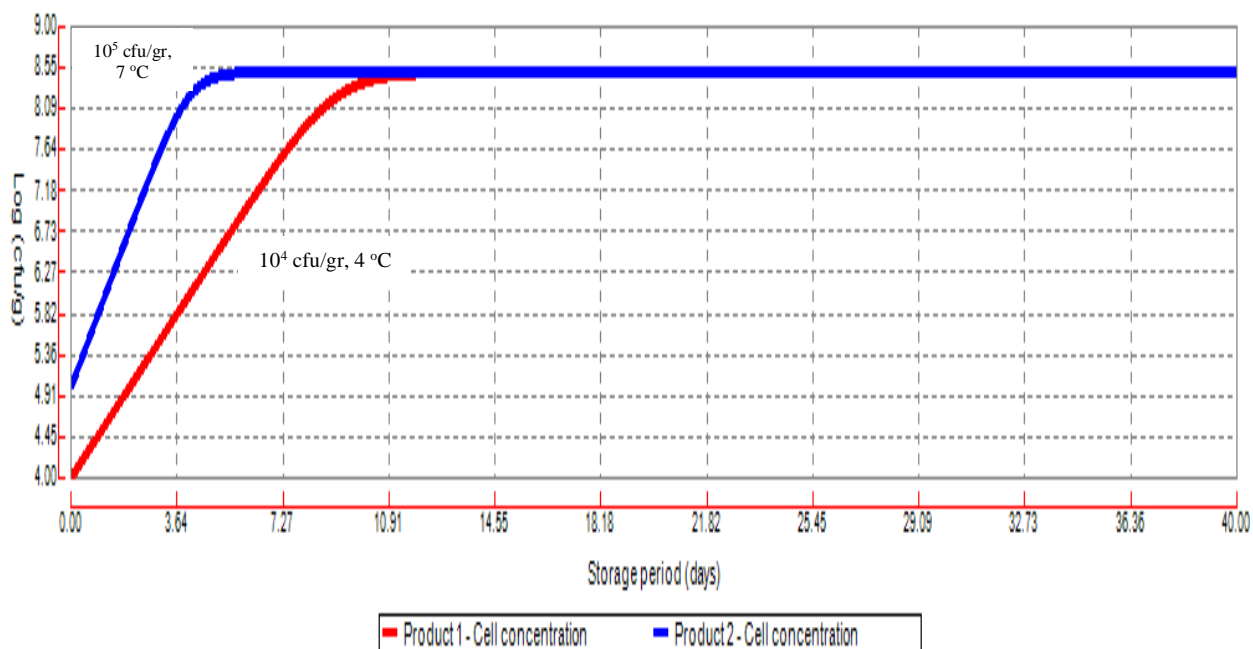
Πίνακας 5.27: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0479	0,084
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2442	0,1796
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	4,01 ημέρες	2,3 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	8,04 ημέρες	2,3 ημέρες

Πίνακας 5.28: Χαρακτηριστικά Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) σε δύο προϊόντα με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών (cfu/gr)	10.000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	4 °C	7 °C
NaCl %	1,2	1,2
pH	5,8	5,8

Σχήμα 5.17: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (Lactic Acid Bacteria (LAB)) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.29: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινη καμπύλη)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλη)
Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0479	0,084
Psi (growth boundary parameter) (Ψ)	0,2442	0,1796
Lag time (d)	0	0
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αυξηθούν 100-fold (d)	4,01 ημέρες	2,3 ημέρες
Μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως όπου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων (d)	6,04 ημέρες	2,3 ημέρες

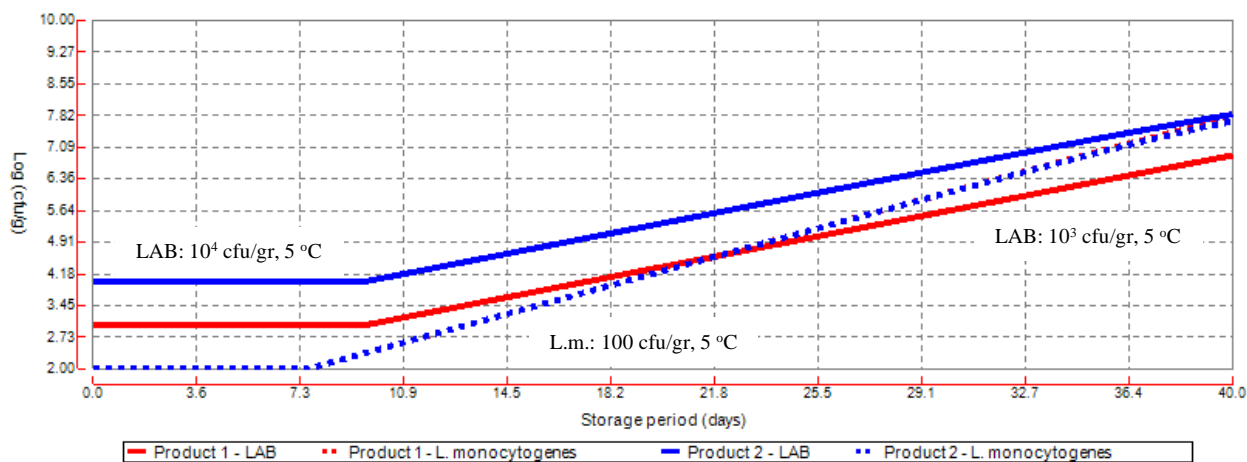
5.4. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

5.4.1. *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2

Πίνακας 5.30: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών <i>Listeria monocytogenes</i> (cfu/gr)	100 cfu/gr	100 cfu/gr
Αρχικός πληθυσμός αποικιών Lactic Acid Bacteria (LAB) (cfu/gr)	1000 cfu/gr	10.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	5 °C	5 °C
NaCl %	1,11	1,11
pH	5,2	5,2

Σχήμα 5.18: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.



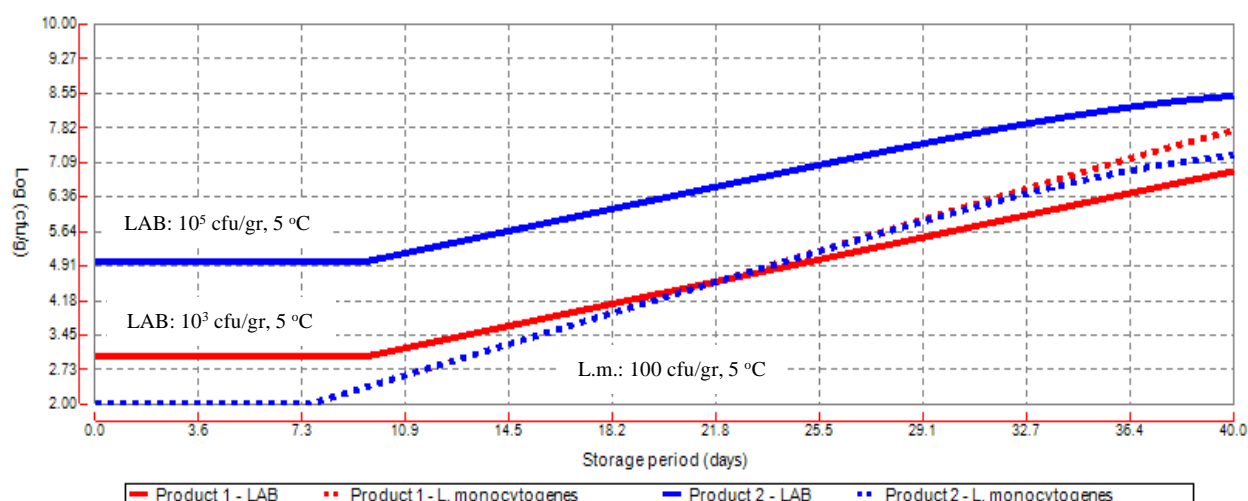
Πίνακας 5.31: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
<i>Listeria monocytogenes</i> - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0173	0,0173
<i>Listeria monocytogenes</i> - Lag phase (d)	7,52 ημέρες	7,52 ημέρες
<i>Listeria monocytogenes</i> - Χρόνος έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	18,62 ημέρες	18,62 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0123	0,0123
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Lag phase (d)	9,49 ημέρες	9,49 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Χρόνος έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr (d)	Πάνω από 40 ημέρες	Πάνω από 40 ημέρες

Πίνακας 5.32: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών <i>Listeria monocytogenes</i> (cfu/gr)	100 cfu/gr	100 cfu/gr
Αρχικός πληθυσμός αποικιών Lactic Acid Bacteria (LAB) (cfu/gr)	1000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	5 °C	5 °C
NaCl %	1,11	1,11
pH	5,2	5,2

Σχήμα 5.19: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.



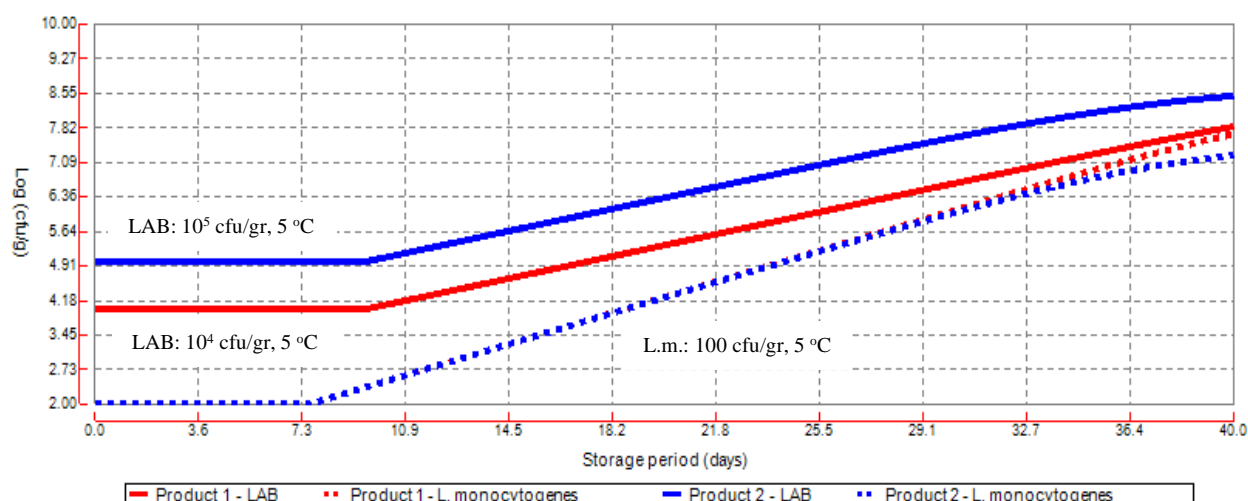
Πίνακας 5.33: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
<i>Listeria monocytogenes</i> - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0173	0,0173
<i>Listeria monocytogenes</i> - Lag phase (d)	7,52 ημέρες	7,52 ημέρες
<i>Listeria monocytogenes</i> - Χρόνος έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	18,62 ημέρες	18,62 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0123	0,0123
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Lag phase (d)	9,49 ημέρες	9,49 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Χρόνος έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr (d)	Πάνω από 40 ημέρες	33,64 ημέρες

Πίνακας 5.34: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών <i>Listeria monocytogenes</i> (cfu/gr)	100 cfu/gr	100 cfu/gr
Αρχικός πληθυσμός αποικιών Lactic Acid Bacteria (LAB) (cfu/gr)	10.000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	5 °C	5 °C
NaCl %	1,11	1,11
pH	5,2	5,2

Σχήμα 5.20: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.



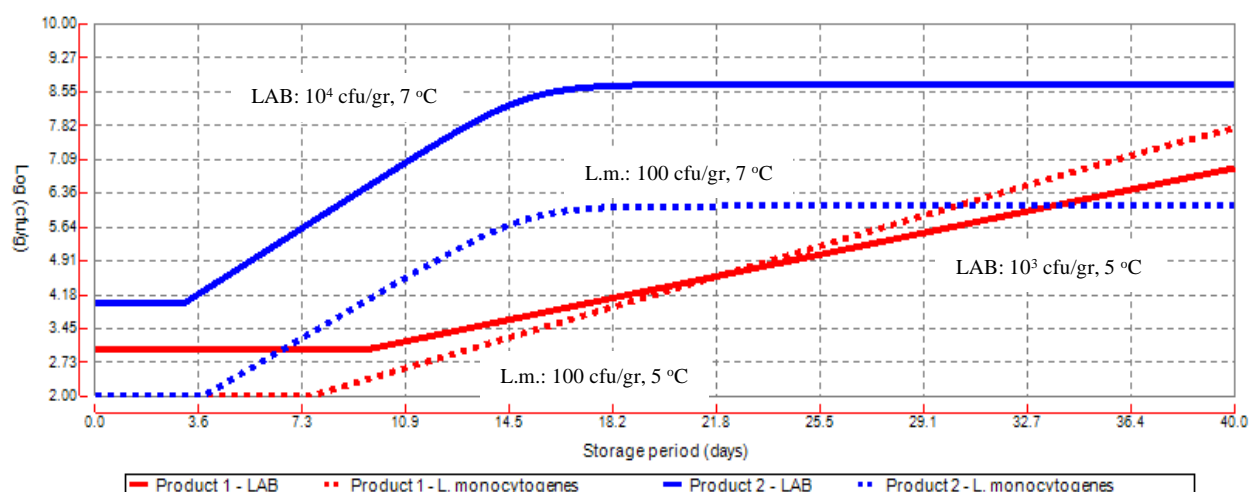
Πίνακας 5.35: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
<i>Listeria monocytogenes</i> - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0173	0,0173
<i>Listeria monocytogenes</i> - Lag phase (d)	7,52 ημέρες	7,52 ημέρες
<i>Listeria monocytogenes</i> - Χρόνος έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	18,62 ημέρες	18,62 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0123	0,0123
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Lag phase (d)	9,49 ημέρες	9,49 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Χρόνος έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr (d)	Πάνω από 40 ημέρες	33,64 ημέρες

Πίνακας 5.36: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών <i>Listeria monocytogenes</i> (cfu/gr)	100 cfu/gr	100 cfu/gr
Αρχικός πληθυσμός αποικιών Lactic Acid Bacteria (LAB) (cfu/gr)	1000 cfu/gr	10.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	5 °C	7 °C
NaCl %	1,11	1,11
pH	5,2	5,2

Σχήμα 5.21: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



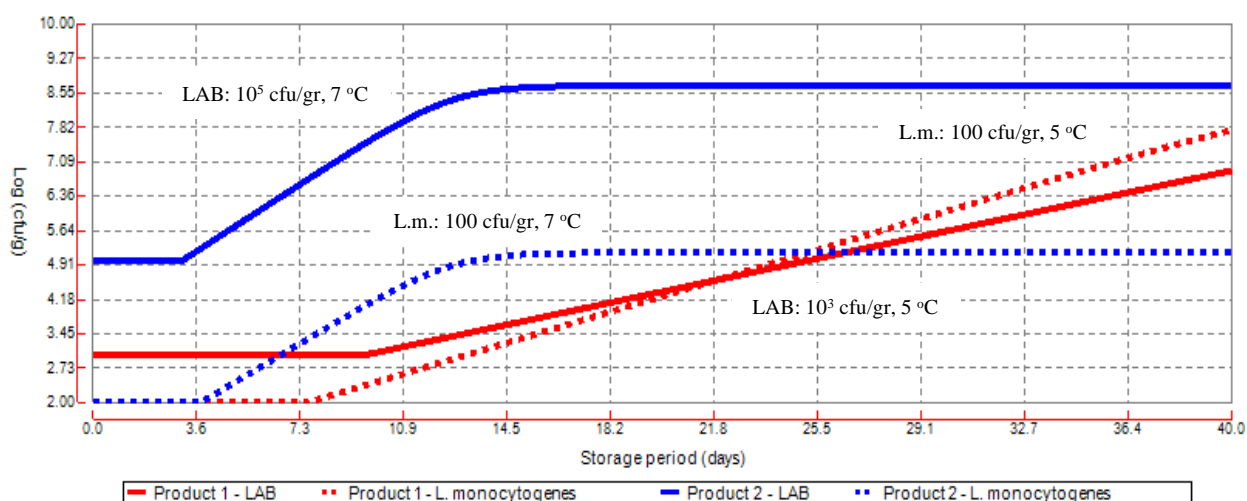
Πίνακας 5.37: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
<i>Listeria monocytogenes</i> - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0173	0,0344
<i>Listeria monocytogenes</i> - Lag phase (d)	7,52 ημέρες	3,78 ημέρες
<i>Listeria monocytogenes</i> - Χρόνος έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	18,62 ημέρες	9,36 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0123	0,0374
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Lag phase (d)	9,49 ημέρες	3,12 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Χρόνος έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr (d)	Πάνω από 40 ημέρες	13,63 ημέρες

Πίνακας 5.38: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών <i>Listeria monocytogenes</i> (cfu/gr)	100 cfu/gr	100 cfu/gr
Αρχικός πληθυσμός αποικιών Lactic Acid Bacteria (LAB) (cfu/gr)	1000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	5 °C	7 °C
NaCl %	1,11	1,11
pH	5,2	5,2

Σχήμα 5.22: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



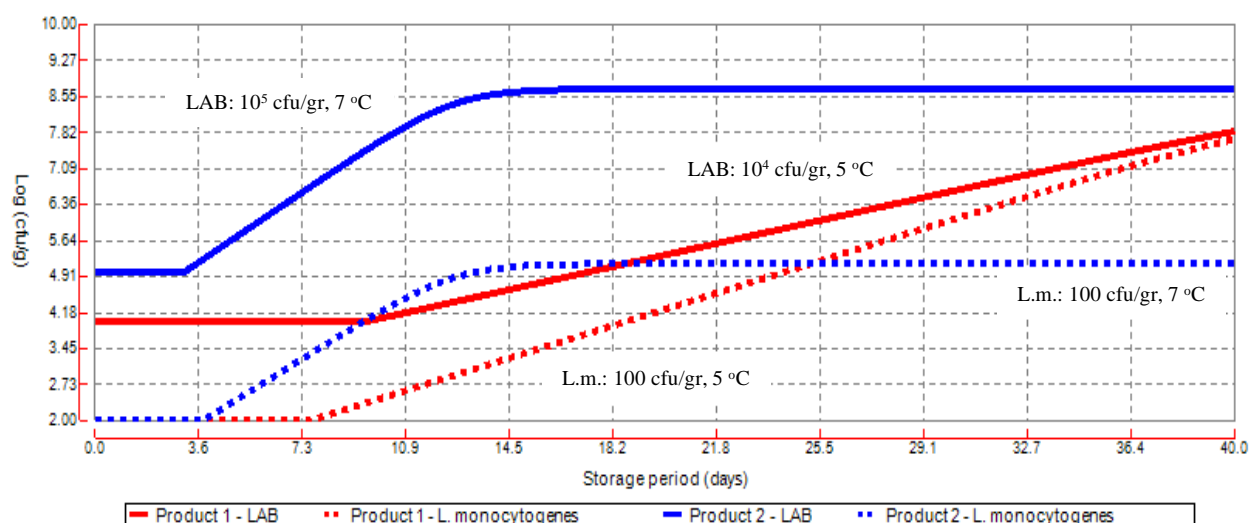
Πίνακας 5.39: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
<i>Listeria monocytogenes</i> - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0173	0,0344
<i>Listeria monocytogenes</i> - Lag phase (d)	7,52 ημέρες	3,78 ημέρες
<i>Listeria monocytogenes</i> - Χρόνος έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	18,62 ημέρες	9,41 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0123	0,0374
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Lag phase (d)	9,49 ημέρες	3,12 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Χρόνος έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr (d)	Πάνω από 40 ημέρες	11,07 ημέρες

Πίνακας 5.40: Χαρακτηριστικά Τυριού Cottage σε δύο προϊόντα με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Χαρακτηριστικά Προϊόντος	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
Αρχικός πληθυσμός αποικιών <i>Listeria monocytogenes</i> (cfu/gr)	100 cfu/gr	100 cfu/gr
Αρχικός πληθυσμός αποικιών Lactic Acid Bacteria (LAB) (cfu/gr)	10.000 cfu/gr	100.000 cfu/gr
Θερμοκρασία (°C)	5 °C	7 °C
NaCl %	1,11	1,11
pH	5,2	5,2

Σχήμα 5.23: Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.



Πίνακας 5.41: Αποτελέσματα μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με διαφορετικούς αρχικούς πληθυσμούς *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα.

Αποτελέσματα FSSP	Προϊόν 1 (κόκκινες καμπύλες)	Προϊόν 2 (μπλε καμπύλες)
<i>Listeria monocytogenes</i> - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0173	0,0344
<i>Listeria monocytogenes</i> - Lag phase (d)	7,52 ημέρες	3,78 ημέρες
<i>Listeria monocytogenes</i> - Χρόνος έως ότου αυξηθούν 100-fold (d)	18,62 ημέρες	9,41 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Ρυθμός ανάπτυξης μ_{max} (1/h)	0,0123	0,0374
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Lag phase (d)	9,49 ημέρες	3,12 ημέρες
Lactic Acid Bacteria (LAB) - Χρόνος έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr (d)	Πάνω από 40 ημέρες	11,07 ημέρες

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΠΡΟΟΡΑΤΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΗΣ *LISTERIA MONOCYTOGENES* ΚΑΙ ΤΩΝ ΟΞΥΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ
ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ (LAB) ΣΕ ΟΥΔΕΤΕΡΟ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΚΑΙ ΣΕ ΤΥΡΙΑ**

6.1. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (ComBase Predictor):

6.1.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Broth Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός *Listeria monocytogenes*

6.1.1.1. Μοντέλο ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε 4 °C και 20 °C

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος ComBase Predictor συγκρίνονται δύο ίδιοι αρχικοί πληθυσμοί (cfu/gr) της *Listeria monocytogenes* που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 20 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τις θερμοκρασίες συντήρησης των 4 και 20 °C έδωσαν δύο διαφορετικές τυπικές σιγμοειδείς καμπύλες ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση των 4 °C, η καμπύλη σχεδόν δεν είχε κλίση με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με την καμπύλη των 20 °C, που είχε μια εκθετική αύξηση σε πολύ λιγότερο χρόνο και με πολύ μεγαλύτερη κλίση. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το \log_{10} CFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Επομένως, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C είχε πολύ μεγάλη αύξηση, σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, ενώ στους 4 °C αναπτύχθηκε ελάχιστα. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 40 ωρών ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max \log_{10} cfu/gr), ενώ ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 4 °C δεν κατάφερε να φτάσει.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Στους 4 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.013, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 23.819 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 130.29. Η φάση προσαρμογής προηγείται της εκθετικής (λογαριθμικής) φάσης, που είναι ουσιαστικά και η περίοδος που αυξάνεται η συγκέντρωση των \log_{10} cfu/gr του πληθυσμού. Ενώ, στους 20 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.167, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 1.806 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 10.14. Όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του

μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός.

Συνεπώς, είναι δεδομένο και αριθμητικά ότι η *Listeria monocytogenes* αναπτύσσεται με μεγαλύτερη ταχύτητα και αποκτά πολύ ταχύτερα μεγαλύτερη συγκέντρωση cfu/gr στους 20 °C, έναντι των 4 °C.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του.

6.1.1.2. Μοντέλο ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε 7 °C και 20 °C

Όσον αφορά τις συνθήκες υποστρώματος (Μυζήθρα, NaCl: 1,20%, pH= 5,8) και περιβάλλοντος (εξωτερικού), ισχύουν τα ίδια με παραπάνω. Στην προκειμένη περίπτωση συγκρίνονται δύο ίδιοι αρχικοί πληθυσμοί (cfu/gr) της *Listeria monocytogenes* που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 7 και 20 °C.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τις θερμοκρασίες συντήρησης των 7 και 20 °C έδωσαν δύο διαφορετικές τυπικές σιγμοειδείς καμπύλες ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση των 7 °C, η καμπύλη είχε μικρότερη κλίση με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με την καμπύλη των 20 °C, που είχε μια εκθετική αύξηση σε πολύ λιγότερο χρόνο και με πολύ μεγαλύτερη κλίση. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το \log_{10} CFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Επομένως, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C είχε πολύ μεγάλη αύξηση, σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, ενώ στους 7 °C αναπτύχθηκε λιγότερο και σε περισσότερο χρόνο. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 40 ωρών ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max \log_{10} cfu/gr), ενώ ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 7 °C δεν κατάφερε να φτάσει.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Στους 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.023, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 12.902 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 73.64. Ενώ, στους 20 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.167, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 1.806 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 10.14. Όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός.

Συνεπώς, είναι δεδομένο και αριθμητικά ότι η *Listeria monocytogenes* αναπτύσσεται με μεγαλύτερη ταχύτητα και αποκτά πολύ ταχύτερα μεγαλύτερη συγκέντρωση cfu/gr στους 20 °C, έναντι των 7 °C.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του.

6.1.1.3. Μοντέλο ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε 10 °C και 20 °C

Όσον αφορά τις συνθήκες υποστρώματος (Μυζήθρα, NaCl: 1,20%, pH= 5,8) και περιβάλλοντος (εξωτερικού), ισχύουν τα ίδια με παραπάνω. Στην προκειμένη περίπτωση συγκρίνονται δύο ίδιοι αρχικοί πληθυσμοί (cfu/gr) της *Listeria monocytogenes* που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 10 και 20 °C.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τις θερμοκρασίες συντήρησης των 10 και 20 °C έδωσαν δύο διαφορετικές τυπικές σιγμοειδείς καμπύλες ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση των 10 °C, η καμπύλη είχε μικρότερη κλίση με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με την καμπύλη των 20 °C, που είχε μια εκθετική αύξηση σε πολύ λιγότερο χρόνο και με πολύ μεγαλύτερη κλίση. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το \log_{10} CFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Επομένως, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C είχε πολύ μεγάλη αύξηση, σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, ενώ στους 10 °C χρειάστηκε περισσότερο χρόνο για να αποκτήσει τον ίδιο αριθμό \log_{10} CFU/g. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 40 ωρών ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max \log_{10} cfu/gr), ενώ ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 10 °C έφτασε περίπου στις 180 ώρες.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Στους 10 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.041, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 7.418 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 41.31. Ενώ, στους 20 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.167, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 1.806 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 10.14. Όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός.

Συνεπώς, είναι δεδομένο και αριθμητικά ότι η *Listeria monocytogenes* αναπτύσσεται με μεγαλύτερη ταχύτητα και αποκτά ταχύτερα μεγαλύτερη συγκέντρωση cfu/gr στους 20 °C, έναντι των 10 °C.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του.

6.1.1.4. Μοντέλο ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε 15 °C και 20 °C

Όσον αφορά τις συνθήκες υποστρώματος (Μυζήθρα, NaCl: 1,20%, pH= 5,8) και περιβάλλοντος (εξωτερικού), ισχύουν τα ίδια με παραπάνω. Στην προκειμένη περίπτωση συγκρίνονται δύο ίδιοι αρχικοί πληθυσμοί (cfu/gr) της *Listeria monocytogenes* που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 15 και 20 °C.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τις θερμοκρασίες συντήρησης των 15 και 20 °C έδωσαν δύο διαφορετικές τυπικές σιγμοειδείς καμπύλες ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση των 15 °C, η καμπύλη είχε μικρότερη κλίση με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με την καμπύλη των 20 °C, που είχε μια εκθετική αύξηση σε λιγότερο χρόνο και με λίγο μεγαλύτερη κλίση. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Επομένως, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C είχε πολύ μεγάλη αύξηση, σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, αλλά και στους 15 °C απέκτησε τον ίδιο αριθμό logCFU/g εξίσου γρήγορα, με ελάχιστη καθυστέρηση. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 40 ωρών ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr), ενώ ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 15 °C έφτασε περίπου στις 75 ώρες.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Στους 15 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.089, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 3.369 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 19.03. Και στους 20 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (max. rate) του πληθυσμού ισούται με 0.167, ο χρόνος διπλασιασμού (ddl. time) ισούται με 1.806 ώρες και ο χρόνος προσαρμογής (lag phase time) ισούται με 10.14. Όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός.

Συνεπώς, είναι δεδομένο και αριθμητικά ότι η *Listeria monocytogenes* αναπτύσσεται με ταχύτητες σχετικά κοντά και αποκτά λίγο πιο γρήγορα μεγαλύτερη συγκέντρωση cfu/gr στους 20 °C, έναντι των 15 °C.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του.

6.1.1.5. Μοντέλο ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε 4, 7, 10 και 20 °C

Όσον αφορά τις συνθήκες υποστρώματος (Μυζήθρα, NaCl: 1,20%, pH= 5,8) και περιβάλλοντος (εξωτερικού), ισχύουν τα ίδια με παραπάνω. Στην προκειμένη περίπτωση συγκρίνονται 4 ίδιοι αρχικοί πληθυσμοί (cfu/gr) της *Listeria monocytogenes* που αναπτύσσονται σε 4 διαφορετικές θερμοκρασίες των 4, 7, 10 και 20 °C.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τις θερμοκρασίες συντήρησης των 4, 7, 10 και 20 °C έδωσαν 4 διαφορετικές τυπικές σιγμοειδείς καμπύλες ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση των 4 °C, η καμπύλη είχε τη μικρότερη κλίση από όλες τις υπόλοιπες καμπύλες, με την πάροδο του χρόνου. Ακολούθησε η κλίση της καμπύλης των 7 °C, η οποία ήταν λίγο μεγαλύτερη από αυτή των 4 °C. Έπειτα, ακολούθησε η κλίση της καμπύλης των 10 °C, η οποία ήταν μεγαλύτερη από αυτή των 7 και 4 °C. Και, τέλος, συγκριτικά με όλες τις προηγούμενες καμπύλες, η καμπύλη των 20 °C, είχε μια εκθετική αύξηση σε λιγότερο χρόνο και με μεγαλύτερη κλίση. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το log₁₀CFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Επομένως, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C είχε τη μεγαλύτερη αύξηση, στο μικρότερο χρονικό διάστημα, ενώ στις υπόλοιπες θερμοκρασίες ο χρόνος που χρειάστηκε για να αποκτήσουν τον ίδιο αριθμό log₁₀CFU/g ήταν με μεγαλύτερη καθυστέρηση.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των 4 πληθυσμών, όπως αναφέρθηκαν και αναλυτικά παραπάνω, για κάθε θερμοκρασία ξεχωριστά. Όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός.

Συνεπώς, είναι δεδομένο και αριθμητικά ότι η *Listeria monocytogenes* αναπτύσσεται ταχύτερα στους 20 °C, ακολουθούν οι 10, έπειτα οι 7 και τέλος οι 4 °C.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του.

6.2. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

6.2.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός *Listeria monocytogenes*

6.2.1.1. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί του 1 cfu/gr και των 10 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, που αναπτύσσονται σε δύο ίδιες θερμοκρασίες των 4 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς του 1 cfu/gr και των 10 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 4 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση του 1 cfu/gr, η καμπύλη είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 10 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 4$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το $\log_{10}CFU/g$, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 10 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος του 1 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης ($\max \log_{10}cfu/gr$). Το $\max \log_{10}cfu/gr$ είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 4 °C, ισχύει

ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0196, το Psi (growth boundary parameter) και των δύο ισούται με 0.2963 και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 9.8 ημέρες. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών. Επομένως, για το 1 cfu/gr χρειάζονται 34.38, ενώ για τα 10 cfu/gr χρειάζονται 29.48 ημέρες. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο.

6.2.1.2. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί του 1 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, που αναπτύσσονται σε δύο ίδιες θερμοκρασίες των 4 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς του 1 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 4 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση του 1 cfu/gr, η καμπύλη είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 100 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 4$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το $\log CFU/g$, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι

αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100 cfu/gr, ο οποίος είναι εκατονταπλάσιος του 1 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 4 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0196, το Psi (growth boundary parameter) και των δύο ισούται με 0.2963 και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 9.8 ημέρες. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών. Επομένως, για το 1 cfu/gr χρειάζονται 34.38, ενώ για τα 100 cfu/gr χρειάζονται 24.57 ημέρες. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο.

6.2.1.3. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 10 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, που αναπτύσσονται σε δύο ίδιες θερμοκρασίες των 4 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας

(νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 10 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 4 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 10 cfu/gr, η καμπύλη είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 100 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 4$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 10 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 4 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0196, το Psi (growth boundary parameter) και των δύο ισούται με 0.2963 και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 9.8 ημέρες. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών. Επομένως, για τα 10 cfu/gr χρειάζονται 29.48, ενώ για τα 100 cfu/gr χρειάζονται 24.57 ημέρες. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα

τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο.

6.2.1.4. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 10 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί του 1 cfu/gr και των 10 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς του 1 cfu/gr και των 10 cfu/gr της *Listeria monocytogenes* και των δύο θερμοκρασιών συντήρησης των 4 και 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, η καμπύλη είχε μορφή ευθείας γραμμής και είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με αυτή των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ήταν μικρότερη από την κλίση των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C.

Στην δεύτερη περίπτωση των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, η καμπύλη είχε ταχύτερη εκθετική αύξηση και μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 18 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ήταν μεγαλύτερη από την κλίση του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C.

Η διαφορά των δύο κλίσεων των καμπύλων προκύπτει εξαιτίας των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης ($\theta_1=4$ °C και $\theta_2=7$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της

καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*. Και τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας, αλλά και λόγω της διαφοράς του αρχικού τους πληθυσμού. Στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος έχει και τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0196, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2963, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 9.8 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 34.38 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0405, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2178, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.73 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 14.23 ημέρες.

Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός, στη μεγαλύτερη θερμοκρασία, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, στη μικρότερη θερμοκρασία.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο.

6.2.1.5. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί του 1 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς του 1 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes* και των δύο θερμοκρασιών συντήρησης των 4 και 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, η καμπύλη είχε μορφή ευθείας γραμμής και είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με αυτή των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ήταν μικρότερη από την κλίση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C.

Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, η καμπύλη είχε ταχύτερη εκθετική αύξηση και μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 14 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ήταν μεγαλύτερη από την κλίση του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C.

Η διαφορά των δύο κλίσεων των καμπύλων προκύπτει εξαιτίας των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης ($\theta_1=4$ °C και $\theta_2=7$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, ο οποίος είναι εκατονταπλάσιος του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*. Και τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας, αλλά και λόγω της διαφοράς του αρχικού τους πληθυσμού. Στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην

εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος έχει και τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση του 1 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0196, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2963, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 9.8 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 34.38 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0405, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2178, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.73 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 11.86 ημέρες.

Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός, στη μεγαλύτερη θερμοκρασία, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, στη μικρότερη θερμοκρασία.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο.

6.2.1.6. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης (*Listeria monocytogenes*) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10 cfu/gr προς 100 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 10 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes*, που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 10 cfu/gr και των 100 cfu/gr της *Listeria monocytogenes* και των δύο θερμοκρασιών συντήρησης των 4 και 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, η καμπύλη είχε μορφή ευθείας γραμμής και είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με αυτή των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 36 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ήταν μικρότερη από την κλίση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C.

Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, η καμπύλη είχε ταχύτερη εκθετική αύξηση και μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 14 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ήταν μεγαλύτερη από την κλίση των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C.

Η διαφορά των δύο κλίσεων των καμπύλων προκύπτει εξαιτίας των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης ($\theta_1=4\text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2=7\text{ }^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*. Και τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας, αλλά και λόγω της διαφοράς του αρχικού τους πληθυσμού. Στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος έχει και τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 10 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0196, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2963, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 9.8 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 29.48 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max})

του πληθυσμού ισούται με 0.0405, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2178, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.73 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 11.86 ημέρες.

Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός, στη μεγαλύτερη θερμοκρασία, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, στη μικρότερη θερμοκρασία.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο.

6.3. Συνθήκες ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

6.3.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός Lactic Acid Bacteria (LAB)

6.3.1.1. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 1000 cfu/gr και των 10.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), που αναπτύσσονται σε δύο ίδιες θερμοκρασίες των 4 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 1000 cfu/gr και των 10.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 4 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr, η καμπύλη είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 10.000 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Τα 1000 cfu/gr κατάφεραν να φτάσουν στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr) μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 11 ημερών, ενώ τα 10.000 cfu/gr έφτασαν περίπου στις 9 ημέρες. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 4$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 10.000 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 1000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 4 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0479, το Psi (growth boundary

parameter) και των δύο ισούται με 0.2442 και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 4.01 ημέρες. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών. Επομένως, για τα 1000 cfu/gr χρειάζονται 8.04, ενώ για τα 10.000 cfu/gr χρειάζονται 6.04 ημέρες. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι υπεύθυνα για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, το οποίο αποτελεί βασικό συστατικό ζύμωσης και, κατά συνέπεια, μείωσης του pH των τροφίμων. Επομένως, το γαλακτικό οξύ αποτελεί ένα φυσικό συντηρητικό για το τρόφιμο, στο οποίο προσδίδει και επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Τα περισσότερα προϊόντα ζύμωσης προέρχονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Η πτώση του pH στο τρόφιμο έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση ανάπτυξης ποικίλων παθογόνων μικροοργανισμών. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τόσο μεγαλύτερη είναι και η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, το οποίο είναι και το επιθυμητό αποτέλεσμα για την προστασία και την μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τροφίμου. Οι περισσότερες διαδικασίες ζύμωσης είναι αναερόβιες, γεγονός που δυσκολεύει ακόμα περισσότερο την ανάπτυξη πολλών μικροοργανισμών σε τέτοιο υπόστρωμα. Τέλος, οι υπερβολικά υψηλοί αρχικοί πληθυσμοί των LAB μπορούν να επηρεάσουν και αρνητικά το τρόφιμο, καθώς μπορεί να το υποβαθμίσουν ποιοτικά.

Το γαλακτικό οξύ δεν παράγεται ή παράγεται με πολύ αργούς ρυθμούς σε θερμοκρασίες μικρότερες των 20 °C. Οι ιδανικότερες συνθήκες παραγωγής γαλακτικού οξέος από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι οι θερμοκρασίες μεταξύ των 10 και 42 °C, με optimum εύρος ανάπτυξης μεταξύ των 20 και 35 °C. Υπάρχουν και είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, κυρίως σε υποστρώματα ψαριών και κρεάτων, τα οποία αποθηκεύονται σε αυτές τις χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης.

6.3.1.2. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 1000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), που αναπτύσσονται σε δύο ίδιες θερμοκρασίες των 4 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 1000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 4 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr, η καμπύλη είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 100.000 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη με πολύ μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Τα 1000 cfu/gr κατάφεραν να φτάσουν στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr) μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 11 ημερών, ενώ τα 100.000 cfu/gr έφτασαν περίπου στις 7 ημέρες. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 4$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr, ο οποίος είναι εκατονταπλάσιος των 1000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 4 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0479, το Psi (growth boundary parameter) και των δύο ισούται με 0.2442 και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.01 ημέρες για τα 1000 cfu/gr και με 4.03 ημέρες για τα 100.000 cfu/gr. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών. Επομένως, για τα 1000 cfu/gr χρειάζονται 8.04, ενώ για τα 100.000 cfu/gr χρειάζονται 4.03 ημέρες. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο.

6.3.1.3. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 10.000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), που αναπτύσσονται σε δύο ίδιες θερμοκρασίες των 4 °C. Οι

συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 10.000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 4 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 10.000 cfu/gr, η καμπύλη είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 100.000 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Τα 10.000 cfu/gr κατάφεραν να φτάσουν στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr) μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 9 ημερών, ενώ τα 100.000 cfu/gr έφτασαν περίπου στις 7 ημέρες. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 4$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 10.000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 4 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0479, το Psi (growth boundary parameter) και των δύο ισούται με 0.2442 και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.01 ημέρες για τα 10.000 cfu/gr και με 4.03 ημέρες για τα 100.000 cfu/gr. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών. Επομένως, για τα 10.000 cfu/gr χρειάζονται 6.04, ενώ για τα 100.000 cfu/gr χρειάζονται 4.03 ημέρες. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο.

6.3.1.4. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 10.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 1000 cfu/gr και των 10.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 1000 cfu/gr και των 10.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) και των δύο θερμοκρασιών συντήρησης των 4 και 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, η καμπύλη είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με αυτή των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 11 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ήταν μικρότερη από την κλίση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C.

Στην δεύτερη περίπτωση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, η καμπύλη είχε ταχύτερη εκθετική αύξηση και μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 5 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ήταν μεγαλύτερη από την κλίση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C.

Η διαφορά των δύο κλίσεων των καμπύλων προκύπτει εξαιτίας των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης ($\theta_1=4\text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2=7\text{ }^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Και τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας, αλλά και λόγω της διαφοράς του αρχικού τους πληθυσμού. Στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος έχει και τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0479, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2442, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.01 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 8.04 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.084, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.1796, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 2.29 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 3.44 ημέρες.

Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός, στη μεγαλύτερη θερμοκρασία, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, στη μικρότερη θερμοκρασία.

6.3.1.5. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (1000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 1000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 1000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) και των δύο θερμοκρασιών συντήρησης των 4 και 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, η καμπύλη είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με αυτή των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 11 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης ($\max \log_{cfu/gr}$). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ήταν μικρότερη από την κλίση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C.

Στην δεύτερη περίπτωση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C, η καμπύλη είχε ταχύτερη εκθετική αύξηση και μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 4 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C ήταν μεγαλύτερη από την κλίση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4°C.

Η διαφορά των δύο κλίσεων των καμπύλων προκύπτει εξαιτίας των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης ($\theta_1=4^\circ\text{C}$ και $\theta_2=7^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C, ο οποίος είναι εκατονταπλάσιος των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4°C, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Και τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας, αλλά και λόγω της διαφοράς του αρχικού τους πληθυσμού. Στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος έχει και τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0479, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2442, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.01 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 8.04 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.084, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.1796, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 2.3 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 2.3 ημέρες.

Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός, στη μεγαλύτερη θερμοκρασία, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, στη μικρότερη θερμοκρασία.

6.3.1.6. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με διαφορετικό αρχικό πληθυσμό (10.000 cfu/gr προς 100.000 cfu/gr) και με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 4 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί των 10.000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), που αναπτύσσονται σε δύο διαφορετικές θερμοκρασίες των 4 και 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι δύο πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Μυζήθρας (νωπής και ξηρής) με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 10.000 cfu/gr και των 100.000 cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) και των δύο θερμοκρασιών συντήρησης των 4 και 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης.

Στην πρώτη περίπτωση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, η καμπύλη είχε πολύ μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με αυτή των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 9 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ήταν μικρότερη από την κλίση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C.

Στην δεύτερη περίπτωση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, η καμπύλη είχε ταχύτερη εκθετική αύξηση και μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης περίπου των 4 ημερών κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Τέλος, η κλίση της καμπύλης των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ήταν μεγαλύτερη από την κλίση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C.

Η διαφορά των δύο κλίσεων των καμπύλων προκύπτει εξαιτίας των δύο διαφορετικών θερμοκρασιών αποθήκευσης ($\theta_1=4\text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2=7\text{ }^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και έφτασε ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Το max logcfu/gr είναι ίσο αριθμητικά και για τις δύο καμπύλες, καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Και τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας, αλλά και λόγω της διαφοράς του αρχικού τους πληθυσμού. Στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος έχει και τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 4 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0479, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.2442, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 4.01 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 6.04 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.084, το Psi (growth boundary parameter) ισούται με 0.1796, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 2.3 ημέρες και, τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, ισούται με 2.3 ημέρες.

Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, καθώς επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία. Αυτό επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός, στη μεγαλύτερη θερμοκρασία, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, στη μικρότερη θερμοκρασία.

6.4. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλο Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

6.4.1. *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2

6.4.1.1. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και στο προϊόν 1 και στο προϊόν 2 καταμετρήθηκαν στα 100 cfu/gr. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), στο προϊόν 1 καταμετρήθηκαν στα 1000 cfu/gr και στο προϊόν 2 στα 10.000 cfu/gr. Και οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι 4 πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 100 cfu/gr του προϊόντος 1 και των 100 cfu/gr του προϊόντος 2 της *Listeria monocytogenes*, για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C, έδωσαν δύο ίδιες καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω του ότι και στις δύο περιπτώσεις οι πληθυσμοί έχουν την ίδια συγκέντρωση, 100 cfu/gr, και την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C. Και οι δύο καμπύλες έχουν μορφή ευθείας γραμμής και είναι ταυτόσημες (έχουν την ίδια εξίσωση ευθείας). Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 5$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφεραν και οι δύο πληθυσμοί να φτάσουν στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση και των δύο ξεκινάει την ίδια χρονική στιγμή, με ίδια logCFU/g, λόγω των ίδιων αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών της *Listeria monocytogenes*. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών της *Listeria monocytogenes* ισούται με 0.0173, η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο ισούται με 7.52

ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 18.62 ημέρες.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 1000 cfu/gr του προϊόντος 1 και των 10.000 cfu/gr του προϊόντος 2 των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω της διαφοράς των αρχικών πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr, η καμπύλη είχε μορφή ευθείας γραμμής και είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 10.000 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη ευθείας γραμμής με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 5$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 10.000 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 1000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξ αρχής. Μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφεραν και οι δύο πληθυσμοί να φτάσουν στην κορυφή της καμπύλης (max logcfu/gr). Η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση και των δύο ξεκινάει την ίδια χρονική στιγμή, αλλά με διαφορετικά logCFU/g, λόγω των διαφορετικών αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0123, η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο ισούται με 9.49 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr και των δύο χρειαζόταν πάνω από 40 ημέρες.

Οι καμπύλες των δύο μικροοργανισμών και στα δύο προϊόντα αλληλεξαρτώνται. Δηλαδή, οι καμπύλες του προϊόντος 1, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 1000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν 100 cfu/gr, δείχνουν ότι περίπου στις 22 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* ξεπέρασε τελικά το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενώ στο προϊόν 2, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 10.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν πάλι 100 cfu/gr, το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* δεν κατάφερε να ξεπεράσει το log cfu/gr των

οξυγαλακτικών βακτηρίων εντός των 40 ημερών. Άρα, όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών, τόσο καθυστερεί η ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*.

Τέλος, μπορεί το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* να μην κατάφερε να ξεπεράσει τα log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων μέσα στο χρονικό πλαίσιο των 40 ημερών της συντήρησης του τυριού, αλλά η πορεία των καμπύλων δείχνει ότι κοντά στις 40 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* έχει ανοδική πορεία και τέμνεται με την καμπύλη των 10.000 log cfu/gr οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Είναι εμφανές από τα διαγράμματα και τα αποτελέσματα ότι η *Listeria monocytogenes* και τα οξυγαλακτικά βακτήρια δρουν ανταγωνιστικά μεταξύ τους. Οι πληθυσμοί και των δύο μικροοργανισμών είχαν μικρότερη ανάπτυξη στο υπόστρωμα του τυριού, από την ανάπτυξη που θα είχαν αν απουσίαζε ο ένας από τους δύο μικροοργανισμούς στο ίδιο υπόστρωμα. Αυτό συμβαίνει, διότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια είχαν και στα δύο προϊόντα μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό από τους πληθυσμούς της *Listeria monocytogenes* και, επιπλέον, αναπτύσσονται ταχύτερα. Επιπροσθέτως, αποτελούν φυσική βιοπροστασία του τροφίμου, καθώς παράγουν το γαλακτικό οξύ και προκαλούν αισθητή πτώση του pH, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη άλλων παθογόνων βακτηρίων. Όμως, η *Listeria monocytogenes* δεν αποτελεί ένα από τα βακτήρια που δεν αναπτύσσονται καθόλου σε πολύ χαμηλές τιμές του pH. Αντίθετα, όπως έδειξε και το διάγραμμα, αναπτύχθηκε, αλλά σε λιγότερο βαθμό, λόγω της παρουσίας των οξυγαλακτικών. Επομένως, η διατηρησιμότητα του τυριού και η ασφαλής κατανάλωσή του αυξήθηκε εξαιτίας της παρουσίας των οξυγαλακτικών βακτηρίων και εξαιτίας της ταυτόχρονης παρεμπόδισης της ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes*.

6.4.1.2. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και στο προϊόν 1 και στο προϊόν 2 καταμετρήθηκαν στα 100 cfu/gr. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), στο προϊόν 1 καταμετρήθηκαν στα 1000 cfu/gr και στο προϊόν 2 στα 100.000 cfu/gr. Και οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι 4 πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 100 cfu/gr του προϊόντος 1 και των 100 cfu/gr του προϊόντος 2 της *Listeria monocytogenes*, για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C, έδωσαν δύο παρόμοιες καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό

συνέβη λόγω του ότι και στις δύο περιπτώσεις οι πληθυσμοί έχουν την ίδια συγκέντρωση, 100 cfu/gr, και την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C. Και οι δύο καμπύλες έχουν μορφή ευθείας γραμμής και είναι ταυτόσημες (έχουν την ίδια εξίσωση ευθείας) μέχρι περίπου τις 31 ημέρες. Έπειτα, η καμπύλη του προϊόντος 2 αποκτά μια απόκλιση και κοντά στις 40 ημέρες πλησιάζει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 5$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση και των δύο ξεκινάει την ίδια χρονική στιγμή, με ίδια logCFU/g, λόγω των ίδιων αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών της *Listeria monocytogenes*. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών της *Listeria monocytogenes* ισούται με 0.0173, η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο ισούται με 7.52 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 18.62 ημέρες.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 1000 cfu/gr του προϊόντος 1 και των 100.000 cfu/gr του προϊόντος 2 των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω της μεγάλης διαφοράς των αρχικών πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr, η καμπύλη είχε μορφή ευθείας γραμμής και είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 100.000 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη ευθείας σχεδόν γραμμής με πολύ μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 5$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr, ο οποίος είναι εκατονταπλάσιος των 1000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Αντίθετα, η καμπύλη του προϊόντος 2 κοντά στις 40 ημέρες πλησιάζει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση και των δύο ξεκινάει την ίδια χρονική στιγμή, αλλά με διαφορετικά logCFU/g, λόγω των διαφορετικών αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0123 και η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο ισούται με 9.49 ημέρες. Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr στον αρχικό πληθυσμό των 1000 cfu/gr χρειαζόταν πάνω από 40 ημέρες, ενώ στον αρχικό πληθυσμό των 100.000 cfu/gr χρειαζόταν 33.64 ημέρες.

Οι καμπύλες των δύο μικροοργανισμών και στα δύο προϊόντα αλληλεξαρτώνται. Δηλαδή, οι καμπύλες του προϊόντος 1, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 1000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν 100 cfu/gr, δείχνουν ότι περίπου στις 22 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* ξεπέρασε τελικά το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενώ στο προϊόν 2, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 100.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν πάλι 100 cfu/gr, το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* δεν κατάφερε να ξεπεράσει το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εντός των 40 ημερών, αντίθετα παρέμεινε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα. Άρα, όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών, τόσο καθυστερεί η ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*.

6.4.1.3. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με σταθερή θερμοκρασία συντήρησης 5 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και στο προϊόν 1 και στο προϊόν 2 καταμετρήθηκαν στα 100 cfu/gr. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), στο προϊόν 1 καταμετρήθηκαν στα 10.000 cfu/gr και στο προϊόν 2 στα 100.000 cfu/gr. Και οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι 4 πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 100 cfu/gr του προϊόντος 1 και των 100 cfu/gr του προϊόντος 2 της *Listeria monocytogenes*, για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C, έδωσαν δύο παρόμοιες καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω του ότι και στις δύο περιπτώσεις οι πληθυσμοί έχουν την ίδια συγκέντρωση, 100 cfu/gr, και την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C. Και οι δύο καμπύλες έχουν μορφή ευθείας γραμμής και είναι ταυτόσημες (έχουν την ίδια εξίσωση ευθείας) μέχρι περίπου τις 31 ημέρες. Έπειτα, η καμπύλη του προϊόντος 2 αποκτά μια απόκλιση και κοντά στις 40 ημέρες πλησιάζει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 5$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση και των δύο ξεκινάει την ίδια χρονική στιγμή, με ίδια logCFU/g, λόγω των ίδιων αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών της *Listeria monocytogenes*. Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών της *Listeria monocytogenes* ισούται με 0.0173, η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο ισούται με 7.52 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, και των δύο ισούται με 18.62 ημέρες.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των 10.000 cfu/gr του προϊόντος 1 και των 100.000 cfu/gr του προϊόντος 2 των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), για την ίδια θερμοκρασία συντήρησης των 5 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω της διαφοράς των αρχικών πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Στην πρώτη περίπτωση των 10.000 cfu/gr, η καμπύλη είχε μορφή ευθείας γραμμής και είχε μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με των 100.000 cfu/gr, που είχε μια καμπύλη ευθείας σχεδόν γραμμής με μεγαλύτερο ύψος με την πάροδο του χρόνου. Η κλίση της καμπύλης είναι η ίδια, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι κοινή ($\theta = 5$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 10.000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Αντίθετα, η καμπύλη του προϊόντος 2 κοντά στις 40 ημέρες πλησιάζει στην κορυφή της καμπύλης της (max

logcfu/gr). Η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση και των δύο ξεκινάει την ίδια χρονική στιγμή, αλλά με διαφορετικά logCFU/g, λόγω των διαφορετικών αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα δύο διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό.

Αυτό παρουσιάζεται και στα πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Καθώς μιλάμε για τον ίδιο μικροοργανισμό, στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) και των δύο πληθυσμών ισούται με 0.0123 και η lag phase (φάση προσαρμογής) και των δύο ισούται με 9.49 ημέρες. Το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr στον αρχικό πληθυσμό των 10.000 cfu/gr χρειαζόταν πάνω από 40 ημέρες, ενώ στον αρχικό πληθυσμό των 100.000 cfu/gr χρειαζόταν 33.64 ημέρες.

Οι καμπύλες των δύο μικροοργανισμών και στα δύο προϊόντα αλληλεξαρτώνται. Δηλαδή, οι καμπύλες του προϊόντος 1, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 10.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν 100 cfu/gr, δείχνουν ότι περίπου στις 40 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* πλησίασε τελικά το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενώ στο προϊόν 2, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 100.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν πάλι 100 cfu/gr, το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* δεν κατάφερε να ξεπεράσει το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εντός των 40 ημερών, αντίθετα παρέμεινε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα. Άρα, όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών, τόσο καθυστερεί η ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*.

6.4.1.4. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και στο προϊόν 1 και στο προϊόν 2 καταμετρήθηκαν στα 100 cfu/gr. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), στο προϊόν 1 καταμετρήθηκαν στα 1000 cfu/gr και στο προϊόν 2 στα 10.000 cfu/gr. Στο προϊόν 1 (*L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr) οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στην ίδια

θερμοκρασία των 5 °C, ενώ στο προϊόν 2 (*L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι 4 πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς της *Listeria monocytogenes*, των 100 cfu/gr του προϊόντος 1 με θερμοκρασία συντήρησης τους 5 °C και των 100 cfu/gr του προϊόντος 2 με θερμοκρασία συντήρησης τους 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω του ότι και στις δύο περιπτώσεις οι πληθυσμοί έχουν την ίδια συγκέντρωση 100 cfu/gr, αλλά έχουν διαφορετική θερμοκρασία συντήρησης στους 5 και 7 °C.

Η καμπύλη του προϊόντος 1 έχει μορφή ευθείας γραμμής και συνεχίζει να αυξάνεται εκθετικά μέχρι και τις 40 ημέρες συντήρησης του τροφίμου. Επομένως, τα logCFU/g του προϊόντος 1 αναπτύσσονται αρχικά με τον ίδιο τρόπο με αυτά της καμπύλης του προϊόντος 2, αλλά στη συνέχεια τα ξεπερνάνε κατά πολύ σε συγκέντρωση. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Σε αντίθεση, η καμπύλη του προϊόντος 2 είχε αρχικά μορφή ευθείας γραμμής, αλλά στο χρονικό διάστημα περίπου των 14 ημερών έφτασε στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Συνεπώς, σταμάτησε να αυξάνεται το logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 2 και παρέμεινε σταθερό μέχρι και τις 40 ημέρες. Η κλίση των καμπύλων των δύο προϊόντων διαφέρει, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι διαφορετική ($\theta_1 = 5$ °C και $\theta_2 = 7$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες).

Η lag phase (φάση προσαρμογής) των δύο πληθυσμών είναι διαφορετική, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση ξεκινάει σε άλλη χρονική στιγμή. Παρόλο, που οι δύο πληθυσμοί *Listeria monocytogenes* έχουν αρχικά τα ίδια cfu/g, η θερμοκρασία συντήρησής τους διαφέρει, με αποτέλεσμα η εκθετική φάση της καμπύλης με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία ($\theta_2 = 7$ °C) να ξεκινάει ταχύτερα από αυτή της καμπύλης με τη μικρότερη θερμοκρασία ($\theta_1 = 5$ °C).

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, αλλά τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας αποθήκευσης τους ($\theta_1 = 5$ °C και $\theta_2 = 7$ °C).

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 5 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0173, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 7.52 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 18.62 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0344, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 3.78 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 9.36 ημέρες.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), των 1000 cfu/gr του προϊόντος 1 με θερμοκρασία συντήρησης τους 5 °C και των 10.000 cfu/gr του προϊόντος 2 με θερμοκρασία συντήρησης τους 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω της μεγάλης διαφοράς των αρχικών πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων, αλλά και λόγω της διαφορετικής θερμοκρασίας συντήρησης των 5 και 7 °C.

Η καμπύλη του προϊόντος 1 έχει μορφή ευθείας γραμμής και συνεχίζει να αυξάνεται εκθετικά μέχρι και τις 40 ημέρες συντήρησης του τροφίμου, χωρίς όμως τα logCFU/g να αποκτούν πολύ μεγάλη τιμή συγκέντρωσης. Τα logCFU/g του προϊόντος 1 αναπτύσσονται με πολύ πιο αργό ρυθμό από αυτά της καμπύλης του προϊόντος 2 και η συγκέντρωση τους είναι πολύ μικρότερη. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Σε αντίθεση, η καμπύλη του προϊόντος 2 είχε αρχικά μορφή ευθείας γραμμής, αλλά στο χρονικό διάστημα περίπου των 14 ημερών έφτασε στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Συνεπώς, σταμάτησε να αυξάνεται το logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 2 και παρέμεινε σταθερό μέχρι και τις 40 ημέρες. Η τιμή της συγκέντρωσης των logCFU/g του προϊόντος 2 αναπτύσσεται με πολύ πιο γρήγορο ρυθμό από τα logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 1 και η συγκέντρωσή τους είναι κατά πολύ μεγαλύτερη. Η κλίση των καμπύλων των δύο προϊόντων διαφέρει πολύ, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι διαφορετική ($\theta_1 = 5 \text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7 \text{ }^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 10.000 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 1000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής.

Η lag phase (φάση προσαρμογής) των δύο πληθυσμών είναι διαφορετική, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση ξεκινάει σε άλλη χρονική στιγμή. Οι δύο αρχικοί πληθυσμοί οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) έχουν διαφορετικά cfu/g και ταυτόχρονα η θερμοκρασία συντήρησής τους διαφέρει, με αποτέλεσμα η εκθετική φάση της καμπύλης με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία ($\theta_2 = 7 \text{ }^\circ\text{C}$) και τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό να ξεκινάει πολύ ταχύτερα από αυτή της καμπύλης με τη μικρότερη θερμοκρασία ($\theta_1 = 5 \text{ }^\circ\text{C}$) και τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), αλλά τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους. Αυτό συμβαίνει λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας αποθήκευσης τους ($\theta_1 = 5 \text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7 \text{ }^\circ\text{C}$), αλλά και του διαφορετικού αρχικού τους πληθυσμού.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 5 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0123, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 9.49 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr χρειαζόταν πάνω από 40 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7 °C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης

(μmax) του πληθυσμού ισούται με 0.0374, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 3.12 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr χρειαζόταν 13.63 ημέρες.

Οι καμπύλες των δύο μικροοργανισμών και στα δύο προϊόντα αλληλεξαρτώνται. Δηλαδή, οι καμπύλες του προϊόντος 1, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 1000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν 100 cfu/gr, δείχνουν ότι περίπου στις 22 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* ξεπέρασε τελικά το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενώ στο προϊόν 2, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 10.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν πάλι 100 cfu/gr, το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* δεν κατάφερε να ξεπεράσει το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εντός των 40 ημερών, αντίθετα παρέμεινε σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Άρα, όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών, τόσο καθυστερεί η ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*.

6.4.1.5. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και στο προϊόν 1 και στο προϊόν 2 καταμετρήθηκαν στα 100 cfu/gr. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), στο προϊόν 1 καταμετρήθηκαν στα 1000 cfu/gr και στο προϊόν 2 στα 100.000 cfu/gr. Στο προϊόν 1 (*L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 1000 cfu/gr) οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ενώ στο προϊόν 2 (*L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι 4 πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς της *Listeria monocytogenes*, των 100 cfu/gr του προϊόντος 1 με θερμοκρασία συντήρησης τους 5 °C και των 100 cfu/gr του προϊόντος 2 με θερμοκρασία συντήρησης τους 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω του ότι και στις δύο περιπτώσεις οι πληθυσμοί έχουν την ίδια συγκέντρωση 100 cfu/gr, αλλά έχουν διαφορετική θερμοκρασία συντήρησης στους 5 και 7 °C.

Η καμπύλη του προϊόντος 1 έχει μορφή ευθείας γραμμής και συνεχίζει να αυξάνεται εκθετικά μέχρι και τις 40 ημέρες συντήρησης του τροφίμου. Επομένως, τα logCFU/g του προϊόντος 1 αναπτύσσονται αρχικά με τον ίδιο τρόπο με αυτά της καμπύλης του προϊόντος 2, αλλά στη συνέχεια τα ξεπερνάνε κατά πολύ σε συγκέντρωση. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max

logcfu/gr). Σε αντίθεση, η καμπύλη του προϊόντος 2 είχε αρχικά μορφή ευθείας γραμμής, αλλά στο χρονικό διάστημα περίπου των 14 ημερών έφτασε στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Συνεπώς, σταμάτησε να αυξάνεται το logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 2 και παρέμεινε σταθερό μέχρι και τις 40 ημέρες. Η κλίση των καμπύλων των δύο προϊόντων διαφέρει, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι διαφορετική ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες).

Η lag phase (φάση προσαρμογής) των δύο πληθυσμών είναι διαφορετική, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση ξεκινάει σε άλλη χρονική στιγμή. Παρόλο, που οι δύο πληθυσμοί *Listeria monocytogenes* έχουν αρχικά τα ίδια cfu/g, η θερμοκρασία συντήρησής τους διαφέρει, με αποτέλεσμα η εκθετική φάση της καμπύλης με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία ($\theta_2 = 7^\circ\text{C}$) να ξεκινάει ταχύτερα από αυτή της καμπύλης με τη μικρότερη θερμοκρασία ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$).

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, αλλά τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας αποθήκευσης τους ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7^\circ\text{C}$).

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 5°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0173, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 7.52 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 18.62 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0344, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 3.78 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 9.41 ημέρες.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), των 1000 cfu/gr του προϊόντος 1 με θερμοκρασία συντήρησης τους 5°C και των 100.000 cfu/gr του προϊόντος 2 με θερμοκρασία συντήρησης τους 7°C , έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω της μεγάλης διαφοράς των αρχικών πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων, αλλά και λόγω της διαφορετικής θερμοκρασίας συντήρησης των 5 και 7°C .

Η καμπύλη του προϊόντος 1 έχει μορφή ευθείας γραμμής και συνεχίζει να αυξάνεται εκθετικά μέχρι και τις 40 ημέρες συντήρησης του τροφίμου, χωρίς όμως τα logCFU/g να αποκτούν πολύ μεγάλη τιμή συγκέντρωσης. Τα logCFU/g του προϊόντος 1 αναπτύσσονται με πολύ πιο αργό ρυθμό από αυτά της καμπύλης του προϊόντος 2 και η συγκέντρωσή τους είναι πολύ μικρότερη. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Σε αντίθεση, η καμπύλη του προϊόντος 2 είχε αρχικά μορφή ευθείας γραμμής, αλλά στο χρονικό διάστημα περίπου των 12 ημερών έφτασε στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Συνεπώς, σταμάτησε να αυξάνεται το logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 2 και παρέμεινε σταθερό μέχρι και τις 40 ημέρες. Η τιμή της

συγκέντρωσης των logCFU/g του προϊόντος 2 αναπτύσσεται με πολύ πιο γρήγορο ρυθμό από τα logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 1 και η συγκέντρωση τους είναι κατά πολύ μεγαλύτερη. Η κλίση των καμπύλων των δύο προϊόντων διαφέρει πολύ, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι διαφορετική ($\theta_1 = 5\text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7\text{ }^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr, ο οποίος είναι εκατονταπλάσιος των 1000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής.

Η lag phase (φάση προσαρμογής) των δύο πληθυσμών είναι διαφορετική, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση ξεκινάει σε άλλη χρονική στιγμή. Οι δύο αρχικοί πληθυσμοί οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) έχουν διαφορετικά cfu/g και ταυτόχρονα η θερμοκρασία συντήρησής τους διαφέρει, με αποτέλεσμα η εκθετική φάση της καμπύλης με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία ($\theta_2 = 7\text{ }^\circ\text{C}$) και τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό να ξεκινάει πολύ ταχύτερα από αυτή της καμπύλης με τη μικρότερη θερμοκρασία ($\theta_1 = 5\text{ }^\circ\text{C}$) και τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), αλλά τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους. Αυτό συμβαίνει λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας αποθήκευσης τους ($\theta_1 = 5\text{ }^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7\text{ }^\circ\text{C}$), αλλά και του διαφορετικού αρχικού τους πληθυσμού.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 1000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης $5\text{ }^\circ\text{C}$ ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0123, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 9.49 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr χρειαζόταν πάνω από 40 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης $7\text{ }^\circ\text{C}$ ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0374, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 3.12 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr χρειαζόταν 11.07 ημέρες.

Οι καμπύλες των δύο μικροοργανισμών και στα δύο προϊόντα αλληλεξαρτώνται. Δηλαδή, οι καμπύλες του προϊόντος 1, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 1000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν 100 cfu/gr, δείχνουν ότι περίπου στις 22 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* ξεπέρασε τελικά το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενώ στο προϊόν 2, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 100.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν πάλι 100 cfu/gr, το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* δεν κατάφερε να ξεπεράσει το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εντός των 40 ημερών, αντίθετα παρέμεινε σε πάρα πολύ χαμηλά επίπεδα. Άρα, όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών, τόσο καθυστερεί η ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*.

6.4.1.6. Μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage (προϊόν 1: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr και προϊόν 2: *L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) με διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης 5 °C και 7 °C, παρουσία αέρα

Στο μοντέλο βακτηριακής ανάπτυξης του προγράμματος Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) συγκρίνονται δύο διαφορετικοί αρχικοί πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB). Οι πληθυσμοί της *Listeria monocytogenes* και στο προϊόν 1 και στο προϊόν 2 καταμετρήθηκαν στα 100 cfu/gr. Οι πληθυσμοί των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), στο προϊόν 1 καταμετρήθηκαν στα 10.000 cfu/gr και στο προϊόν 2 στα 100.000 cfu/gr. Στο προϊόν 1 (*L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 10.000 cfu/gr) οι δύο μικροοργανισμοί αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 5 °C, ενώ στο προϊόν 2 (*L. monocytogenes* 100 cfu/gr και LAB 100.000 cfu/gr) αναπτύσσονται στην ίδια θερμοκρασία των 7 °C. Οι συνθήκες του υποστρώματος είναι κοινές, καθώς και οι 4 πληθυσμοί αναπτύσσονται σε δύο προϊόντα Τυριού Cottage με ίδια χαρακτηριστικά (pH, a_w , NaCl %) και ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες, δηλαδή παρουσία αέρα και υγρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς της *Listeria monocytogenes*, των 100 cfu/gr του προϊόντος 1 με θερμοκρασία συντήρησης τους 5 °C και των 100 cfu/gr του προϊόντος 2 με θερμοκρασία συντήρησης τους 7 °C, έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω του ότι και στις δύο περιπτώσεις οι πληθυσμοί έχουν την ίδια συγκέντρωση 100 cfu/gr, αλλά έχουν διαφορετική θερμοκρασία συντήρησης στους 5 και 7 °C.

Η καμπύλη του προϊόντος 1 έχει μορφή ευθείας γραμμής και συνεχίζει να αυξάνεται εκθετικά μέχρι και τις 40 ημέρες συντήρησης του τροφίμου. Επομένως, τα logCFU/g του προϊόντος 1 αναπτύσσονται αρχικά με τον ίδιο τρόπο με αυτά της καμπύλης του προϊόντος 2, αλλά στη συνέχεια τα ξεπερνάνε κατά πολύ σε συγκέντρωση. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Σε αντίθεση, η καμπύλη του προϊόντος 2 είχε αρχικά μορφή ευθείας γραμμής, αλλά στο χρονικό διάστημα περίπου των 14 ημερών έφτασε στην κορυφή της καμπύλης της (max logcfu/gr). Συνεπώς, σταμάτησε να αυξάνεται το logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 2 και παρέμεινε σταθερό μέχρι και τις 40 ημέρες. Η κλίση των καμπύλων των δύο προϊόντων διαφέρει, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι διαφορετική ($\theta_1 = 5$ °C και $\theta_2 = 7$ °C). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες).

Η lag phase (φάση προσαρμογής) των δύο πληθυσμών είναι διαφορετική, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση ξεκινάει σε άλλη χρονική στιγμή. Παρόλο, που οι δύο πληθυσμοί *Listeria monocytogenes* έχουν αρχικά τα ίδια cfu/g, η θερμοκρασία συντήρησής τους διαφέρει, με αποτέλεσμα η εκθετική φάση της καμπύλης με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία ($\theta_2 = 7$ °C) να ξεκινάει ταχύτερα από αυτή της καμπύλης με τη μικρότερη θερμοκρασία ($\theta_1 = 5$ °C).

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, αλλά τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους, κυρίως, λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας αποθήκευσης τους ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7^\circ\text{C}$).

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 5°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0173, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 7.52 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 18.62 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0344, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 3.78 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, ισούται με 9.41 ημέρες.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τους δύο πληθυσμούς των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), των 10.000 cfu/gr του προϊόντος 1 με θερμοκρασία συντήρησης τους 5°C και των 100.000 cfu/gr του προϊόντος 2 με θερμοκρασία συντήρησης τους 7°C , έδωσαν δύο διαφορετικές καμπύλες ανάπτυξης. Αυτό συνέβη λόγω της μεγάλης διαφοράς των αρχικών πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων, αλλά και λόγω της διαφορετικής θερμοκρασίας συντήρησης των 5 και 7°C .

Η καμπύλη του προϊόντος 1 έχει μορφή ευθείας γραμμής και συνεχίζει να αυξάνεται εκθετικά μέχρι και τις 40 ημέρες συντήρησης του τροφίμου, χωρίς όμως τα logCFU/g να αποκτούν πολύ μεγάλη τιμή συγκέντρωσης. Τα logCFU/g του προϊόντος 1 αναπτύσσονται με πολύ πιο αργό ρυθμό από αυτά της καμπύλης του προϊόντος 2 και η συγκέντρωσή τους είναι πολύ μικρότερη. Η καμπύλη του προϊόντος 1 μέσα στο χρονικό διάστημα συντήρησης των 40 ημερών δεν κατάφερε να φτάσει στην κορυφή της καμπύλης της ($\max \log_{\text{cfu/g}}$). Σε αντίθεση, η καμπύλη του προϊόντος 2 είχε αρχικά μορφή ευθείας γραμμής, αλλά στο χρονικό διάστημα περίπου των 12 ημερών έφτασε στην κορυφή της καμπύλης της ($\max \log_{\text{cfu/g}}$). Συνεπώς, σταμάτησε να αυξάνεται το logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 2 και παρέμεινε σταθερό μέχρι και τις 40 ημέρες. Η τιμή της συγκέντρωσης των logCFU/g του προϊόντος 2 αναπτύσσεται με πολύ πιο γρήγορο ρυθμό από τα logCFU/g της καμπύλης του προϊόντος 1 και η συγκέντρωσή τους είναι κατά πολύ μεγαλύτερη, ειδικά τις πρώτες 30 ημέρες. Η κλίση των καμπύλων των δύο προϊόντων διαφέρει πολύ, διότι η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι διαφορετική ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7^\circ\text{C}$). Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το logCFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των 100.000 cfu/gr, ο οποίος είναι δεκαπλάσιος των 10.000 cfu/gr, είχε τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής.

Η lag phase (φάση προσαρμογής) των δύο πληθυσμών είναι διαφορετική, γεγονός που δείχνει ότι και η εκθετική φάση ξεκινάει σε άλλη χρονική στιγμή. Οι δύο αρχικοί πληθυσμοί οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) έχουν διαφορετικά cfu/g και ταυτόχρονα η θερμοκρασία συντήρησής τους διαφέρει, με αποτέλεσμα η εκθετική φάση της καμπύλης με τη μεγαλύτερη

θερμοκρασία ($\theta_2 = 7^\circ\text{C}$) και τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό να ξεκινάει πολύ ταχύτερα από αυτή της καμπύλης με τη μικρότερη θερμοκρασία ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$) και τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό.

Η σύγκριση γίνεται μεταξύ δύο πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), αλλά τα δύο διαγράμματα έχουν αποκλίσεις μεταξύ τους. Αυτό συμβαίνει λόγω της διαφοράς της θερμοκρασίας αποθήκευσης τους ($\theta_1 = 5^\circ\text{C}$ και $\theta_2 = 7^\circ\text{C}$), αλλά και του διαφορετικού αρχικού τους πληθυσμού.

Αυτό παρουσιάζεται και στα αριθμητικά αποτελέσματα των δύο πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) με τις διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην πρώτη περίπτωση των 10.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 5°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0123, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 9.49 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr χρειαζόταν πάνω από 40 ημέρες. Στην δεύτερη περίπτωση των 100.000 cfu/gr με θερμοκρασία συντήρησης 7°C ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) του πληθυσμού ισούται με 0.0374, η lag phase (φάση προσαρμογής) ισούται με 3.12 ημέρες και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν 8 log cfu/gr χρειαζόταν 11.07 ημέρες.

Οι καμπύλες των δύο μικροοργανισμών και στα δύο προϊόντα αλληλεξαρτώνται. Δηλαδή, οι καμπύλες του προϊόντος 1, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 10.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν 100 cfu/gr, δείχνουν ότι περίπου στις 40 ημέρες το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* πλησίασε τελικά το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Ενώ στο προϊόν 2, όπου ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων ήταν 100.000 cfu/gr και ο αρχικός πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* ήταν πάλι 100 cfu/gr, το log cfu/gr της *Listeria monocytogenes* δεν κατάφερε να πλησιάσει το log cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εντός των 40 ημερών, αντίθετα παρέμεινε σε πάρα πολύ χαμηλά επίπεδα. Άρα, όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών, τόσο καθυστερεί η ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

7.1. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (ComBase Predictor):

7.1.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Broth Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός *Listeria monocytogenes*

Η μέθοδος των μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας του ComBase Predictor δείχνει την πιθανότητα ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού της *Listeria monocytogenes* με την πάροδο του χρόνου (ώρες). Οι συνθήκες υποστρώματος είναι συγκεκριμένες (Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8) και αλλάζουν μόνο οι θερμοκρασίες συντήρησης του τροφίμου και, κατά συνέπεια, οι θερμοκρασίες ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των cfu/gr της *Listeria monocytogenes* σε ένα τρόφιμο, τόσο μεγαλύτερος είναι ο κίνδυνος σε περίπτωση που καταναλωθεί. Το shelf life του τροφίμου μειώνεται κατακόρυφα με την αύξηση του παθογόνου, χωρίς να είναι απαραίτητο να υπάρχει εμφανής αλλοίωση στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Συνήθως, ένα τρόφιμο με παθογόνα βακτήρια δεν προδιαθέτει εμφανισιακά τον καταναλωτή για την επικινδυνότητα της κατάστασής του.

Όταν η *Listeria monocytogenes* είναι παρούσα σε ένα προϊόν, λόγω της μεγάλης επικινδυνότητάς της, αποτελεί τη βασική αιτία υψηλού μικροβιακού φορτίου στο τρόφιμο. Η παρουσία της *Listeria monocytogenes* υπερτερεί των άλλων πιθανών παθογόνων βακτηρίων και, εν τέλει, παρεμποδίζει την ανάπτυξή τους, καθώς αυξάνει ραγδαία τον αριθμό του πληθυσμού της, καταναλώνοντας το ολικό θρεπτικό υπόστρωμα του τροφίμου.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί. Είναι γεγονός ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης και αποθήκευσης, τόσο μεγαλύτερη και ταχύτερη θα είναι και η ανάπτυξη του παθογόνου μικροοργανισμού.

Ένας βασικός παράγοντας αναστολής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι το πολύ όξινο pH ($\text{pH} \leq 5$). Όσο πιο όξινο είναι το pH σε ένα τρόφιμο, τόσο δυσκολότερο είναι για τον παθογόνο να αναπτυχθεί, με αποτέλεσμα να χρειάζονται περισσότερες ημέρες για να φτάσει στο ανώτατο επιτρεπτό όριο με βάση τη νομοθεσία (Ευρωπαϊκή και Ελληνική), αυτό των 100 cfu/gr τροφίμου.

Επιπροσθέτως, ένας ακόμα βασικός παράγοντας αναστολής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι η μεγάλη συγκέντρωση αλατιού (% NaCl) και, κατά συνέπεια, η χαμηλή ενεργότητα νερού (a_w). Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση αλατιού, τόσο χαμηλότερη είναι η ενεργότητα νερού, με αποτέλεσμα να είναι δυσκολότερο για τον παθογόνο να αναπτυχθεί και να

χρειάζονται περισσότερες ημέρες για να φτάσει στο ανώτατο επιτρεπτό όριο με βάση τη νομοθεσία (Ευρωπαϊκή και Ελληνική), αυτό των 100 cfu/gr τροφίμου.

Στην καμπύλη ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού ισχύει ότι όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός. Οι τιμές αυτές επηρεάζονται και από τις αρχικές συγκεντρώσεις των πληθυσμών του μικροοργανισμού, αλλά και από τις αλλαγές της θερμοκρασίας.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου προορατικής μικροβιολογίας για τις θερμοκρασίες συντήρησης των 4, 7, 10 και 20 °C έδωσαν 4 διαφορετικές τυπικές σιγμοειδείς καμπύλες ανάπτυξης. Στην πρώτη περίπτωση των 4 °C, η καμπύλη είχε τη μικρότερη κλίση από όλες τις υπόλοιπες καμπύλες, με την πάροδο του χρόνου. Ακολούθησε η κλίση της καμπύλης των 7 °C, η οποία ήταν λίγο μεγαλύτερη από αυτή των 4 °C. Έπειτα, ακολούθησε η κλίση της καμπύλης των 10 °C, η οποία ήταν μεγαλύτερη από αυτή των 7 και 4 °C. Και, τέλος, συγκριτικά με όλες τις προηγούμενες καμπύλες, η καμπύλη των 20 °C, είχε μια εκθετική αύξηση σε λιγότερο χρόνο και με μεγαλύτερη κλίση. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το log₁₀CFU/g, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Επομένως, ο πληθυσμός της *Listeria monocytogenes* στους 20 °C είχε τη μεγαλύτερη αύξηση, στο μικρότερο χρονικό διάστημα, ενώ στις υπόλοιπες θερμοκρασίες ο χρόνος που χρειάστηκε για να αποκτήσουν τον ίδιο αριθμό log₁₀CFU/g ήταν με μεγαλύτερη καθυστέρηση.

Συνεπώς, είναι αποδεδειγμένο και αριθμητικά ότι η *Listeria monocytogenes* αναπτύσσεται με μεγαλύτερη ταχύτητα και αποκτά πολύ ταχύτερα μεγαλύτερη συγκέντρωση cfu/gr στους 20 °C, ακολουθούν οι 10, έπειτα οι 7 και τέλος οι 4 °C. Αυτό αποδεικνύει την αναλογία που υπάρχει μεταξύ της ταχείας ανάπτυξης και της μεγαλύτερης θερμοκρασίας (μεγέθη ανάλογα).

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του.

7.2. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

7.2.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός *Listeria monocytogenes*

Η μέθοδος των μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας του Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) δείχνει την πιθανότητα ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού της *Listeria monocytogenes* με την πάροδο του χρόνου (ημέρες). Οι συνθήκες υποστρώματος είναι συγκεκριμένες (Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8), αλλά αλλάζουν οι θερμοκρασίες συντήρησης του τροφίμου και, κατά συνέπεια, οι θερμοκρασίες ανάπτυξης του παθογόνου βακτηρίου. Επίσης, ένας ακόμα παράγοντας που αλλάζει είναι η συγκέντρωση των αρχικών πληθυσμών του παθογόνου μικροοργανισμού στο τρόφιμο και, επιπλέον, παρουσιάζεται η επίδραση της αλλαγής της θερμοκρασίας στα τελικά logcfu/gr των πληθυσμών της *Listeria monocytogenes*. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των cfu/gr της *Listeria monocytogenes* σε ένα τρόφιμο, τόσο μεγαλύτερος είναι ο κίνδυνος σε περίπτωση που καταναλωθεί. Το shelf life του τροφίμου μειώνεται κατακόρυφα με την αύξηση του παθογόνου, χωρίς να είναι απαραίτητο να υπάρχει εμφανής αλλοίωση στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Συνήθως, ένα τρόφιμο με παθογόνα βακτήρια δεν προδιαθέτει εμφανισιακά τον καταναλωτή για την επικινδυνότητα της κατάστασής του.

Όταν η *Listeria monocytogenes* είναι παρούσα σε ένα προϊόν, λόγω της μεγάλης επικινδυνότητάς της, αποτελεί τη βασική αιτία υψηλού μικροβιακού φορτίου στο τρόφιμο. Η παρουσία της *Listeria monocytogenes* υπερτερεί των άλλων πιθανών παθογόνων βακτηρίων και, εν τέλει, παρεμποδίζει την ανάπτυξή τους, καθώς αυξάνει ραγδαία τον αριθμό του πληθυσμού της, καταναλώνοντας το ολικό θρεπτικό υπόστρωμα του τροφίμου.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί. Είναι γεγονός ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης και αποθήκευσης, τόσο μεγαλύτερη και ταχύτερη θα είναι και η ανάπτυξη του παθογόνου μικροοργανισμού.

Ένας βασικός παράγοντας αναστολής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι το πολύ όξινο pH ($\text{pH} \leq 5$). Όσο πιο όξινο είναι το pH σε ένα τρόφιμο, τόσο δυσκολότερο είναι για τον παθογόνο να αναπτυχθεί, με αποτέλεσμα να χρειάζονται περισσότερες ημέρες για να φτάσει στο ανώτατο επιτρεπτό όριο με βάση τη νομοθεσία (Ευρωπαϊκή και Ελληνική), αυτό των 100 cfu/gr τροφίμου.

Επιπροσθέτως, ένας ακόμα βασικός παράγοντας αναστολής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι η μεγάλη συγκέντρωση αλατιού (% NaCl) και, κατά συνέπεια, η χαμηλή ενεργότητα νερού (a_w). Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση αλατιού, τόσο χαμηλότερη είναι η

ενεργότητα νερού, με αποτέλεσμα να είναι δυσκολότερο για τον παθογόνο να αναπτυχθεί και να χρειάζονται περισσότερες ημέρες για να φτάσει στο ανώτατο επιτρεπτό όριο με βάση τη νομοθεσία (Ευρωπαϊκή και Ελληνική), αυτό των 100 cfu/gr τροφίμου.

Στην καμπύλη ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού ισχύει ότι όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός. Οι τιμές αυτές επηρεάζονται και από τις αρχικές συγκεντρώσεις των πληθυσμών του μικροοργανισμού, αλλά και από τις αλλαγές της θερμοκρασίας.

Συμπερασματικά, ο πληθυσμός με τα λιγότερα cfu/gr δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με τα περισσότερα cfu/gr, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου. Επιπλέον, ο πληθυσμός με τη μικρότερη θερμοκρασία συντήρησης δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου.

Η κλίση της καμπύλης των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, όταν η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι κοινή. Όταν η θερμοκρασία τους είναι διαφορετική, μεταβάλλεται και η κλίση ανάλογα. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το $\log_{10}CFU/g$, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των περισσότερων cfu/gr θα έχει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξ αρχής και θα φτάσει ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης ($\max \log_{10}cfu/gr$), δηλαδή θα αποκτήσει ταχύτερα το $\max \log_{10}cfu/gr$, από τον μικρότερο πληθυσμό. Το ίδιο ισχύει και για τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία αποθήκευσης. Το $\max \log_{10}cfu/gr$ των καμπύλων είναι ίσο αριθμητικά, διότι αναφερόμαστε στον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ πληθυσμών του ίδιου παθογόνου μικροοργανισμού, της *Listeria monocytogenes*, είναι δεδομένο ότι τα διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, είτε αυτός βρίσκεται στην ίδια θερμοκρασία συντήρησης με τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, είτε βρίσκεται σε μεγαλύτερη θερμοκρασία.

Όσον αφορά τα αριθμητικά αποτελέσματα για τον ίδιο μικροοργανισμό ισχύει ότι όταν αυξάνεται η θερμοκρασία, ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) των πληθυσμών αυξάνεται, ενώ το Ψ (growth boundary parameter) και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, μειώνονται. Στην περίπτωση που η θερμοκρασία παραμένει η ίδια, αλλά αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, δεν παρατηρείται καμία αλλαγή σε αυτές τις τιμές. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, μειώνεται όταν αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών,

αλλά μειώνεται ακόμα περισσότερο, όταν αυξηθεί και η θερμοκρασία και η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών.

Συμπερασματικά, ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, το οποίο παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, επειδή επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία, επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό με τη μικρότερη θερμοκρασία.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο. Τέλος, η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι ιδιαίτερα σημαντική και επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης, τόσο πιθανότερο είναι να πολλαπλασιαστούν οι παθογόνοι και να κριθεί το τρόφιμο ακατάλληλο γρηγορότερα.

7.3. Συνθήκες ανάπτυξης Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλα Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

7.3.1. Γενικά Μοντέλα Ανάπτυξης Μικροοργανισμών (Generic Growth Models): Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8 και πληθυσμός Lactic Acid Bacteria (LAB)

Η μέθοδος των μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας του Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) δείχνει την πιθανότητα ανάπτυξης του μικροοργανισμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) με την πάροδο του χρόνου (ημέρες). Οι συνθήκες υποστρώματος είναι συγκεκριμένες (Μυζήθρα (νωπή και ξηρή) - Τυριά Τυρογάλακτος - NaCl: 1,20%, pH= 5,8), αλλά αλλάζουν οι θερμοκρασίες συντήρησης του τροφίμου και, κατά συνέπεια, οι θερμοκρασίες ανάπτυξης του βακτηρίου. Επίσης, ένας ακόμα παράγοντας που αλλάζει είναι η συγκέντρωση των αρχικών πληθυσμών του μικροοργανισμού στο τρόφιμο και, επιπλέον, παρουσιάζεται η επίδραση της αλλαγής της θερμοκρασίας στα τελικά logcfu/gr των πληθυσμών των οξυγαλακτικών βακτηρίων.

Το shelf life του τροφίμου αυξάνεται κατακόρυφα με την αύξηση του μικροοργανισμού, λόγω της παραγωγής του γαλακτικού οξέος, το οποίο είναι υπεύθυνο για την πτώση του pH στο τρόφιμο. Η μείωση του pH έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση ανάπτυξης των παθογόνων μικροοργανισμών. Επομένως, η αύξηση της συγκέντρωσης των cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εξασφαλίζει την μεγαλύτερη διατηρησιμότητα στο τελικό προϊόν. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τόσο αυξάνεται η παραγωγή του γαλακτικού οξέος και τόσο πιο ασφαλές παραμένει το τρόφιμο από παθογόνους. Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος πραγματοποιείται με κατανάλωση υδατανθράκων (σακχάρων) από το υπόστρωμα, δηλαδή το ζυμούμενο τρόφιμο. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων και, κατά συνέπεια, και την πορεία της ζύμωσης του τροφίμου είναι η συγκέντρωση της άλμης στο τρόφιμο, η θερμοκρασία της ζύμωσης, καθώς και το pH του τροφίμου.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι διαδεδομένα στη φύση και είναι συχνή η παρουσία κάποιων και στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ύπαρξή τους στην διατροφή του ανθρώπου είναι θετική, καθώς βελτιώνει την υγεία και έχει θετική επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα. Επίσης, η παρουσία τους στα τρόφιμα είναι θετική, όσον αφορά τη διάρκεια ζωής τους και την προστασία τους από τα παθογόνα βακτήρια.

Αποτελούν μια ομάδα μη σπορογόνων βακτηρίων, σε σχήμα ράβδου και κόκκου και ζυμώνουν τους υδατάνθρακες και τις ανώτερες αλκοόλες, κυρίως σε γαλακτικό οξύ. Για την ανάπτυξή τους έχουν ανάγκη διάφορα αμινοξέα, βιταμίνες του συμπλέγματος B, πουρίνες και πουριμιδίνες. Είναι μεσόφιλοι και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από 5 έως 45 °C. Αναπτύσσονται ακόμα και σε χαμηλά pH (συνήθως 4.0-4.5, αλλά και σε χαμηλότερα). Είναι Gram- θετικά και δεν συνθέτουν το ένζυμο καταλάση.

Τέλος, η συνύπαρξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων με παθογόνα στο ίδιο υπόστρωμα (τρόφιμο) παρεμποδίζει την ανάπτυξη τους. Αυτό συμβαίνει γιατί τα LAB δρουν ανταγωνιστικά

έναντι των παθογόνων και αναπτύσσονται ταχύτερα, καταναλώνοντας μεγάλο μέρος των θρεπτικών συστατικών του τροφίμου. Συνεπώς, με αυτόν τον τρόπο αποτελούν ένα φυσικό συντηρητικό για το τρόφιμο και η παρουσία τους είναι μια από τις κυριότερες μορφές βιοπροστασίας από άλλους βλαβερούς μικροοργανισμούς.

Στην καμπύλη ανάπτυξης του μικροοργανισμού ισχύει ότι όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός. Οι τιμές αυτές επηρεάζονται και από τις αρχικές συγκεντρώσεις των πληθυσμών του μικροοργανισμού, αλλά και από τις αλλαγές της θερμοκρασίας.

Συμπερασματικά, ο πληθυσμός με τα λιγότερα cfu/gr δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με τα περισσότερα cfu/gr, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου. Επιπλέον, ο πληθυσμός με τη μικρότερη θερμοκρασία συντήρησης δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου.

Η κλίση της καμπύλης των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, όταν η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι κοινή. Όταν η θερμοκρασία τους είναι διαφορετική, μεταβάλλεται και η κλίση ανάλογα. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το $\log_{10}CFU/g$, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των περισσότερων cfu/gr θα έχει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και θα φτάσει ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης ($\max \log_{10}cfu/gr$), δηλαδή θα αποκτήσει ταχύτερα το $\max \log_{10}cfu/gr$, από τον μικρότερο πληθυσμό. Το ίδιο ισχύει και για τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία αποθήκευσης. Το $\max \log_{10}cfu/gr$ των καμπύλων είναι ίσο αριθμητικά, διότι αναφερόμαστε στον ίδιο μικροοργανισμό.

Επειδή, η σύγκριση γίνεται μεταξύ πληθυσμών του ίδιου μικροοργανισμού, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), είναι δεδομένο ότι τα διαγράμματα είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους και οι καμπύλες ανάπτυξης τους είναι όμοιες. Η διαφορά είναι ότι στην αρχή των καμπύλων έχουμε διαφορετική συγκέντρωση πληθυσμών, η οποία είναι εμφανής και στην εξέλιξη του διαγράμματος, δίνοντας για κάθε σημείο της καμπύλης μια μεγαλύτερη τιμή για τον μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό, είτε αυτός βρίσκεται στην ίδια θερμοκρασία συντήρησης με τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, είτε βρίσκεται σε μεγαλύτερη θερμοκρασία.

Όσον αφορά τα αριθμητικά αποτελέσματα για τον ίδιο μικροοργανισμό ισχύει ότι όταν αυξάνεται η θερμοκρασία, ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) των πληθυσμών αυξάνεται, ενώ το Ψ (growth boundary parameter) και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, μειώνονται. Στην περίπτωση που η θερμοκρασία παραμένει η ίδια, αλλά αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, δεν παρατηρείται καμία αλλαγή σε αυτές τις τιμές. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, μειώνεται όταν αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών,

αλλά μειώνεται ακόμα περισσότερο, όταν αυξηθεί και η θερμοκρασία και η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών.

Συνεπώς, ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, το οποίο παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, επειδή επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία, επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό με τη μικρότερη θερμοκρασία.

Συμπερασματικά, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι υπεύθυνα για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, το οποίο αποτελεί βασικό συστατικό ζύμωσης και, κατά συνέπεια, μείωσης του pH των τροφίμων. Επομένως, το γαλακτικό οξύ αποτελεί ένα φυσικό συντηρητικό για το τρόφιμο, στο οποίο προσδίδει και επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Τα περισσότερα προϊόντα ζύμωσης προέρχονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Η πτώση του pH στο τρόφιμο έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση ανάπτυξης ποικίλων παθογόνων μικροοργανισμών. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τόσο μεγαλύτερη είναι και η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, το οποίο είναι και το επιθυμητό αποτέλεσμα για την προστασία και την μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τροφίμου. Οι περισσότερες διαδικασίες ζύμωσης είναι αναερόβιες, γεγονός που δυσκολεύει ακόμα περισσότερο την ανάπτυξη πολλών μικροοργανισμών σε τέτοιο υπόστρωμα. Τέλος, οι υπερβολικά υψηλοί αρχικοί πληθυσμοί των LAB μπορούν να επηρεάσουν και αρνητικά το τρόφιμο, καθώς μπορεί να το υποβαθμίσουν ποιοτικά.

Τέλος, το γαλακτικό οξύ δεν παράγεται ή παράγεται με πολύ αργούς ρυθμούς σε θερμοκρασίες μικρότερες των 20 °C. Οι ιδανικότερες συνθήκες παραγωγής γαλακτικού οξέος από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι οι θερμοκρασίες μεταξύ των 10 και 42 °C, με optimum εύρος ανάπτυξης μεταξύ των 20 και 35 °C. Υπάρχουν και είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, κυρίως σε υποστρώματα ψαριών και κρεάτων, τα οποία αποθηκεύονται σε αυτές τις χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης.

7.4. Συνθήκες ανάπτυξης *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Μοντέλο Προορατικής Μικροβιολογίας (Food Spoilage and Safety Predictor - FSSP):

7.4.1. *Listeria monocytogenes* και Lactic Acid Bacteria (LAB) σε Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2

Η μέθοδος των μοντέλων προορατικής μικροβιολογίας του Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP) δείχνει την πιθανότητα ανάπτυξης του μικροοργανισμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) με την πάροδο του χρόνου (ημέρες) και ταυτόχρονα την πιθανότητα ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού της *Listeria monocytogenes* με την πάροδο του χρόνου (ημέρες). Επομένως, σε αυτό το μοντέλο προορατικής μικροβιολογίας συνυπάρχουν και οι δύο μικροοργανισμοί. Οι συνθήκες υποστρώματος είναι συγκεκριμένες (Τυρί Cottage - NaCl: 1,11%, pH= 5,2), αλλά αλλάζουν οι θερμοκρασίες συντήρησης του τροφίμου και, κατά συνέπεια, οι θερμοκρασίες ανάπτυξης των βακτηρίων. Επίσης, ένας ακόμα παράγοντας που αλλάζει είναι η συγκέντρωση των αρχικών πληθυσμών των μικροοργανισμών στο τρόφιμο και, επιπλέον, παρουσιάζεται η επίδραση της αλλαγής της θερμοκρασίας στα τελικά logcfu/gr των πληθυσμών και των δύο μικροοργανισμών.

Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση των cfu/gr της *Listeria monocytogenes* σε ένα τρόφιμο, τόσο μεγαλύτερος είναι ο κίνδυνος σε περίπτωση που καταναλωθεί. Το shelf life του τροφίμου μειώνεται κατακόρυφα με την αύξηση του παθογόνου, χωρίς να είναι απαραίτητο να υπάρχει εμφανής αλλοίωση στα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά. Συνήθως, ένα τρόφιμο με παθογόνα βακτήρια δεν προδιαθέτει εμφανισιακά τον καταναλωτή για την επικινδυνότητα της κατάστασής του.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση, λόγω της παρουσίας των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB) και της παρεμπόδισης της ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes*, το shelf life του τροφίμου αυξάνεται. Ισχύει ότι το shelf life του τροφίμου αυξάνεται κατακόρυφα με την αύξηση των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), λόγω της παραγωγής του γαλακτικού οξέος, το οποίο είναι υπεύθυνο για την πτώση του pH στο τρόφιμο. Η υπερβολική μείωση του pH έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes*. Επομένως, η αύξηση της συγκέντρωσης των cfu/gr των οξυγαλακτικών βακτηρίων εξασφαλίζει την μεγαλύτερη διατηρησιμότητα στο τελικό προϊόν. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τόσο αυξάνεται η παραγωγή του γαλακτικού οξέος και τόσο πιο ασφαλές παραμένει το τρόφιμο από παθογόνους. Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος πραγματοποιείται με κατανάλωση υδατανθράκων (σακχάρων) από το υπόστρωμα, δηλαδή το ζυμούμενο τρόφιμο. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων και, κατά συνέπεια, και την πορεία της ζύμωσης του τροφίμου είναι η συγκέντρωση της άλμης στο τρόφιμο, η θερμοκρασία της ζύμωσης, καθώς και το pH του τροφίμου.

Όσον αφορά τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) ισχύει ότι:

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι διαδεδομένα στη φύση και είναι συχνή η παρουσία κάποιων και στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ύπαρξή τους στην διατροφή του ανθρώπου είναι θετική, καθώς βελτιώνει την υγεία και έχει θετική επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα. Επίσης, η παρουσία τους στα τρόφιμα είναι θετική, όσον αφορά τη διάρκεια ζωής τους και την προστασία τους από τα παθογόνα βακτήρια.

Αποτελούν μια ομάδα μη σπορογόνων βακτηρίων, σε σχήμα ράβδου και κόκκου και ζυμώνουν τους υδατάνθρακες και τις ανώτερες αλκοόλες, κυρίως σε γαλακτικό οξύ. Για την ανάπτυξή τους έχουν ανάγκη διάφορα αμινοξέα, βιταμίνες του συμπλέγματος Β, πουρίνες και πουριμιδίνες. Είναι μεσόφιλοι και αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από 5 έως 45 °C. Αναπτύσσονται ακόμα και σε χαμηλά pH (συνήθως 4.0-4.5, αλλά και σε χαμηλότερα). Είναι Gram- θετικά και δεν συνθέτουν το ένζυμο καταλάση.

Τέλος, η συνύπαρξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων με παθογόνα στο ίδιο υπόστρωμα (τρόφιμο) παρεμποδίζει την ανάπτυξη τους. Αυτό συμβαίνει γιατί τα LAB δρουν ανταγωνιστικά έναντι των παθογόνων και αναπτύσσονται ταχύτερα, καταναλώνοντας μεγάλο μέρος των θρεπτικών συστατικών του τροφίμου. Συνεπώς, με αυτόν τον τρόπο αποτελούν ένα φυσικό συντηρητικό για το τρόφιμο και η παρουσία τους είναι μια από τις κυριότερες μορφές βιοπροστασίας από άλλους βλαβερούς μικροοργανισμούς.

Στην καμπύλη ανάπτυξης του μικροοργανισμού ισχύει ότι όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός. Οι τιμές αυτές επηρεάζονται και από τις αρχικές συγκεντρώσεις των πληθυσμών του μικροοργανισμού, αλλά και από τις αλλαγές της θερμοκρασίας.

Συμπερασματικά, ο πληθυσμός με τα λιγότερα cfu/gr δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με τα περισσότερα cfu/gr, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου. Επιπλέον, ο πληθυσμός με τη μικρότερη θερμοκρασία συντήρησης δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου.

Η κλίση της καμπύλης των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, όταν η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι κοινή. Όταν η θερμοκρασία τους είναι διαφορετική, μεταβάλλεται και η κλίση ανάλογα. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το $\log_{10}CFU/g$, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των περισσότερων cfu/gr θα έχει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη εξαρχής και θα φτάσει ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης ($\max \log_{10}cfu/gr$), δηλαδή θα αποκτήσει ταχύτερα το $\max \log_{10}cfu/gr$, από τον μικρότερο πληθυσμό. Το ίδιο ισχύει και για τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία αποθήκευσης. Το $\max \log_{10}cfu/gr$ των καμπύλων είναι ίσο αριθμητικά, διότι αναφερόμαστε στον ίδιο μικροοργανισμό.

Όσον αφορά τα αριθμητικά αποτελέσματα για τον ίδιο μικροοργανισμό, των οξυγαλακτικών βακτηρίων (LAB), ισχύει ότι όταν αυξάνεται η θερμοκρασία, ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) των πληθυσμών αυξάνεται, ενώ η lag phase μειώνεται. Στην περίπτωση που η θερμοκρασία παραμένει η ίδια, αλλά αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, δεν παρατηρείται καμία αλλαγή σε αυτές τις τιμές. Τέλος, και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου έως ότου αναπτυχθούν $8 \log_{cfu}/gr$ μειώνεται όταν αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά μειώνεται ακόμα περισσότερο, όταν αυξηθεί και η θερμοκρασία και η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών.

Επομένως, ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, το οποίο παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, επειδή επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία, επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό με τη μικρότερη θερμοκρασία.

Συμπερασματικά, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι υπεύθυνα για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, το οποίο αποτελεί βασικό συστατικό ζύμωσης και, κατά συνέπεια, μείωσης του pH των τροφίμων. Επομένως, το γαλακτικό οξύ αποτελεί ένα φυσικό συντηρητικό για το τρόφιμο, στο οποίο προσδίδει και επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Τα περισσότερα προϊόντα ζύμωσης προέρχονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Η πτώση του pH στο τρόφιμο έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση ανάπτυξης ποικίλων παθογόνων μικροοργανισμών. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αρχικός πληθυσμός των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τόσο μεγαλύτερη είναι και η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, το οποίο είναι και το επιθυμητό αποτέλεσμα για την προστασία και την μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τροφίμου. Οι περισσότερες διαδικασίες ζύμωσης είναι αναερόβιες, γεγονός που δυσκολεύει ακόμα περισσότερο την ανάπτυξη πολλών μικροοργανισμών σε τέτοιο υπόστρωμα. Τέλος, οι υπερβολικά υψηλοί αρχικοί πληθυσμοί των LAB μπορούν να επηρεάσουν και αρνητικά το τρόφιμο, καθώς μπορεί να το υποβαθμίσουν ποιοτικά.

Τέλος, το γαλακτικό οξύ δεν παράγεται ή παράγεται με πολύ αργούς ρυθμούς σε θερμοκρασίες μικρότερες των $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Οι ιδανικότερες συνθήκες παραγωγής γαλακτικού οξέος από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) είναι οι θερμοκρασίες μεταξύ των 10 και $42\text{ }^{\circ}\text{C}$, με optimum εύρος ανάπτυξης μεταξύ των 20 και $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Υπάρχουν και είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων που αναπτύσσονται και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, κυρίως σε υποστρώματα ψαριών και κρεάτων, τα οποία αποθηκεύονται σε αυτές τις χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης.

Όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes* ισχύει ότι:

Όταν η *Listeria monocytogenes* είναι παρούσα σε ένα προϊόν, λόγω της μεγάλης επικινδυνότητας της, αποτελεί τη βασική αιτία υψηλού μικροβιακού φορτίου στο τρόφιμο. Η παρουσία της *Listeria monocytogenes* υπερτερεί των άλλων πιθανών παθογόνων βακτηρίων και, εν τέλει, παρεμποδίζει την ανάπτυξή τους, καθώς αυξάνει ραγδαία τον αριθμό του πληθυσμού της, καταναλώνοντας το ολικό θρεπτικό υπόστρωμα του τροφίμου.

Η *Listeria monocytogenes*, ως ψυχρότροφο βακτήριο, έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης, στην περίπτωση που οι συνθήκες είναι ιδανικές για να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί. Είναι γεγονός ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης και αποθήκευσης, τόσο μεγαλύτερη και ταχύτερη θα είναι και η ανάπτυξη του παθογόνου μικροοργανισμού.

Ένας βασικός παράγοντας αναστολής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι το πολύ όξινο pH ($pH \leq 5$). Όσο πιο όξινο είναι το pH σε ένα τρόφιμο, τόσο δυσκολότερο είναι για τον παθογόνο να αναπτυχθεί, με αποτέλεσμα να χρειάζονται περισσότερες ημέρες για να φτάσει στο ανώτατο επιτρεπτό όριο με βάση τη νομοθεσία (Ευρωπαϊκή και Ελληνική), αυτό των 100 cfu/gr τροφίμου.

Επιπροσθέτως, ένας ακόμα βασικός παράγοντας αναστολής ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes* είναι η μεγάλη συγκέντρωση αλατιού (% NaCl) και, κατά συνέπεια, η χαμηλή ενεργότητα νερού (a_w). Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση αλατιού, τόσο χαμηλότερη είναι η ενεργότητα νερού, με αποτέλεσμα να είναι δυσκολότερο για τον παθογόνο να αναπτυχθεί και να χρειάζονται περισσότερες ημέρες για να φτάσει στο ανώτατο επιτρεπτό όριο με βάση τη νομοθεσία (Ευρωπαϊκή και Ελληνική), αυτό των 100 cfu/gr τροφίμου.

Στην καμπύλη ανάπτυξης του παθογόνου μικροοργανισμού ισχύει ότι όσο μικρότερος είναι ο χρόνος διπλασιασμού και ο χρόνος προσαρμογής, τόσο ταχύτερη είναι η ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, τόσο ταχύτερα αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός. Οι τιμές αυτές επηρεάζονται και από τις αρχικές συγκεντρώσεις των πληθυσμών του μικροοργανισμού, αλλά και από τις αλλαγές της θερμοκρασίας.

Συμπερασματικά, ο πληθυσμός με τα λιγότερα cfu/gr δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με τα περισσότερα cfu/gr, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου. Επιπλέον, ο πληθυσμός με τη μικρότερη θερμοκρασία συντήρησης δίνει μια καμπύλη με μικρότερο ύψος με την πάροδο του χρόνου, συγκριτικά με τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, ο οποίος δίνει μια καμπύλη με μεγαλύτερο ύψος συναρτήσει του χρόνου.

Η κλίση της καμπύλης των δύο πληθυσμών είναι η ίδια, όταν η θερμοκρασία αποθήκευσης τους είναι κοινή. Όταν η θερμοκρασία τους είναι διαφορετική, μεταβάλλεται και η κλίση ανάλογα. Το ύψος της καμπύλης υποδηλώνει το $\log CFU/g$, συναρτήσει του χρόνου (ώρες). Όπως, είναι αναμενόμενο ο αρχικός πληθυσμός των περισσότερων cfu/gr θα έχει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη

εξαρχής και θα φτάσει ταχύτερα στην κορυφή της καμπύλης ($\max \log cfu/gr$), δηλαδή θα αποκτήσει ταχύτερα το $\max \log cfu/gr$, από τον μικρότερο πληθυσμό. Το ίδιο ισχύει και για τον πληθυσμό με την μεγαλύτερη θερμοκρασία αποθήκευσης. Το $\max \log cfu/gr$ των καμπύλων είναι ίσο αριθμητικά, διότι αναφερόμαστε στον ίδιο μικροοργανισμό.

Όσον αφορά τα αριθμητικά αποτελέσματα για τον ίδιο μικροοργανισμό της *Listeria monocytogenes* ισχύει ότι όταν αυξάνεται η θερμοκρασία, ο ρυθμός ανάπτυξης (μ_{\max}) των πληθυσμών αυξάνεται, ενώ η lag phase και το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αυξηθούν 100-fold, μειώνονται. Στην περίπτωση που η θερμοκρασία παραμένει η ίδια, αλλά αυξηθεί η αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, δεν παρατηρείται καμία αλλαγή σε αυτές τις τιμές.

Επομένως, ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει την ίδια ανάπτυξη σε περισσότερο χρόνο. Τέλος, το μοντέλο ανάπτυξης χρόνου, έως ότου αναπτυχθεί ο λογάριθμος της συγκέντρωσης των κρίσιμων κυττάρων, το οποίο παρουσιάζει διαφορετικά αποτελέσματα, επειδή επηρεάζεται και από την αρχική συγκέντρωση των κυττάρων των πληθυσμών, αλλά και από την θερμοκρασία, επαληθεύει ότι ο μεγαλύτερος αρχικός πληθυσμός με τη μεγαλύτερη θερμοκρασία συντήρησης, αναπτύσσεται σε λιγότερο χρονικό διάστημα από τον μικρότερο αρχικό πληθυσμό με τη μικρότερη θερμοκρασία.

Τα δεδομένα αυτά αποδεικνύουν ότι οι ιδανικότερες συνθήκες αποθήκευσης και συντήρησης, όσον αφορά τη *Listeria monocytogenes*, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες ψύξης ($\theta \leq 4$ °C). Το γεγονός αυτό εξασφαλίζει και τη μεγαλύτερη διατηρησιμότητα του τυριού, ποιοτικά, αλλά και την ασφαλή κατανάλωσή του. Επιπροσθέτως, ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για το shelf life του τροφίμου είναι και οι αρχικές συγκεντρώσεις των κυττάρων των μικροοργανισμών. Ένα τρόφιμο που παρασκευάζεται και διανέμεται στον καταναλωτή με ελάχιστο μικροβιακό φορτίο, δηλαδή με μικρό αρχικό πληθυσμό παθογόνων βακτηρίων, είναι αποδεδειγμένο ότι είναι ασφαλέστερο με την πάροδο του χρόνου και έχει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από ένα άλλο τρόφιμο με μεγαλύτερο μικροβιακό φορτίο. Τέλος, η θερμοκρασία αποθήκευσης είναι ιδιαίτερα σημαντική και επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης, τόσο πιθανότερο είναι να πολλαπλασιαστούν οι παθογόνοι και να κριθεί το τρόφιμο ακατάλληλο γρηγορότερα.

Είναι εμφανές από τα διαγράμματα και τα αποτελέσματα ότι η *Listeria monocytogenes* και τα οξυγαλακτικά βακτήρια δρουν ανταγωνιστικά μεταξύ τους. Οι πληθυσμοί και των δύο μικροοργανισμών είχαν μικρότερη ανάπτυξη στο υπόστρωμα του τυριού, από την ανάπτυξη που θα είχαν αν απουσίαζε ο ένας από τους δύο μικροοργανισμούς στο ίδιο υπόστρωμα. Αυτό συμβαίνει, διότι τα οξυγαλακτικά βακτήρια είχαν και στα δύο προϊόντα μεγαλύτερο αρχικό πληθυσμό από τους πληθυσμούς της *Listeria monocytogenes* και, επιπλέον, αναπτύσσονται ταχύτερα. Επιπροσθέτως, αποτελούν φυσική βιοπροστασία του τροφίμου, καθώς παράγουν το γαλακτικό οξύ και προκαλούν αισθητή πτώση του pH, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη άλλων παθογόνων βακτηρίων. Όμως, η

Listeria monocytogenes δεν αποτελεί ένα από τα βακτήρια που δεν αναπτύσσονται καθόλου σε πολύ χαμηλές τιμές του pH. Αντίθετα, όπως έδειξε και το διάγραμμα, αναπτύχθηκε, αλλά σε λιγότερο βαθμό, λόγω της παρουσίας των οξυγαλακτικών. Επομένως, η διατηρησιμότητα του τυριού και η ασφαλής κατανάλωσή του αυξήθηκε εξαιτίας της παρουσίας των οξυγαλακτικών βακτηρίων και εξαιτίας της ταυτόχρονης παρεμπόδισης της ανάπτυξης της *Listeria monocytogenes*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενογλώσση Βιβλιογραφία

- Abeijón Mukdsi, M.C., Medina, R.B., Katz, M.B., Pivotto, R., Gatti, P. and Gonzalez, S.N. (2009). Contribution of lactic acid bacteria esterases to the release of fatty acids in miniature ewe's milk cheese models. *J. Agric. Food Chem.* 57: pp. 1036–44.
- Accolas, J.P., Hemme, D., Desmazeaud, M.J., Vassal, L., Bouillanne, C., Veaux, M. (1980). Thermophilic lactic starter: Properties and behavior in dairy technology. A Review. *Lait* 60: pp. 487-524.
- Adak, G.K., Long, S.M. and O'Brien, S.J. (2002). Trends in indigenous food-borne disease and deaths. England and Wales: 1992 to 2000. *Gut* 51, pp. 832-841.
- Adams, M.R. and Moss, M.O. (2000). *Food Microbiology*. Eds. The Royal Society of Chemistry, pp. 225-232.
- Aguirre, M. and Collins, M.D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of Applied Bacteriology* 75, pp. 95-107.
- American Public Health Association, *Microbiological Examination of Foods*. (2001). vol. 36, pp. 343-353.
- Angelidis, A.S. and Smith, G.M. (2003a). Role of the Glycine Betaine and Carnitine Transporters in Adaptation of *Listeria monocytogenes* to Chill Stress in Defined Medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (12), pp. 7492-7498.
- Angelidis, A.S. and Smith, G.M. (2003b). Three transporters mediate uptake of glycine betaine and carnitine by *Listeria monocytogenes* in response to hyperosmotic stress. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (2), pp. 1013-1022.
- Anonymous, (1999). Update: multistate outbreak of listeriosis-United States, 1998-1999. *Morbidity and Mortality Weekly Reports*, 47: pp. 1117-1118.
- Anonymous, (2000). Multistate outbreak listeriosis-United States, 2000. *Morbidity and Mortality Weekly Reports*, 49: pp. 1129-1130.
- Anonymous, (2001). Outbreak of listeriosis associated with Homemade Mexican-Style Cheese-North Carolina, October 2000-January 2001. *Morbidity and Mortality Weekly Reports*, 50: pp. 560-562.
- Arthur, M.A. (2002). Emerging microbiological food safety issues. *Food Technology*, 56, pp. 48-51.
- Ashamed, N. and Marth, E.H. (1990). Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21 and 35C° in tryptose broth acidified with acetic, lactic or citric acid. *Journal of Food Protection*, 52: pp. 688.

- Audurier, A. and Martin, C. (1989). Phage typing of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 8, pp. 251-257.
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen S., von Wright A., Ouwehand A. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects*, third ed. Marcel Dekker, New York, pp. 1–66.
- Axelsson, T. Lars. (1993). *LAB: Classification and physiology*. Sweden: Salmisen S., Van Wright A. and Marcel Decker In.
- Baron, S. (1996). *Medical Microbiology*. 4th ed. Texas: University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Beals, N. (2004). Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH and Osmotic Stress: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science*, vol. 3, pp. 1-20.
- Beech, I.B. and Gaylarde, C.C. (1989). Adhesion of *Desulfovibrio desulfuricans* and *Pseudomonas fluorescens* to mild steel surfaces, *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 67, pp. 201-207.
- Belessi, C. I. A., Papanikolaou, S., Drosinos, E.H. and Skandamis, P. N. (2008). Survival and acid resistance of *Listeria innocua* in Feta cheese and yogurt, in the presence or absence of fungi, *Journal of Food Protection*, vol. 71, pp. 742-749.
- Bereksi, N., Gavini, F., Bénézech, T., Faille, C. (2002). Growth, morphology and surface properties of *Listeria monocytogenes* Scott A and LO28 under saline and acid environments. *J Appl Microbiol* 92: pp. 556-65.
- Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L. and Cogan, T.M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11, pp. 259–274.
- Bertozzi, L. and Panari, G. (1993). Cheese with Appellation d' Origine Controllee (AOC). Factors that affect quality, *International Journal of Dairy foods*.
- Best, M., Kennedy, M.E. and Coates, F. (1990). Efficacy of a variety of disinfectants against *Listeria spp*. *Applied Environmental Microbiology*, 56(2): pp. 377-80.
- Beverly, R. L., (2004). The control, survival, and growth of *Listeria monocytogenes* on food products. PhD thesis, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana.
- Bisbiroulas, P., Psylou, M., Iliopoulou, I., Diakogiannis, I., Berberi, A. and Mastronicolis, S.K. (2011). Adaptational changes in cellular phospholipids and fatty acid composition of the food pathogen *Listeria monocytogenes* as a stress response to disinfectant sanitizer benzalkonium chloride. *Letters in Applied Microbiology*, vol. 52, pp. 275-280.

- Blanco, J.L., Domingues, L., Gomez-Lucia, E., Garayzabal, J.F.F., Goyache, J. and Suarez, G. (1988). Behavior of aflatoxin during the manufacture, ripening and storage of Manchego-type cheese, *Journal of Food Science*, 53, pp. 1373- 1376.
- Borch, E., Berg, H., Holst, O. (1991). Heterolactic fermentation by a homofermentative *Lactobacillus* sp. during glucose limitation in anaerobic continuous culture with complete cell recycle. *Journal of Applied Bacteriology* 71, pp. 265– 269.
- Boutrou, R., Sepulchre, A., Pitel, G., Durier, C., Vassal, L., Gripon, J.C., Monnet, V. (1998). Lactococcal lysis and curd proteolysis – 2. Predictable events important for the development of cheese flavor. *Int. Dairy J.* 8: pp. 609-616.
- Boziaris, I.S., Nychas, G-JE. (2006). Effect of nisin on growth boundaries of *Listeria monocytogenes* Scott A, at various temperatures, pH and water activities. *Food Microbiol* 23: pp. 779-84.
- Brito, J. R. F., Santos, E. M. P., Arcuri, E. F., Lange, C. C., Brito, M. A. V. P. and Souza, G. N. (2008). Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and acontaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness, and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 74, pp. 4954–4961.
- Broome, M.C., Hickey, M.W. (1991). Peptidase activity of nonstarter *Lactobacilli*. *Austr. J. Dairy Technol.* 46: pp. 19-23.
- Bundrant, B.N., Hutchins, T., den Bakker, H.C., et al. (2011). Listeriosis outbreak in dairy cattle caused by an unusual *Listeria monocytogenes* serotype 4b strain. *J Vet Diagn Invest*, 23: pp. 155-158. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21217050>
- Burton, J.P. and Tannock, G.W. (1997). Properties of Porcine and Yogurt *Lactobacilli* in Relation to Lactose Intolerance. *J Dairy Sci* 80: pp. 2318–2324.
- Cabanes, D., Dehoux, P., Dussurget, O., Frangeul, L. and Cossart, P. (2002). Surface proteins and the pathogenic potential of *Listeria monocytogenes*. *TRENDS in Microbiology*, vol. 10, pp. 238-245.
- Calicioglu, M., Sofos, J.N., Kendall, P.A. (2003). Influence of marinades on survival during storage of acid-adapted and nonadapted *Listeria monocytogenes* inoculated post-drying on beef jerky. *Int J Food Microbiol* 86: pp. 283-92.
- Campbell, B.R., Balasubramanian, S.V. and Straubinger, R.M. (2001). Phospholipid-cationic lipid interactions: influences on membrane and vesicle properties. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, vol. 1512, pp 27-39.
- Canadian Health Federal Department. (2011). Policy on *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Foods, Identification number: FD-FSNP-2011, Canadian Health Federal Department, Ontario.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, pp. 131-149.

- Carlin, F., Nguyen-the, C., Da Silva, A.A., Cochet, C. (1996). Effects of carbon dioxide on the fate of *Listeria monocytogenes*, of aerobic bacteria and on the development of spoilage in minimally processed fresh endive. *Int J Food Microbiol* 32: pp. 159-72.
- Centeno, J.A., Menendez, S., Hermida, M. and Rodriguez-Otero, J.L. (1999). Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. *Int. J. Food Microbiol.* 48: pp. 97–111.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Listeriosis (*Listeria* infection). Available from: <http://www.cdc.gov/listeria/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2021). *Listeria* Outbreak Linked to Queso Fresco Made by El Abuelito Cheese Inc. <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/hispanic-soft-cheese-02-21/index.html>
- Center for Infectious Disease Research and Policy, University of Minnesota. Listeriosis. Available from:
<http://www.cidrap.umn.edu/cidrap/content/fs/food-disease/causes/listerioview.html>
- Center for Food Safety and Public Health (CFSPH). Listeriosis. Available from: <http://www.cfsp.iastate.edu/Factsheets/pdfs/listeriosis.pdf>
- Chapotchartier, M.P. (1996). Autolysins of Lactic Acid Bacteria. *Lait* 76: pp. 91-109.
- Charteris, W.P., Kelly P.M., Morelli L. and Collins J.K. (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Bifidobacterium isolates from the human gastrointestinal tract. *Letters in Applied Microbiology*, 26, pp. 333-337.
- Cogan, T.M., Daly, C. (1987). Cheese starter cultures. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, ed P. F. Fox, Elsevier Appl. Sci. London, Engl. Volume 1, pp. 178-249.
- Cogan, T.M., et al. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, v. 64, n. 3, pp. 409-421.
- Collins, B., Cotter, P.D., Hill, C. and Ross, R.P. (2011). The impact of nisin on sensitive and resistant mutants of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 110 (6), pp. 1509-1514.
- Collins, M.D., Rodrigues, U., Ash, C., Aguirre, M., Farrow, J.A.E., Martinez-Murcia, A., Phillips, B.A., Williams, A.M. and Wallbanks, S. (1991a). Phylogenetic analysis of the genus *Lactobacillus* and related lactic acid bacteria as determined by reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *FEMS Microbiology Letters*, 77, pp. 5-17.
- Conner, D.E., Scott, V.N. and Bernard, D.T. (1990). Growth inhibition and survival of *Listeria monocytogenes* as affected by acidic conditions. *Journal of Food Protection*, 53: pp. 652.
- Conte, M.P., Petrone, G., Di Biase, A.M., Ammendolia, M.G., Superti, F., Seganti, L. (2000). Acid tolerance in *Listeria monocytogenes* influences invasiveness of enterocyte-like cells and macrophage-like cells. *Microb Pathogenesis* 29: pp. 137-44.

- Cooper, J. and Walker, R.D. (1998). Listeriosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 14: pp. 113-125.
- Cosentino, S., Fadda, M.E., Deplano, M., Melis, R., Pomata, R. and Pisano, M.B. (2012). Antilisterial activity of nisin-like bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from traditional Sardinian dairy products. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, art. no. 376428.
- Cotter, P.D., Gahan, C.G.M., Hill, C. (2000). Analysis of the role of the *Listeria monocytogenes* F0F1-ATPase operon in the acid tolerance response. *Int J Food Microbiol* 60: pp. 137-46.
- Czechowski, M. H. (1990). Gasket and stainless steel surface sanitation: environmental parameters affecting bacterial attachment. *Australian Journal of Dairy Technology*, vol. 45, pp. 38.
- Datta, A.R. (2003). *Listeria monocytogenes*, in Miliotis M.D & Bier J.W (Ed's), *International Handbook Of Foodborne Pathogens*, Marcel Dekker Inc, NY. pp. 100-103.
- Davis, W.G. (1965). *Cheese*, Vol. I. Churchill Ltd, London.
- Di Cagno, R., Quinto, M., Corsetti, A., Minervini, F. and Gobbetti, M. (2006). Assessing the proteolytic and lipolytic activities of single strains of mesophilic lactobacilli as adjunct cultures using a Caciotta cheese model system. *Int. Dairy J.* 16: pp. 119–30.
- Diekman, M.A. and Green, M.L. (1992). Mycotoxins and Reproduction in Domestic Livestock, *Journal of Animal Science*, 70, pp. 1615-1627.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) and EFSA (European Food Safety Authority). (2019). Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8 infections linked to consumption of cold-smoked fish products. EFSA supporting publication 2019: EN-1665. 20 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2019.EN-1665.
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1665>
- Edgcomb, M.R., Sirimanne, S., Wilkinson, B.J., Drokin, P. and Morse, R.D.II. (2000). Electron paramagnetic resonance studies of the membrane fluidity of the foodborne pathogenic psychrotroph *Listeria monocytogenes*. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, vol. 1463, pp. 31-42.
- El Soda, M. (1986). Acceleration of cheese ripening Recent advances. *J. Food Protect.* 49: pp. 395- 399.
- El Soda, M., Desmazeaud, M.J., Aboudonia, S., Bardan, A. (1982). Acceleration of cheese ripening by the addition of extracts from *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus lactis* to the cheese curd. *Milchwissenschaft* 37: pp. 325-327.
- Eom, S., Jung, Y., Yoon, K. (2009). Effect of sanitizer stress response on the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* on imitation crabmeat and in broth as a function of temperature. *J Food Safety* 29: pp. 564-74.

- European Centre for Disease Prevention and Control. (2010). Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2010. Stockholm. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1011_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2011). Annual Epidemiological Report. Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2020). <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/listeriosis-annual-epidemiological-report-2017>
- European commission. (1999). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on *Listeria monocytogenes*. European commission health & consumer protection directorate - general.
- European Commission Health and Consumer Protection Directorate-General. (1999). Opinion of the scientific committee on veterinary measure relating to public health on *Listeria monocytogenes*, (http://europa.eu.comm/food/fs/sc/scv/out25_en.pdf)
- European Food Safety Authority (EFSA). (2008). Zoonoses data collection reports. http://www.efsa.europa.eu/en/science/monitoring_zoonoses/reports.html
- FAO/WHO. (2011). Codex Alimentarius, Milk and milk products, Second edition.
- Farber, J.M. (1992). Prevention and control of bovine listeriosis. Dairy Food of Environmental Sanitation, 122, pp. 334-340.
- Farber, J.M. and Peterkin, P.I. (1991). *Listeria Monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen, *Microbiological Reviews*, vol. 55, pp. 476-511.
- Farber, J.M. and Peterkin, P.I. (2000). The microbiological safety and quality of food, Vol. II Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Vol. II, ch. 44, pp.1179 – 1216.
- Farber, J.M., Coates, F. and Daley, E. (1992). Minimum water activity requirements for the growth of *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, 15(3): pp. 103-5.
- Farkye, N.Y., Fox, P.F., Fitzgerald, G.F., Daly, C. (1990). Proteolysis and flavor development in Cheddar cheese made exclusively with single strain proteinase-positive or proteinase- negative starters. J. Dairy Sci. 73: pp. 874-880.
- Fernandes, C.F., Chandan, R.C. and Shahani, K.M. (1992). Fermented Dairy Products and Health. In: B.J.B. Wood (editor) The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, I. Elsevier *Applied Science*, London/New York.
- Food and Drug Administration (FDA). (2003). Quantitative Assessment of Relative Risk to Public Health from Foodborne *Listeria monocytogenes* Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods, Appendix 8: Growth of *Listeria monocytogenes*. <http://www.fda.gov/downloads/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/UCM197321.pdf>

- Food and Drug Administration (FDA). (2008). Guidance for Industry: Control of *Listeria monocytogenes* in Refrigerated or Frozen Ready To Eat Foods; Draft Guidance. www.fda.gov/food/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidancedocuments/foodprocessi nghaccp/ucm073110.htm
- Fox, P.F. (1996). Cheese: Chemistry, physics and microbiology, vol. 1 General aspects, Chapman and Hall, London.
- Fox, P.F. (1999). Cheese: Chemistry, physics and Microbiology, General Aspects, Second edition, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, vol. 1.
- Fox, P.F. (1999). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol.1, Chapter 1: An overview (Aspen Publication), pp. 23-24.
- Fox, P.F. and Stepaniak, L. (1993). Enzymes in Cheese Technology, International Dairy Journal 3, pp. 509-530.
- Fox, P.F. and Wallace, J.M. (1997). Formation of flavor compounds in cheese. Advances in Food Microbiology, 45, pp. 17–85.
- Fox, P.F., Lucey, J.A. and Cogan, T.M. (1990). Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 29(4), pp. 237-253.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M. and Guinee, T.P. (2004). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 2 – Major Cheese Groups, 3rd Edition.
- Freitas, A. C. and Malcata, F. X. (1999). Technological optimisation of Picante cheese using microbiological, chemical, and physical criteria, *Journal of Food Engineering*, vol. 41, pp.163-175.
- FSAI. (2005). The control and management of *Listeria monocytogenes* contamination of food. http://www.fsai.ie/publications/reports/listeria_report.pdf
- Gallagher, R.B. (1996). Enter *Listeria*, unruffled, *Science*, vol. 27, p. 1825.
- Gandhi, M., Chikindas, M.L. (2007). *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 113, pp. 1-15.
- Garrity, G.M. and Holt, J.G. (2001). The road map to the manual. In: Boone DR, Castenholz RW (eds.) *Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology*, Springer Verlag, New York.
- Gelin, B.G. and Broome, C.V. (1989). Listeriosis. *Jama*, 261, pp. 1313-1320.
- Georgala, A., Karali, F., Moatsou, G., Kaminarides, S. (2009). The presence of aflatoxin M1 in cheeses, *Greek Journal and Dairy Science and Technology*, 1, pp. 27-41.
- Gerhardt, N.P. (1994). The role of the cell surface in the pathogenesis of *Listeria motocytogenes*, *Medical Microbiology*, vol. 5, p. 220.
- Gerhardt, P.N.M., Smith, L.T. and Smith, G.M. (2000). Osmotic and chill activation of glycine betaine porter II in *Listeria monocytogenes* membrane vesicles, *Journal of Bacteriology*, vol. 182, pp. 2544-2550.

- Gianotti, A., Serrazanetti, D., Kamdem, S.S. and Guerzoni, M.E. (2008). Involvement of cell fatty acid composition and lipid metabolism in adhesion mechanism of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 123, pp. 9–17.
- Gibson, H., Taylor, J. H., Hall, K. E. and Hollah, J. T. (1999). Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of removal of bacterial biofilms. *International Journal of Applied Microbiology*, 95, pp. 29-39.
- Giraffa, G. (2004). Studying the dynamics of microbial populations during food fermentation. *FEMS Microbiology Reviews*, 28, pp. 251-260.
- Gobetti, M., Fox, P.F., Stepaniak, L. (1997). Isolation and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum*-2739. *J. Dairy Sci.* 80: pp. 3099-3106.
- Goldfine, H. and Wadsworth, S.J. (2002). Macrophage intracellular signaling induced by *Listeria monocytogenes*. *Microbes and Infection*, 4, pp. 1335-1343.
- Gomez, M.J., Gaya, P., Nunez, M., Medina, M. (1996). Debittering activity of peptidases from selected *Lactobacilli* strains in model cheeses. *Milchwissenschaft* 51: pp. 315-319.
- Goulet, V. and Marchetti, P. (1996). Listeriosis in 225 non-pregnant patients in 1992: clinical aspects and outcome in relation to predisposing conditions. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 28, pp. 367-374.
- Graves, L.M., Hesel, L.O., Steigerwalt, A.G., Morey, R.E., Daneshvar, M.I., Roof, S.E., Orsi, R.H., Fortes, E.D., Milillo, S.R., den Bakker, H.C., Wiedmann, M., Swaminathan, B. and Sauders, B.D. (2010). *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, vol. 60, pp. 1280–1288.
- Hansen, E.B. (2002). Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future, *International Journal of Food Microbiology*, 78.
- Hansen, E.B. (2002). Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International Journal of Food Microbiology*, 78, pp. 119-131.
- Harper, W.J. and Hall, C.W. (1976). *Dairy Technology and Engineering*, AVI Publ. Co., Westport Conn.
- Harrison, T. R. and Wintrobe, M. M. (1970). *Harrison's principles of internal medicine*, Mc Graw-Hill book company.
- Health Protection Agency (HPA). Listeriosis.
Available from: http://www.hpa.nhs.uk/web/HPAwebFile/HPAweb_C/1194947407995
- Heinz, W.D., Essen, L. and Williams, L.R. (1998). Structural and mechanistic comparison of prokaryotic and eukaryotic phosphoinositide-specific phospholipases C, *Journal of Molecular Biology*, vol. 275, pp. 635-650.

- Henry, B.S. (1933). Dissociation in the genus *Brucella*. *Journal of Infectious Diseases*, vol. 52, pp. 374-402.
- Heymann, DL. (2008). *Control of Communicable Diseases Manual*. Washington DC: American Public Health Association; pp. 357-361.
- Hill, C., Cotter, P.D., Sleator, R.D., Gahan, C.G.M. (2002). Bacterial stress response in *Listeria monocytogenes*: Jumping the hurdles imposed by minimal processing. *Int Dairy J* 12: pp. 273-83.
- Hoelzer, K., Pouillot, R., Gallagher, D., Silverman, M.B., Kause, J. and Dennis, S. (2012). "Estimation of *Listeria monocytogenes* transfer coefficients and efficacy of bacterial removal through cleaning and sanitation", *International journal of food microbiology*, 157(2), pp. 267-277.
- Hof, H. and Rocourt, J. (1992). Is any strain of *Listeria monocytogenes* detected in food a health risk?. *International Journal of Food Microbiology*, 16: pp. 173-82.
- Hof, H. (1996). *Miscellaneous Pathogenic Bacteria*. In: Baron S, (ed). *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Holzapfel, W.H., Geisen, R., Schillinger, U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24, pp. 343–362.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U. and Huisint Veld, J.H.J. (1998). Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, pp. 85-101.
- Holzapfel, W., Woods, B. (2014). *Lactic acid bacteria – Biodiversity and taxonomy*, John Wiley and Sons, pp. 37-38.
- Holzapfel, W.H., Wood, B.J.B. (2014). [Lactic acid bacteria](#): biodiversity and taxonomy. John Wiley & Sons Inc. Chichester, West Sussex, UK.
- Hoover, D.G. (1993). Bacteriocins with potential for use in foods in *Antimicrobials in Foods*. Eds. P.M. Davidson and A.L. Branen. Marcel Dekker, New York, pp. 181-90.
- ICMSF. (1980). *Microorganisms in Foods 3: Microbial Ecology of Foods, Volume 1: Factors Affecting life and Death of Microorganisms*. Eds. New York: Academic Press.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). (1996). *Microorganisms in foods 5. Characteristics of microbial pathogens*. 1st ed. London: Blackie Academic & Professional. pp. 513.
- ICMSF. (1998). *Microorganisms in Foods 6, Microbial Ecology of Food Commodities*. Eds. Blackie Academic & Professional, pp. 26-576.
- Imhof, R., Bosset, J.O. (1994). Relationships between microorganisms and formation of aroma compounds in fermented dairy products. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 198: pp. 267-276.
- Ivanek, R., Gröhn, Y.T., Tauer, L.W. and Wiedmann, M. (2004a). The cost and benefit of *Listeria monocytogenes* food safety measures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (7-8), pp. 513-523.

- Ivanek, R., Gröhn, Y.T., Wiedmann, M. and Wells, M.T. (2004b). Mathematical model of *Listeria monocytogenes* cross-contamination in a fish processing plant, *Journal of food protection*, 67(12), pp. 2688-2697.
- Ivanek, R., Gröhn, Y.T., Wiedmann, M. and Wells, M.T. (2004c). Mathematical model of *Listeria monocytogenes* cross-contamination in a fish processing plant. <http://author.cals.cornell.edu/cals/foodsci/research/labs/wiedmann/links/upload/Ivanek2004.xls>
- Jackson, K.A., Biggerstaff, M., Tobin-D'Angelo, M., et al. (2011). Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* associated with Mexican-style cheese made from pasteurized milk among pregnant, Hispanic women. *J Food Prot*, 74(6): pp. 949-953. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21669072>
- Jandal, J.M. (1996). Comparative aspects of goat and sheep milk, *Small Ruminant Research*, Volume 22, Issue 2, pp. 177-185.
- Jay, J.M. (2000). Foodborne Listeriosis, *Modern Food Microbiology*, 6th Edition. Aspen Publishers Inc, Gaithersburg, Maryland, pp. 485-510.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A., (2005). *Modern food microbiology*. 7th ed. New York: Springer. pp. 790.
- Jones, D. (1998). The place of *Listeria* among gram-positive bacteria. *Infection*, vol. 16 (Suppl. 2), pp. 85-88.
- Jones, S., Drouin, P., Wilkinson, B. and Morse, P.D. II. (2002). Correlation of long-range membrane order with temperature-dependent growth characteristics of parent and a cold-sensitive, branched-chain-fattyacid- deficient mutant of *Listeria monocytogenes*, *Archives of Microbiology*, vol. 177, pp. 217-222.
- Junttila, J.R., Niemela, S.L. and Hirn, J. (1988). Minimum Growth temperatures of *Listeria* in non-haemolytic *Listeria*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65: pp. 321.
- Jydegaard-Axelsen, A.M., Aaes-Jørgensen, A., Koch, A.G., Jensen, J.S., Knøchel, S. (2005). Changes in growth, rRNA content, and cell morphology of *Listeria monocytogenes* induced by CO₂ up- and downshift. *Int J Food Microbiol* 98: pp. 145-55.
- Kamkar, A., Karim, G., Shojaee Aliabadi, F. and Kheskar, R. (2008). Fate of aflatoxin M1 in Iranian white cheese processing, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 6, pp. 2236-2238.
- Kandler, O. (1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 49(3), pp. 209-224.
- Karagözlu, C., Kinik, O., and Akbulut, N. (2008). Effects of fully and partial substitution of NaCl by KCl on physico-chemical and sensory properties of white pickled cheese, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 59, pp. 181–191.

- Karaioannoglou, P., Koidis, P., Papageorgiou, D., Mantis, A. (1985). Survival of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Feta cheese. *Milchwissenschaft* 40: pp. 204-206.
- Katsiari, M.C., Alichanidis, E., Voutsinas, L.P. and Roussis, I.G. (2001). Proteolysis in reduced sodium Kefalograviera cheese made by partial replacement of NaCl with KCl, *Food Chem.*, 73, pp. 31–43.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Alichanidis E. and Roussis, I.G. (2000). Lipolysis in reduced sodium Feta cheese made by partial substitution of NaCl by KCl, *Int. Dairy J.*, 10, pp. 369–373; 635-646.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Alichanidis, E. and Roussis, I.G. (1997). Reduction of sodium content in Feta cheese by partial substitution of NaCl by KCl, *Int. Dairy J.*, 7, pp. 465–472.
- King, T., Ferenci, T., Szabo, E.A. (2003). The effect of growth atmosphere on the ability of *Listeria monocytogenes* to survive exposure to acid, proteolytic enzymes and bile salts. *Int J Food Microbiol* 84: pp. 133-43.
- Klein, G., Pack, A. and Reuter, G. (1998). Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany. *Appl. Environ. Microbiol*, 64, pp. 1825-1830.
- Ko, R., Smith, L. and Smith, G. M. (1994). Glycine Betaine Confers Enhanced Osmotolerance and Cryotolerance on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Bacteriology*. 176(2): pp. 426-431.
- Koch, J., Dworak, R., Prager, R., et al. (2010). Large listeriosis outbreak linked to cheese made from pasteurized milk, Germany, 2006-2007. *Foodborne Pathog Dis*, 7: pp. 1581-1584. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20807110>
- Kosikowski, F., Mistry, W. (1997). *Cheese and Fermented Milk Foods*, F.V. Kosikowski, L.L.C. Publs., Westport, Conn.
- Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P. N. and Drosinos, E. H. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels, *Food Control*, vol. 21, pp. 805-815.
- Kovačević, J., Mesak, L.R. and Allen, K.J. (2012). Occurrence and characterization of *Listeria* spp. in ready-to-eat retail foods from Vancouver, British Columbia. *Food Microbiology*, 30 (2), pp. 372-378.
- Kumar, C. and Anand, S. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 42, pp. 9-27.
- Lado, B. H. (2003). Characteristics of *Listeria monocytogenes* important for pulsed electric field process optimization. PhD thesis, Ohio State University, Ohio.

- Lado, B.H., Yousef, A.E. (2007). Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria, listeriosis, and food safety*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press. pp. 157-213.
- Lane, C.N., Fox, P.F. (1997). Role of starter enzymes during ripening of Cheddar cheese made from pasteurized milk under controlled microbiological conditions. *Int. Dairy J.* 7: pp. 55- 63.
- Law, B.A. (Ed). (1997). *Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*. Second edition. Blackie academic & professional. London, UK.
- Law, J., Fitzgerald, G.F., Daly, C., Fox, P.F., Farkye, N.Y. (1992). Proteolysis and flavor development in Cheddar cheese made with the single starter strains *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Uc317 or *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* HP. *J. Dairy Sci.* 75: pp. 1173-1185.
- Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P.A., Le Fleche-Mateos, A., Roche, S.M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M. and Allerberger, F. (2010). *Listeria rocourtaie* sp. nov. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, vol. 60, pp. 2210-2214.
- Leimester-Wachter, M., Domann, E. and Chakraborty, T. (1991). Detection of a gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C that is co-ordinately expressed with listeriolysin in *Listeria monocytogenes*. *Molecular Microbiology* 5, pp. 361-366.
- Leistner, L. and Gorris, L.G.M. (1995). Food preservation by hurdle technology. *Trends in Food Science and Technology*, 6, pp. 41-46.
- Leite, P., Rodrigues, P., Ferreira, M., Ribeiro, G., Jacquet, C., Martin, P. and Brito, L. (2006). Comparative characterisation of *Listeria monocytogenes* isolated from Portuguese farmhouse ewe's cheese and from humans. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 106, pp. 111-121.
- Lekkas, G., Kakouri, A., Palaiologos, E., Voutsinas, L.P., Kontominas, M.G. and Samelis, J. (2006). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Galotyri cheese stored at 4 and 12 °C, *Food Microbiology*, vol. 23, pp. 268-276.
- Lemieux, L., Simard, R.E. (1991). Bitter flavor in dairy products. 1. A Review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. *Lait* 71: pp. 599-636.
- Leroi, F., Arbey, N., Joffraud, J.J. and Chevalier, F. (1996). Effect of inoculation with lactic acid bacteria on extending the shelf-life of vacuum-packed cold smoked salmon. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, pp. 497-504.
- Leroy, F., De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science and Technology*, 15.
- Lianou, A. and Sofos, J.N. (2007). A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *Journal of Food Protection*, 70 (9), pp. 2172-2198.

- Liserre, A.M., Landgraf, M., Destro, M.T., Franco, B.D.G.M. (2002). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* strain in modified atmosphere-packaged Brazilian sausage. *Meat Sci* 61: pp. 449-55.
- Lorber, B. (1997). Listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, 24:1.
- Lou, Y. and Yousef, A.E. (1999). Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors, pp. 131-224. In E.T. Ryser and E.H. Marth. Eds. *Listeria, listeriosis and food safety*. 2nd edition Marcel Dekker, New York.
- Low, J.C. and Donachie, W. (1997). A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Veterinary Journal*, 153: pp. 9-29.
- Lucke, F.K. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56, pp. 105–115.
- Lynch, C.M., Mc Sweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cogan, T.M., Drinan, F.D. (1997). Contribution of starter *Lactococci* and nonstarter *Lactobacilli* to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* 77: pp. 441-459.
- Macedo, A.C., Malcata, F.X. (1997). Role of adventitious microflora in proteolysis and lipolysis of Serra cheese: Preliminary screening. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 204: pp. 453-455.
- Mano, S.B., Garcia de Fernando, G.D., Lopez-Galvez, D., Selgas, M.D., Garcia, M.L., Cambero, M.I., Ordonez, J.A. (1995). Growth/survival of natural flora and *Listeria monocytogenes* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged under modified atmospheres. *J Food Safety* 15: pp. 305-19.
- Marilley, L. and Casey, M.G. (2004). Flavors of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90, pp. 139-159.
- Marron, L., Emerson, N., Gahan, C.G. and Hill, C. (1997). A mutant of *Listeria monocytogenes* L028 unable to induce an acid tolerance response displays diminished virulence in a marine model. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, pp. 4945-4947.
- Masniyom, P., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2006). Synergistic antimicrobial effect of pyrophosphate on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in modified atmosphere packaged and refrigerated seabass slices. *LWT-Food Sci Technol* 39: pp. 302-7.
- Mastronicolis, S.K., German, J.B., Megoulas, N., Petrou, N., Foka, E.P. and Smith, G. M. (1998). Influence of cold shock on the fatty-acid composition of different lipid classes of the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, vol. 15, pp. 299-306.
- Mastronicolis, S.K., Boura, A., Karaliota, A., Magiatis, P., Arvanitis, N., Litos, C., Tsakirakis, A., Paraskevas, P., Moustaka, H. and Heropoulos, G. (2006). Effect of cold temperature on the composition of different lipid classes of the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*: Focus on neutral lipids. *Food microbiology*, vol. 23, pp. 184-194.

- Mastronicolis, S.K., Berberi, A., Diakogiannis, I., Petrova, E., Kiaki, I., Baltzi, T. and Xenikakis, P. (2010). Alteration of the phospho- or neutral lipid content and fatty acid composition in *Listeria monocytogenes* due to acid adaptation mechanisms for hydrochloric, acetic and lactic acids at pH 5.5 or benzoic acid at neutral pH. *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 98, pp. 307-316.
- Mastronicolis, S.K., Diakogiannis, I., Berberi, A., Bisbiroulas, P., Soukoulis, C. and Tzia, C. (2011). Effect of cold adaptation on the survival of *Listeria monocytogenes* in ice-cream formulations during long-term frozen storage. *Annals of Microbiology*, vol. 61, pp. 931-937.
- McMeekin, T.A., Brown, J., Krist, K., Miles, D., Neumeyer, K., Nichols, D.S., Olley, J., Presser, K., Ratkowsky, D.A., Ross, T., Salter, M. and Soontranon, S. (1997). Quantitative Microbiology: A Basis for Food Safety Emerging Infectious Diseases, 3 (4), pp. 541-549.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Breese, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M. and Tauxe, V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease* 5, pp. 607-625.
- Meelheuc, T., Methivier, C., Renault, M., Herry, J.M., Pradier, C.M. and Bellon-Fontaine, M.N. (2006). Adsorption on stainless steel surfaces of biosurfactants produced by gram-negative and gram-positive bacteria: Consequence on the bioadhesive behavior of *Listeria monocytogenes*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 52, pp. 128-137.
- Melas, D.S., Papageorgiou, D.K., Abraham, A. and Mantis, A. (2001). Survival of *Aeromonas hydrophila* during the manufacture and ripening of Feta cheese. *Milchwissenschaft*. 56: pp. 257-261.
- Mena, C., Almeida, C., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T. and Gibbs, P. (2003). Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 213-216.
- Mengaud, J., Braun-Breton, C. and Cossart, P. (1991). Identification of phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity in *Listeria monocytogenes*: a novel type of virulence factor?. *Molecular Microbiology* 5, pp. 367-372.
- Meyer, J. and Spahni, A. (1998). Influence of X-prolyl-dipeptidylaminopeptidase of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* on proteolysis and taste of Swiss Gruyere cheese. *Milchwissenschaft* 53: pp. 449-53.
- Miladi, H. A. B., Bakhrouf, A. A. and Ammar, E. B., (2013). Cellular lipid fatty acid profiles of reference and food isolates *Listeria monocytogenes* as a response to refrigeration and freezing stress. *Journal of Food Biochemistry*, Article in Press.
- Milillo, S.R., Friedly, E.C., Saldivar, J.C., Muthaiyan, A., O'Bryan, C., Crandall, P.G., Johnson, M.G. and Ricke, S.C. (2012). A Review of the Ecology, Genomics, and Stress Response of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52 (8), pp. 712- 725.

- Miller, A.J. (1992). Combined water activity and solute effects on growth and survival of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 55(6): pp. 414-18.
- Morgan, F., Bonnin, V., Mallereau, M.P. and Perrin, G. (2001). Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture, ripening and storage of soft lactic cheese made from raw goat milk, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 64, pp. 217-221.
- Moser, J., Gerstel, B., Meyer, J., Chakraborty, T., Wehland, J. and Heinz, D. W. (1997). Crystal structure of the phosphatidylinositol-specific phospholipase C from the human pathogen *Listeria monocytogenes*, *Journal of Molecular Biology*, vol. 273, pp. 269-282.
- Moss, M.O. (1989). Mycotoxins of *Aspergillus* and other filamentous fungi, *Journal of Applied Bacteriology Symp. Suppl.*, pp. 69S-81S.
- Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado, CDC. Available from: <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/index.html>
- Murray, E.G.D., Webb, R.A., Swann, M.B.R. (1926). A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus, *Bacterium monocytogenes* (n. sp.). *Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 29, pp. 407-439.
- Murray, E.G.D., Webb, R.A. and Swann, H.B.R. (1926). A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed *Bacillus Bacterium monocytogenes* (n.sp.). *Journal Pathology Bacteriology*. 29, pp. 407–439.
- Nilsson, L., Huss, H.H., Gram, L. (1997). Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere. *Int J Food Microbiol* 38: pp. 217-27.
- Nilsson, L. and Gram, L. (2002). Improving the control of pathogens in fish products. *In Safety and Quality in Fish processing ed. Bremner, H.A.* pp. 54–84. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.
- Nissen, H., Alvseike, O., Bredholt, S., Holck, A., Nesbakken, T. (2000). Comparison between the growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques. *Int J Food Microbiol* 59: pp. 211-20.
- Norrung, B., Andersen, J.K. and Schlundt, J. (1999). Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 195- 203.
- O' Sullivan, L., Morgan, S., Ross, R., Hill, C. (2002). Elevated enzyme release from Lactococcal Starter Cultures on exposure to the Lantibiotic Lacticin 481, produced by *Lactococcus lactis* DPC 5552. *Journal Dairy Science* 85, pp. 2130–2140.
- Ockerman, H. W. and Basu, L. (1999). A Review of *Listeria monocytogenes* – A Pathogen That Likes Refrigerated Temperatures, research and reviews: meat, pp. 172. http://ohioline.osu.edu/sc172/sc172_16.html
- Ohmiya, K., Sato, Y. (1972). Studies on the proteolytic action of dairy lactic acid bacteria PartXII.

Significant contribution of lactic acid bacteria to the casein hydrolysis in cheese ripening. *Milchwissenschaft* 27: pp. 417-422.

- Orla-Jensen, S. (1919). *The Lactic Acid Bacteria*. Fred Host and Son. Copenhagen.
- Orsi, R.H., den Bakker, H.C. and Wiedmann, M. (2011). *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic Characteristics. *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 301, pp. 79–96.
- Outbreak of invasive listeriosis associated with the consumption of hog head cheese, Louisiana, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011, 8:60(13): pp. 401-405. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21471946>
- Papadopoulou, O.S., Chorianopoulos, N.G., Gkana, E.N., Grounta, A.V., Koutsoumanis, K.P. and Nychas, G.-E. (2012). "Transfer of foodborne pathogenic bacteria to non-inoculated beef fillets through meat mincing machine", *Meat Science*, 90(3), pp. 865-869.
- Papageorgiou, D.K. and Marth, E.H. (1989). Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of Feta cheese, *Journal of Food Protection*, vol. 52, pp. 82-87.
- Papageorgiou, D.K., Bori, M. and Mantis, A. (1996). Growth of *Listeria monocytogenes* in the whey cheeses Myzithra, Anthotyros, and Manouri during storage at 5, 12, and 22 °C, *Journal of Food Protection*, vol. 59, pp. 1193-1199.
- Pappas, C.P., Kondyli, E., Voutsinas, L.P., Mallatou, H. (1996a). Effects of starter level, draining time and aging on the physicochemical, organoleptic and rheological properties of Feta cheese. *J. Soc. Dairy Technol.* 49: pp. 73-78.
- Parker, C., Hutkins, R.W. (1997). *Listeria monocytogenes* Scott A transports glucose by high-affinity and low-affinity glucose transport systems. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, pp. 543-546.
- Pearson, L.J. and Marth, E.H. (1990). *Listeria monocytogenes*: Threat to a safe food supply: A review, *Journal of Dairy Science*, vol.73, pp. 912-928.
- Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., Carrasco, E., García, R.M. and Zurera, G. (2008). "Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review", *Trends in Food Science and Technology*, 19(3), pp. 131-144.
- Pfeiler, E.A. and Klaenhammer, T.R. (2007). The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiol*, 15, pp. 546-553.
- Pinar, H. (2011). Listeriosis. *Pathology Case Reviews*, 16 (5), pp. 189-194.
- Pine, L., Malcolm, G.B., Brooks, J.B. and Daneshvar, M.I. (1989). Physiological studies on the growth and utilization of sugars by *Listeria* species. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 35, pp. 245–254.
- Pirie, J.H.H. (1927). A new disease of veld rodents. "Tiger River disease.", *South African Institute of Medical Research*, vol. 3, pp. 163–186.

- Pirie, J.H.H. (1940). The genus *Listerella pirie*. *Science*, vol. 91, p. 383.
- Postma, P.W., Lengeler, J.W. and Jacobson, G.R. (1993). Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. *Microbiol Rev*, 57(3), pp. 543-594.
- Pradhan, A.K., Ivanek, R., Gröhn, Y.T., Bukowski, R. and Wiedmann, M. (2011). "Comparison of public health impact of *Listeria monocytogenes* product-to-product and environment-to-product contamination of deli meats at retail". *Journal of food protection*, 74, (11), pp. 1860-1868.
- Pradhan, A.K., Ivanek, R., Grohn, T.Y., Geonaras, I., Sofos, J., and Wiedmann, M. (2008). Cornell University. mgg53 Pradhan et al Deli Meat Risk.
<http://foodscience.cornell.edu/cals/foodsci/research/labs/wiedmann/links/pradhan-et-al-deli-meat-risk.cfm>
- Pradhan, A.K., Renata, I., Gröhn, Y.T., Robert, B., Ifigenia, G., Sofos, J.N. and Martin, W. (2010). "Quantitative risk assessment of listeriosis-associated deaths due to *Listeria monocytogenes* contamination of deli meats originating from manufacture and retail", *Journal of food protection*, 73(4), pp. 620-630.
- Rajagopal, S.N., Sandine, W.E. (1990). Associative growth and proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk. *J. Dairy Sci.* 73: pp. 894-899.
- Ramaswamy, V., Cresence, V.M., Rejitha, J.S., Lekshmi, M.U., Dharsana, K.S., Prasad, S.P. and Vijila, H.M. (2007). *Listeria* - Review of epidemiology and pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 40 (1), pp. 4-13.
- Rayner, J., Veeh, R. and Flood, J. (2004). Prevalence of microbial biofilms on selected fresh produce and household surfaces. *International Journal of Food Microbiology*, 95, pp. 29-39.
- Rebhun, W.C. and deLahunta, A. (1982). Diagnosis and treatment of bovine listeriosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 180: pp. 395-398.
- Rodgers, S. (2001). Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures – a review. *Trends in Food Science and Technology*, 12, pp. 276–284.
- Rogga, K.J., Samelis, J., Kakouri, A., Katsiari, M.C., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. (2005). Survival of *Listeria monocytogenes* in Galotyri, a traditional Greek soft acid-curd cheese, stored aerobically at 4 °C and 12 °C, *International Dairy Journal*, vol. 15, pp. 59-67.
- Romick, T.L., Fleming, H.P. and McFeeters, R.F. (1996). Aerobic and anaerobic metabolism of *Listeria monocytogenes* in defined glucose medium. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 62, pp. 304–307.
- Roudot Algaron, F., Mireille, Y. (1998). Aromatic and branched chain amino acids catabolism in *Lactococcus lactis*. *Lait* 78: pp. 23-30.
- Russell, N.J. (2002). Bacterial membranes: the effects of chill storage and food processing. An overview, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 79, pp. 27-34.

- Ryser, E.T., Arimi, S.M. and Donnelly, C.W. (1997). Effects of pH on distribution of *Listeria* ribotypes in com, hay and grass silage. *Applied and Environmental Microbiology*, Sep 63(9): pp. 3695-7.
- Ryser, E.T. and Donnelly, C.W. (2001). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Eds. American Public Health Association, pp. 343- 356
- Ryser, E.T. and Marth, E.H. (2007). Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in Cheese and Other Fermented Dairy Products In: *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, E.T. Ryser and E.H. Marth, 3rd ed, CRC Press, pp. 405-501.
- Ryser, E.T. and Marth, E.H. (2007). The Genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic Position, Taxonomy and Identification In: *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, E.T. Ryser and E.H. Marth, 3rd ed, CRC Press, pp. 1-20.
- Savijoki, K., Ingmer, H. and Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(4), pp. 394-406.
- Schillinger, U., Geisen, R., and Holzapfel, W.H. (1996). Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 7, pp. 158–164.
- Schukken, Y.H., Grohn, Y.T. and Wiedmann, M. (2003). Epidemiology of listeriosis in: Torrence and Isaacson, *Microbial Food Safety in Animal Agriculture*. Eds. Iowa State Press, United States, pp. 221-232, foodborne pathogens: a review. *Cultured Dairy Products Journal* November: pp. 14-20.
- Scott, R. (1981). *Cheesemaking Practice*, Practice, Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Scott, R. (1986). *Cheesemaking practice*, Appl. Sci. Publ. Ltd. London 7th edition. FAO/WHO, CAM/M 1-1973, Rome.
- Scott, R. (1986). *Cheesemaking Practice*, 2nd edition, Elsevier, London.
- Seeliger, H. P. R., Jonesy, D. (1986). Genus *Listeria pirie* 1940, In: P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, pp. 1235-1245.
- Sergelidis, D., Abraham, A., Sarimvei, A., Panoulis, C., Karaioannoglou, P. and Genigeorgis, C. (1997). Temperature distribution and prevalence of *Listeria* spp. in domestic, retail and industrial refrigerators in Greece, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 34, pp. 171-177.
- Servin, A.L. (2004). Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 28, pp. 405-440.
- Shaw, B.G. and Harding, C.D. (1984). *Letters of Applied Bacteriology* 56, pp. 25-40.
- Sinde, E. and Carballo, J. (2000). Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiology*, vol. 17, pp. 439–47.

- Slutsker, L. and Schuchat, A. (1999). Listeriosis in humans. In E.T. Ryser and Marth, *Listeria listeriosis and food safety* (2nd edition, pp.75-95, New York, NY: Marcel Dekker, Inc.
- Sorrells, K.M., Enigl, D.C. and Hatfield, J.R. (1989). Effect of pH, acidulant, time and temperature on the growth and survival of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 50: pp. 730.
- Sridhar, V.R., Hughes, J.E., Welker, D.L., Broadbent, J.R. and Steele, J.L. (2005). Identification of endopeptidase genes from the genomic sequence of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 and the role of these genes in hydrolysis of model bitter peptides. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: pp. 3025–32.
- Stadhouders, J., Hup, G., Exterkate, F.A., Visser, S. (1983). Bitter flavor in cheese. 1. Mechanism of formation of the bitter flavor defect in cheese. *Neth. Milk Dairy J.* 37: pp. 157-167.
- Stecchini, M.L., Del Torre, M., Venir, E. (2004). Growth of *Listeria monocytogenes* as influenced by viscosity and water activity. *Int J Food Microbiol* 96: pp. 181-7.
- Steele, J.L., Unlu, G. (1992). Impact of Lactic - Acid Bacteria on cheese flavor development. *Food Technol.* 46: pp. 128-135.
- Stiles, M.E. and Holzapel, W.H. (1997). *International Journal of Food Microbiology.* 36. pp. 1-19.
- Stiles, M.E., Holzapel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *International Journal of Food Microbiology*, 36(1).
- Stiles, M.E. and Holzapel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, pp. 1-29.
- Swaminathan, B., Gerner-Smidt, P., (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect* 9: pp. 1236-43.
- Swaminathan, B., Cabanes, D., Zhang, W., Cossart, P., (2007). *Listeria monocytogenes*. In: Doyle MP, Beuchat LR, editors. *Food microbiology: Fundamental and frontiers*. 3rd ed. Washington DC: ASM Press. pp. 457-91.
- Szabo, E.A., Cahill, M.E. (1998). The combined affects of modified atmosphere, temperature, nisin and ALTATM 2341 on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol* 43: pp. 21-31.
- Taillefer, C., Boucher, M., Laferrière, C. and Morin, L. (2010). Perinatal listeriosis: Canada's 2008 outbreaks. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC = Journal d'obstétrique et gynécologie du Canada: JOGC*, 32 (1), pp. 45-48.
- Tamine, A.Y. (2002). Microbiology of starter cultures. In. *Dairy Microbiology Handbook*, Third Ed., Wiley-Interscience Inc. Canada.
- Tannock, G.W. (1999). Identification of lactobacilli and bifidobacteria. *Curr Issues Mol Biol*, 1, pp. 53-64.

- Tasara, T. and Stephan, R. (2006). Cold stress tolerance of *Listeria monocytogenes*: A review of molecular adaptive mechanisms and food safety implications. *Journal of Food Protection*, 69 (6), pp. 1473-1484.
- Temelli, S., Anar, S., Sen, C. and Akyuva, P. (2006). Determination of microbiological contamination sources during Turkish white cheese production, *Food Control*, vol. 17, pp. 856-861.
- Todar, K. (2012,a). *Listeria monocytogenes*, Todar's on line textbook of microbiology. <http://textbookofbacteriology.net/Listeria.html>
- Todar, K. (2012,b). Nutrition and Growth of Bacteria, Todar's on line textbook of microbiology. http://www.textbookofbacteriology.net/nut_gro_5.html
- Tompkin, R.B., Christiansen, L.N., Shaparis, A.B., Baker, R.L. and Schroeder, J.M. (1992). Control of *Listeria monocytogenes* in processed meats. *Food Australia*, 44, pp. 370- 376.
- Tompkin, R.B., Scott, V.N., Bernard, D.T., Sveum, W.H. and Gombas, K.S. (1999). Guidelines to Prevent Post-Processing Contamination from *Listeria monocytogenes*. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 19 (8), pp. 551-562.
- Tsakalidou, E. and Papadimitriou, K. (2011). *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*, Boston, MA: Springer US.
- Tsakirakis, A., Boubalou, C., Papageorgiou, S., Mastronicolis, S. (1999). 4th Mediterranean Conference on Calorimetry and Thermal Analysis, Patra, Greece, Aug. 29 – Sept. 1, proceedings, 113.
- United States Department of Agriculture. (1999). *Listeria* guidelines for industry. <http://www.fsis.usda.gov/oa/topics/lmguide.htm>
- United States Food and Drug Administration. (1992). *Listeria monocytogenes* Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap6.html>
- United States Food and Drug Administration. (2001). Draft assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to- eat foods. <http://www.foodsafety.gov/~dms/lmrisk.html>
- Vamam, A.H. and Sutherland, J.P. (1994). *Milk and Milk Products, Technology, chemistry and microbiology*, Chapman & Hall, London.
- Van Egmond, H.P. (1991). Mycotoxins, *International Dairy Federation, Special Issue*, 9101, pp. 131-135.
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K. and Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a Consensus Approach to Bacterial Systematics. Pp. 408-414. *Laboratory of Microbiology, University of Gent, Gent, Belgium*.

- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kerster, K. and Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy. A consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology Reviews*, 60. Pp. 407-438.
- Vernazza, C.L., Rabi, B.A. and Gibson G.R. (2012). Human Colonic Microbiology and the Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics. *prebiotics: Development and Application*.
- Visser, R. Holzappel, W.H., Bezuidenhout, J.J. and Kotze, J.M. (1986). Antagonism of Lactic Acid Bacteria against Phytopathogenic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, Sept., pp. 552-555, Vol. 52. No. 3.
- Vogel, R.F., Pohle, B.S., Tichaczek, P.S. and Hammes, W.P. (1993). The competitive advantage of *L. curvatus* LTHI 174 in sausage fermentations is caused by formation of curvacin A. *System. Applied Microbiology*, 16, 457-462.
- Walker, S.J., Archer, P. and Banks, J.G. (1990). Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 68: pp. 157-62.
- Walls, I. (2005). "Achieving continuous improvement in reductions in foodborne listeriosis - A risk-based approach". *Journal of food protection*, 68(9), pp. 1932-1994.
- Walstra, P. and Jenness, R. (1984). *Dairy chemistry & physics*, John Wiley & Sons, New York, USA.
- Walter, H., Hargrove, E. (1972). *Cheeses of the world*, Dover Publications Inc., New York.
- Wong, N.P. (1988). *Fundamentals of Dairy Chemistry*, Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Young, K.D. (2006). The selective value of bacterial shape. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70 (3), pp. 660-703.
- Zerfiridis, G.K. (1985). Potential aflatoxin hazards to human health from direct mold Teleme cheese, *Journal of Dairy Science*, 68, pp. 2184-2188.
- Zhang, X., Wu, S., Li, K., Shuai, J., Dong, Q. and Fang, W. (2012). Peptide nucleic acid fluorescence in situ hybridization for identification of *Listeria* genus, *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii*. *International Journal of Food Microbiology*, Article in Press.

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Ανυφαντάκης, Ε.Μ. (1989). *Τυροκομεία*, Εκδόσεις Καραμπελόπουλος, Αθήνα.
- Ανυφαντάκης, Ε.Μ. (2004). *Τυροκομεία*, Β' έκδοση, Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα, Σελ. 51-52.
- Αρσένη, Α. (1994). *Κλινική μικροβιολογία και εργαστηριακή διάγνωση λοιμώξεων*. Τόμος 1, ΖΗΤΑ ιατρικές εκδόσεις, 4η έκδοση.
- Αστερή, Ι.Α. (2011). *Νέα στελέχη οξυγαλακτικών βακτηρίων από ελληνικά παραδοσιακά τυριά- Μελέτη του τεχνολογικού δυναμικού, των φυσιολογικών ιδιοτήτων και του πλασμιδιακού περιεχομένου*, Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Βεινόγλου, Β. και Ανυφαντάκης, Ε. (1981). *Γαλακτοκομεία*, Τόμος Β', Εκδόσεις Καραμπελόπουλος, Αθήνα.
- Βουδούρης, Ε.Κ. και Κοντομηνάς, Μ.Γ. (1999). *Εισαγωγή στη Χημεία Τροφίμων, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών βιβλίων*, 1999, Αθήνα, 231-233.
- Βουδούρη, Ε.Κ., Κοντομηνά, Μ.Γ. (2009). *Εισαγωγή στην Χημεία των Τροφίμων, Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων*.
- Εθνική Επιτροπή Γάλακτος Ελλάδος. (1989). *Τριήμερο Επιμορφωτικό Σεμινάριο στην Τυροκομεία, Γάλα-Τυροκόμηση και Παραδοσιακά Τυριά*, Β' Έκδοση, Λάρισα.
- Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας (ΕΟΔΥ). (2020). *Επιδημιολογικά δεδομένα για τη Λιστερίωση στην Ελλάδα, 2004-2019. Σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων. Τμήμα Τροφιμογενών και Υδατογενών Νοσημάτων*, Αθήνα.
- Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ.). (2010). *Επιδημιολογικά δεδομένα για τη λιστερίωση στην Ελλάδα. Κέντρο Διαθέσιμο στο:*
<http://www.keelpno.gr/images/stories/keelpno/nosimata/ektheseis/2009/listeriosi.pdf>
- Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. (2008).
- Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης. (2005). *Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 2073/2005 της Επιτροπής της 15ης Νοεμβρίου 2005 περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα*, 1-25.
- ΕΦΕΤ. (2012). *Γενικός Οδηγός για την Εφαρμογή Συστήματος Βάσει των Αρχών του HACCP σε Μικρές Γαλακτοκομικές Επιχειρήσεις*, Κεντρική Υπηρεσία ΕΦΕΤ Διεύθυνση Ελέγχων Επιχειρήσεων, Αθήνα.
- Ζερφυρίδης, Γ.Κ. (1989). *Τεχνολογία Προϊόντων Γάλακτος, Ι Τυροκομεία*, Εκδόσεις Γαργατάνη, Θεσσαλονίκη.
- Ζερφυρίδης, Γ.Κ. (1998). *Διατροφή του Ανθρώπου*, Δ' Έκδοση. Εκδόσεις Γιαχούδη-Γιαπούλη, Θεσσαλονίκη.
- Ζερφυρίδης, Γ.Κ. (2001). *Τεχνολογία Προϊόντων γάλακτος – Ζυμούμενα προϊόντα*, Παγωτό, Κρέμα-Βούτυρο, 2η Έκδοση, Θεσσαλονίκη 2001.

- Ζερφυρίδης, Γ.Κ. (2001). Τεχνολογία Προϊόντων Γάλακτος – Τυροκομεία, 2η Έκδοση, Θεσσαλονίκη, 2001.
- Καλατζόπουλος, Γ. (1987). Μαθήματα εφαρμοσμένης μικροβιολογίας γάλατος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Εκδόσεις Καραμπελόπουλος, Αθήνα.
- Κανονισμοί (ΕΚ) αριθ. 852/2004, 853/2004, 2073/2005.
<https://eur-lex.europa.eu/homepage.html>
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1/2005 της Επιτροπής της 15ης Νοεμβρίου, 2005 «περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα».
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1441/2007 της Επιτροπής της 5ης Δεκεμβρίου, 2007 «περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα».
- Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ). (Οκτώβριος 2011). Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης, Υπουργείο Υγείας, Γραφείο Τροφιμογενών Νοσημάτων.
- Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ). (Αύγουστος 2012). Υπουργείο Υγείας, Γραφείο Τροφιμογενών Νοσημάτων.
- Κεχαγιάς, Χ. (1997). Τεχνολογία γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων.
- Κεχαγιάς, Χ. (2004). Ευνοϊκές επιδράσεις στην υγεία από τη χρησιμοποίηση μικροοργανισμών στα ζυμούμενα γάλατα και διαμόρφωση νέου πλαισίου για την περιγραφή τους. Πρακτικά 3^{ου} Πανελληνίου Συμποσίου Υγιεινής και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα.
- Κεχαγιάς, Χ. (2011). Γάλα, Επιστήμη, Τεχνολογία και Έλεγχοι για τη Διασφάλιση της Ποιότητας, Κεφ.9.
- Κύρου, Α.Τ. (1999). Λιστέρια – Λιστεριώσεις, Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος, vol. 12, pp. 73-75.
- Κώδικας Τροφίμων, Ποτών και Αντικειμένων Κοινής Χρήσης. (2009). Γενικό Χημείο Κράτους. Αθήνα.
- Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. (2011). Άρθρο 83, Ενότητα Α, Έκδοση 2.
- Μάντης, Α.Ι. (1991). *Υγιεινή και Τεχνολογία του Γάλακτος και των Προϊόντων του*, 2η Έκδοση, Εκδόσεις Αφοί Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη.
- Μάντης, Α. (1993). *Υγιεινή και Τεχνολογία του Γάλατος και των προϊόντων του*. Εκδόσεις Κυριακίδη (2η έκδοση) Θεσσαλονίκη, pp. 1339.
- Μάντης, Α.Ι. (2000). *Υγιεινή και τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του*, Τόμος Γ΄, Εκδόσεις Αδελφών Κυριακίδη Α.Ε., Θεσσαλονίκη.
- Οδηγία 92/46/ΕΟΚ του Συμβουλίου της 16ης Ιουνίου 1992 για τη θέσπιση των υγειονομικών κανόνων για την παραγωγή και την εμπορία νοπού γάλακτος, θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος και προϊόντων με βάση το γάλα, 1992.

Διαδικτυακή Βιβλιογραφία

- The food safety file *L. monocytogenes*, 2008.
<http://www.fooddoctors.com/FSF/L.%20monocytogenes.pdf>
- https://huankai.en.alibaba.com/product/60323610738-213151924/Chromogenic_medium_Chromogenic_Listeria_monocytogenes_Agar.html
- <https://microbeonline.com/listeria-monocytogenes-pathogenesis-lab-diagnosis/>
- https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.126?error=server_error
- <https://microbiologyclass.com/lactic-acid-bacteria-lab/>
- https://www.researchgate.net/publication/235427606_ISOLATION_IDENTIFICATION_AND_CHARACTERIZATION_OF_LACTIC_ACID_BACTERIA_FROM_DAIRY_SLUDGE_SAMPLE
- <https://www.thermofisher.com/blog/food/lactic-acid-bacteria-the-food-friendly-source-for-antimicrobial-bacteriocins/>