



Σχολή Επιστημών Τροφίμων

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μεταβιοτικά και εφαρμογές τους στα τρόφιμα και την υγεία

English Title

Postbiotics and their applications in food and health

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Γεώργιος Δεληγιώργης

Georgios Deligiorgis

ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ:14011

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Παναγιώτης Ζουμπουλάκης, Αν. Καθηγητής

Panagiotis Zoumpoulakis, Assoc. Professor

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023

Έγινε δεκτή

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη πτυχιακή εργασία με **τίτλο**
Μεταβιοτικά και εφαρμογές τους στα τρόφιμα και την υγεία που παρουσιάστηκε από
τον Γεώργιο Δεληγιώργη και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

4/10/2023

Παναγιώτης Ζουμπουλάκης

4/10/2023

Σπυρίδων Κοντελής

4/10/2023

Ευτυχία Κρίτση

Περιεχόμενα

1.Περίληψη.....	1
Abstract.....	2
Μεθοδολογία συγγραφής πτυχιακής εργασίας.....	3
2.Θεωρητικό υπόβαθρο	5
2.1Εισαγωγικά στοιχεία	5
2.2 Ορισμός των Μεταβιοτικών.....	6
2.3 Κατηγορίες των μεταβιοτικών	7
2.4 Κριτήρια χαρακτηρισμού μεταβιοτικών σκευασμάτων	7
2.5 Ασφάλεια	8
2.6 Οφέλη παραγωγής.....	8
2.7 Τεχνολογικοί παράγοντες στον χαρακτηρισμό.....	9
2.8 Αδρανοποίηση	9
2.9 Παράμετροι αδρανοποίησης	11
2.10 Ρυθμιστικά ζητήματα.....	11
3.Επιμέρους συστατικά των μεταβιοτικών.....	14
3.1Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου- SCFA	14
3.1.1Βουτυρικό οξύ (BA).....	14
3.1.2 Προπιονικό οξύ (PA).....	15
3.1.3 Οξικό οξύ (AA)	16
3.2 Υπερκείμενα προϊόντα φυγοκέντρωσης	17
3.3 Ένζυμα	19
3.4 Βιοδραστικά πεπτίδια.....	19
3.5 Βακτηριακά λύματα	20
3.6 Εξωπολυσακχαρίτες.....	21
3.7 Θραύσματα κυτταρικού τοιχώματος	22
3.8 Υπεροξειδίο του υδρογόνου	22
3.9 Βιταμίνες	23
4.Μεταβιοτικά και εφαρμογές στην υγεία.....	24
4.1Ενίσχυση της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού.....	24
4.2Τροποποίηση ανοσολογικών αποκρίσεων	25

4.3Μελέτες σε ζώα.....	26
4.4Μελέτες σε ανθρώπους.....	27
4.5 Γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί.....	28
4.6 Αντιβακτηριακές επιδράσεις των μεταβιοτικών.....	28
4.7 Αντιβακτηριακοί μηχανισμοί των μεταβιοτικών.....	29
4.7.1 Μεταβιοτικά με βάση οργανικά οξέα.....	30
4.7.2 Μεταβιοτικά με βάση τα λιπαρά οξέα.....	30
4.7.3 Πεπτιδικής φύσης μεταβιοτικά.....	30
4.7.4 Μεταβιοτικά με βάση τις βακτηριοσίνες.....	30
4.8 Αντικές επιδράσεις των μεταβιοτικών.....	31
4.9 Αντιοξειδωτικές επιδράσεις των μεταβιοτικών.....	32
4.10Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί μεταβιοτικών.....	33
4.11Αντικαρκινική δράση των μεταβιοτικών.....	34
4.12Αντικαρκινικοί μηχανισμοί των μεταβιοτικών.....	36
4.12.1 Μείωση της βακτηριακής μετάδοσης.....	36
4.12.2 Αναστολή μεταλλαξιογόνων και καρκινογόνων παραγόντων.....	36
4.12.3 Ενεργοποίηση προ-αποπτωτικών οδών κυτταρικού θανάτου.....	36
4.12.4 Αυξημένη εντερική οξύτητα.....	37
4.13 Μελλοντικές κλινικές εφαρμογές.....	37
5. Εφαρμογές μεταβιοτικών στα Τρόφιμα.....	39
5.1 Βιοσυντήρηση τροφίμων.....	39
5.1.1 Γαλακτοκομικά προϊόντα.....	39
5.1.2 Προϊόντα κρέατος.....	39
5.2 Η Επίδραση των Παραγόντων Τροφίμων στην Απόδοση των Μεταβιοτικών.....	40
5.2.1 Εσωτερικοί παράγοντες.....	41
5.2.2 Φυσικοχημικοί παράγοντες.....	41
5.3 Μικροενθυλάκωση Μεταβιοτικών.....	41
5.4 Εφαρμογές των μεταβιοτικών ως αντιβιοφίλμ.....	42
5.5 Μεταβιοτικά στη Συσκευασία Τροφίμων.....	43
5.6 Λειτουργικά τρόφιμα.....	44
6. Συμπεράσματα.....	46
7. Βιβλιογραφικές αναφορές.....	48

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας1.Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου –SCFA που παράγονται από την μικροχλωρίδα του εντέρου.....	17
Πίνακας2.Αντιοξειδωτικές εφαρμογές των μεταβιοτικών.....	33
Πίνακας3.Πιθανή αντικαρκινική δράση των μεταβιοτικών.....	35

1.Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί σε σημαντικό κομμάτι της επιστημονικής έρευνας το αντικείμενο των μεταβιοτικών. Η παρούσα πτυχιακή εργασία αποσκοπεί στο να εξετάσει το θέμα των μεταβιοτικών και να αποτυπώσει πιθανές εφαρμογές τους στον τομέα της υγείας και των τροφίμων. Για να επιτευχθεί αυτός ο σκοπός, συγκεντρώθηκε επιστημονικό υλικό από βάσεις δεδομένων καθώς και τη βιβλιογραφία σχετικά με τα μεταβιοτικά. Συνοψίζοντας, τα μεταβιοτικά έχουν πολλαπλές ιδιότητες. Χαρακτηρίζονται από αντιμικροβιακές, αντικαρκινικές, αντιβακτηριακές,αντικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Έχουν δυνατότητες εφαρμογής στην (βιο)συντήρηση, στη συσκευασία τροφίμων και διαδραματίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία διάφορων ασθενειών, όπως η νόσος του ευερέθιστου εντέρου. Καθότι η έρευνα βρίσκεται σε αρχικά στάδια καθίσταται αναγκαία περαιτέρω διερεύνηση για τους μηχανισμούς λειτουργίας τους, τις εφαρμογές και ιδιότητές τους.

Λέξεις-Κλειδιά:μεταβιοτικά, προβιοτικά, πρεβιοτικά, τρόφιμα, υγεία, συσκευασία τροφίμων

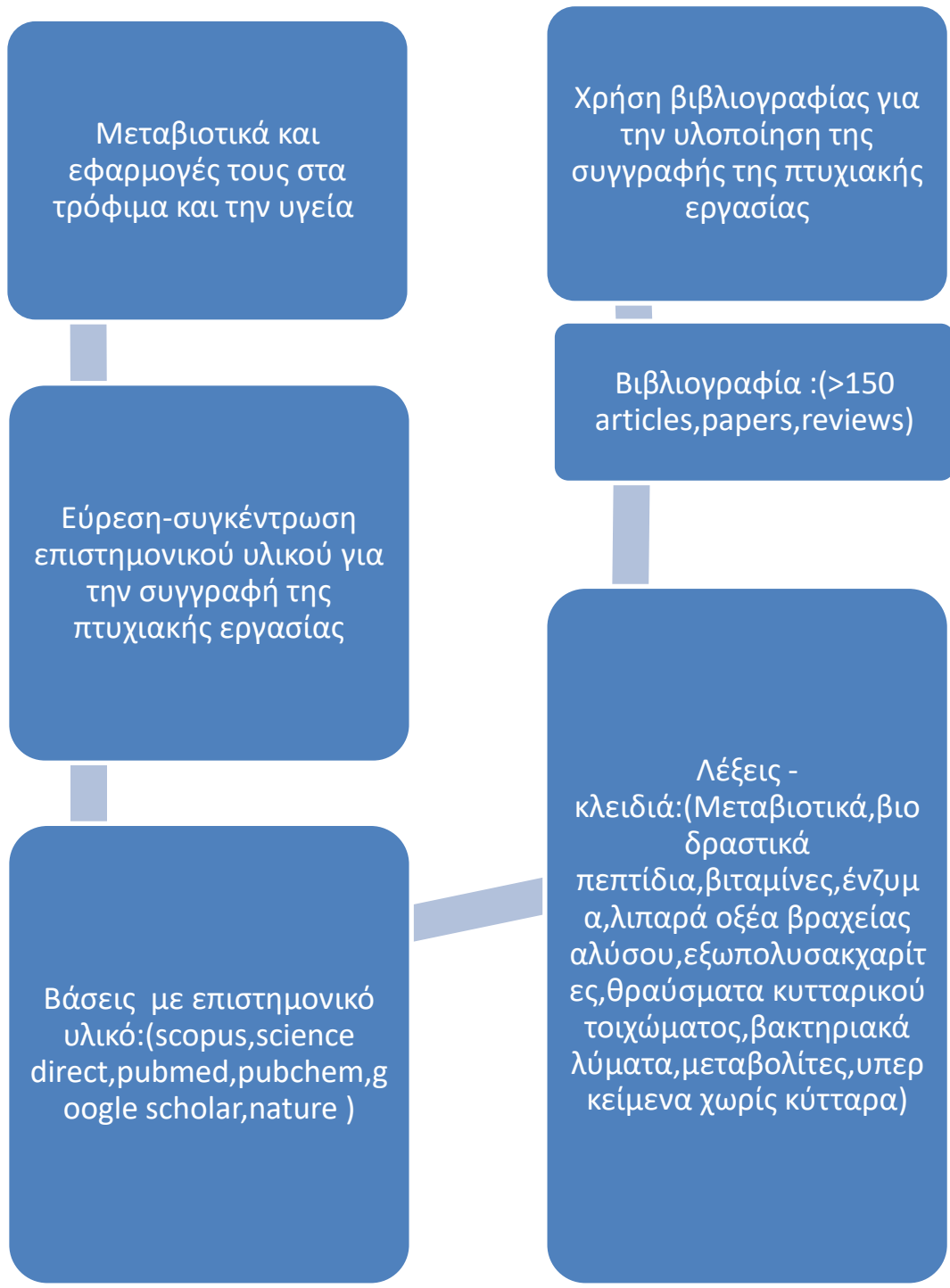
Abstract

In recent years, the subject of postbiotics has become an important part of scientific research. This dissertation aims to examine the issue of postbiotics and to capture their possible applications in the field of health and food. To achieve this, scientific material was collected from databases on postbiotics. In summary, postbiotics have multiple properties such as antimicrobial, anticancer, antibacterial, antiviral and antioxidant. They have application in (bio)preservation, food packaging and have an equally important role in the prevention and treatment of various diseases, such as irritable bowel disease. Nevertheless, since research is in its infancy, further studies are required on their mechanisms of action, applications and properties.

Keywords: postbiotics, probiotics, prebiotics, foods, health, food packaging

Μεθοδολογία συγγραφής πτυχιακής εργασίας

Για να πραγματοποιηθεί η βιβλιογραφική ανασκόπηση χρειάστηκε σε πρώτο χρόνο να συγκεντρωθεί επιστημονικό υλικό(αναφορές,άρθρα) σχετικά με τα μεταβιοτικά και τις εφαρμογές τους στα τρόφιμα και στην υγεία.Η επιστημονική έρευνα άρχισε να συστηματικοποιείται και να αυξάνονται οι αναφορές σχετικά με τα μεταβιοτικά (postbiotics) μετά την 2^η δεκαετία του 21^{ου} αιώνα.Σε δεύτερο χρόνο με την αξιοποίηση της συγκεντρωμένης βιβλιογραφίας επετεύχθει η συγγραφή της παρούσας πτυχιακής εργασίας.



2.Θεωρητικό υπόβαθρο

2.1Εισαγωγικά στοιχεία

Τον 21^ο αιώνα έχει αποδειχτεί αναμφισβήτητα ο ρόλος που διαδραματίζει η ανθρώπινη μικροχλωρίδα στην ανθρώπινη υγεία. Ο μικροβιακός βióτοπος ή αλλιώς μικροβιόκοσμος εντός του ανθρώπινου γαστρεντερικού σωλήνα είναι ο τόπος μιας πολύπλοκης και δυναμικής αμοιβαίας σχέσης μεταξύ της μικροχλωρίδας του εντέρου και του ξενιστή. Ο αρχικός σχεδιασμός του ανοσοποιητικού συστήματος και του μικροβιόκοσμου από την αρχή της εγκυμοσύνης και μέχρι και τον απογαλακτισμό παίζει σημαντικό και καθοριστικό ρόλο ως προς το μικροβίωμα ,την ανοσολογική λειτουργία και την συνολική υγεία των ενηλίκων. Η σχέση και η αλληλεπίδραση των αλλαγών στην μικροχλωρίδα με την βελτίωση της ανθρώπινης υγείας είναι μια έννοια που τα τελευταία χρόνια είναι εξίσου σημαντική για τους καταναλωτές,τους παραγωγούς τροφίμων,τις ρυθμιστικές αρχές και τους επαγγελματίες υγείας. Ο μικροβιόκοσμος μπορεί να ρυθμιστεί και να επηρεαστεί μέσω της διατροφής,όπως από τρόφιμα τα οποία έχουν υποστεί ζύμωση και τροφές πλούσιες σε φυτικές ίνες ,καθώς και από συμβιοτικά,προβιοτικά,πρεβιοτικά, τα οποία είναι και διαθέσιμα ως ιατροτεχνολογικά προϊόντα και φάρμακα ,καθώς και ως τρόφιμα ή τρόφιμα ειδικού ιατρικού σκοπού.

Στο παρελθόν έχουν δημοσιευθεί ορισμοί συναίνεσης σχετικά με τα πρεβιοτικά ,προβιοτικά και συμβιοτικά. Τα προβιοτικά είναι «ζωντανοί μικροοργανισμοί που, όταν χορηγηθούν σε επαρκή ποσότητα, προσδίδουν οφέλη στην υγεία του ξενιστή» ,ενώ ένα πρεβιοτικό είναι ένα «υπόστρωμα που δύναται να χρησιμοποιηθεί από μικροοργανισμούς-ξενιστές που προσδίδουν όφελος στην υγεία. Τα συμβιοτικά που αρχικά θεωρήθηκαν ως συνδυασμός προβιοτικών και πρεβιοτικών, έχουν πλέον οριστεί ως «ένα μείγμα που περιλαμβάνει ζωντανούς μικροοργανισμούς και υπόστρωμα που χρησιμοποιείται επιλεκτικά από τους μικροοργανισμούς του ξενιστή που προσδίδουν οφέλη στην υγεία του ξενιστή».

Η έννοια των μεταβιοτικών σχετίζεται με αυτήν την ομάδα όρων και αναμένεται να εφαρμοστεί ως ένα σημαντικό εργαλείο στην τεχνολογία τροφίμων και στον τομέα της υγείας.

2.2 Ορισμός των Μεταβιοτικών

Ο όρος «μεταβιοτικό» έχει επιλεγθεί ως ένα σύνθετο του «βιοτικού», όπου ορίζεται ως βιοτικό, επειδή σχετίζεται ή προκύπτει από ζωντανούς μικροοργανισμούς και από το «μετά». Αυτή η σύνθεση των δύο όρων σημαίνει μετά την ζωή, δηλαδή μη ζωντανοί οργανισμοί ή άψυχα συστατικά. Σύμφωνα με τους (Aziz Homayouni Rad et al.,2021) μεταβιοτικά είναι μεταβολίτες που παράγονται από τα βακτήρια που ζουν στο έντερο και τα προβιοτικά βακτήρια σε τρόφιμα που έχουν υποστεί ζύμωση. Εν αντιθέσει με βάση τους (Salminen et al,2021), μεταβιοτικό ορίζεται ως ένα «παρασκεύασμα νεκρών μικροοργανισμών ή/και συστατικών τους που ωφελεί την υγεία του ξενιστή».

Για να αντιμετωπιστεί η διχογνωμία στην επιστημονική κοινότητα σχετικά με τον ορισμό των μεταβιοτικών και λόγω της στενής σχέσης με την οικογένεια των όρων των πρεβιοτικών,προβιοτικών,συμβιοτικών και καθώς τα μεταβιοτικά εμφανίστηκαν ως ένα σημαντικό εργαλείο στην υγεία και στα τρόφιμα,ο ISAPP(Διεθνής Επιστημονική Ένωση Πρεβιοτικών και Προβιοτικών) ,2021 συνεδρίασε και διατύπωσε συγκεκριμένα συμπεράσματα σχετικά με τα μεταβιοτικά:

- Ως μεταβιοτικό ορίζεται το «παρασκεύασμα νεκρών μικροοργανισμών ή/και συστατικών τους που προσφέρει όφελος στην υγεία του ξενιστή».
- Τα μεταβιοτικά είναι σκοπίμως αδρανοποιημένα μικροβιακά κύτταρα με ή χωρίς μεταβολίτες ή κυτταρικά συστατικά που προσδίδουν οφέλη στην υγεία.
- Στα μεταβιοτικά δεν περιλαμβάνονται τα εμβόλια και οι απομονωμένοι μικροβιακοί μεταβολίτες.
- Τα μεταβιοτικά δεν χρειάζεται να προέρχονται από κάποιο προβιοτικό για να γίνει αποδεκτή η αδρανοποιημένη έκδοχί τους ως μεταβιοτικό.
- Οι ευεργετικές επιδράσεις των μεταβιοτικών στην υγεία πρέπει να επιβεβαιωθούν στον ξενιστή στόχο (είδος και υποπληθυσμός).
- Στους ξενιστές περιλαμβάνονται άνθρωποι, ζώα και άλλοι οργανισμοί.
- Ο τόπος δράσης των μεταβιοτικών δεν περιορίζεται στο έντερο. Τα μεταβιοτικά πρέπει να μπορούν να χορηγούνται σε επιφάνειες του ξενιστή, όπως το δέρμα, η στοματική κοιλότητα, η ουρογεννητική οδός, το έντερο, ή ο ρινοφάρυγγας. Οι ενέσεις είναι εκτός του πεδίου εφαρμογής των μεταβιοτικών.

- Το μεταβιοτικό πρέπει να εκπληρώνει τα κριτήρια ασφάλειας για την προβλεπόμενη χρήση.

Δεν είναι καινούργια διαπίστωση ότι οι μη ζωντανοί μικροοργανισμοί μπορούν να διατηρήσουν ή να βελτιώσουν την υγεία και κατά το παρελθόν έχουν χρησιμοποιηθεί παρόμοιοι όροι για να περιγράψουν τέτοιες ουσίες.

Άλλοι σχετικοί όροι που έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί, είναι «παραπροβιοτικά» <<paraprobiotics>>, «παραψυχοβιοτικά» <<parapsychobiotics>>, «προβιοτικά φαντάσματα» <<ghost probiotics>>, «τυνδαλωμένα προβιοτικά» <<tyndallized probiotics>> και «βακτηριακά λύματα» <<bacterial lysates>>.

2.3 Κατηγορίες των μεταβιοτικών

Οι επί του παρόντος καθορισμένες κατηγορίες μεταβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων τόσο των μεταβολιτών όσο και των θραυσμάτων μικροοργανισμών που μπορεί να ασκήσουν ευεργετική επίδραση στον ξενιστή περιλαμβάνουν υπερκείμενα διαλύματα χωρίς κύτταρα (προέρχονται από *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* GG, *L. Plantarum*, *L. casei* και από ζυμομύκητα: *S. Boulardii*, *S. cerevisiae*), εξωπολυσακχαρίτες (προερχόμενοι από *L. helveticus*, *L. Plantarum*, *L. kefirifaciens*, β-γλυκάνες), αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, καταλάση, NADH-οξειδάση (προέρχονται από τους μικροοργανισμούς *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*), θραύσματα κυτταρικού τοιχώματος ως βακτηριακό λιποτεϊχοϊκό οξύ (προερχόμενο από *Lactobacillus*), λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας -SCFA: οξικό, προπιονικό και βουτυρικό οξύ (από τη ζύμωση φυτικών πολυσακχαριτών στη μικροχλωρίδα του εντέρου), βακτηριακά λύματα (που λαμβάνονται με χημική ή μηχανική αποδόμηση αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων), βιοδραστικά πεπτίδια, υπεροξειδίου του υδρογόνου (κύριος μεταβολίτης βακτηρίων γαλακτικού οξέος), βιταμίνες. Τα μεταβιοτικά έχουν διαφορετική σύνθεση και υπάρχουν διάφορες τεχνικές (χημικές ή μηχανικές) για την λήψη τους.

2.4 Κριτήρια χαρακτηρισμού μεταβιοτικών σκευασμάτων

Η ανάγκη για συγκεκριμενοποίηση του πλαισίου του ορισμού των μεταβιοτικών, οδήγησε τους Salminen et al., 2021, της Διεθνούς Επιστημονής Ένωσης Προβιοτικών και Πρεβιοτικών (ISAPP) στο να καθορίσουν συγκεκριμένα κριτήρια/προδιαγραφές για τα μεταβιοτικά σκευάσματα. Τα κριτήρια αυτά είναι τα εξής :

- Μοριακός χαρακτηρισμός των προγονικών μικροοργανισμών (πλήρως αποκωδικοποιημένη αλληλουχία γονιδιώματος) για να γίνει εφικτή η ακριβής ταυτοποίηση τους.
- Επιβεβαίωση της ολοκλήρωσης της αδρανοποίησης των μικροοργανισμών.
- Λεπτομερής περιγραφή της διαδικασίας αδρανοποίησης και της μήτρας που προήλθε.
- Στοιχεία οφέλους για την υγεία του ξενιστή από ελεγχόμενη, υψηλής ποιότητας δοκιμή.
- Λεπτομερής περιγραφή της σύστασης των μεταβιοτικών παρασκευασμάτων.
- Εκτίμηση της ασφάλειας του μεταβιοτικού σκευάσματος στον ξενιστή στόχο για την προβλεπόμενη χρήση.

2.5 Ασφάλεια

Τα μεταβιοτικά είναι λογικό να είναι πιο ασφαλή από τα προβιοτικά, επειδή οι μικροοργανισμοί που περιέχουν έχουν απολέσει την ικανότητα αναπαραγωγής και επομένως δεν δύναται να προκαλέσουν μυκηταιμία ή βακτηριαμία, κινδύνους που έχουν σχέση με τη χορήγηση προβιοτικών (αν και εξαιρετικά σπάνιοι) (Salminen et al,2021). Όμως, τα μεταβιοτικά δεν θεωρούνται ασφαλή αποκλειστικά με βάση το προφίλ ασφάλειας του προγονικού μικροοργανισμού. Για παράδειγμα, οι λιποπολυσακχαρίτες από Gram-αρνητικά βακτήρια δύναται να προκαλέσουν σήψη και τοξικό σοκ, ειδικά όταν η ενδοτοξίνη A, η οποία κανονικά είναι ενσωματωμένη στην εξωτερική μεμβράνη ζωντανών βακτηρίων, απελευθερώνεται από τα νεκρά βακτήρια. Απαιτείται αξιολόγηση της ασφάλειας για την προβλεπόμενη χρήση για οποιοδήποτε μεταβιοτικό πριν από τη χρήση. Τα μεταβιοτικά που προέρχονται από μικροοργανισμούς στις συνεχώς ενημερωμένες λίστες QPS της EFSA μπορεί να έχουν έναν ευκολότερο δρόμο προς την έγκριση.

2.6 Οφέλη παραγωγής

Η βακτηριακή καλλιέργεια και η παραγωγή προβιοτικών είναι κάπως απρόβλεπτες στη φύση τους. Τα μεταβιοτικά εν αντιθέσει με την παραγωγή προβιοτικών δεν αντιμετωπίζουν κάποιο πρόβλημα με την τυποποίηση της δόσης. Από οικονομική πλευρά, στα οφέλη των μεταβιοτικών περιλαμβάνονται η ευκολότερη αποθήκευση, η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, η μεταφορά και η μειωμένη ανάγκη διατήρησης χαμηλής θερμοκρασίας εν

αντιθέσει με τα προβιοτικά. Επιπλέον πλεονεκτήματα των μεταβιοτικών εν αντιθέσει με τα προβιοτικά είναι η δυνατότητα ακριβέστερου ποσοτικού ελέγχου(εκτός από τα βακτηριακά λύματα) και η αξιοποίηση μιας επαναλαμβανόμενης διαδικασίας παραγωγής.

2.7 Τεχνολογικοί παράγοντες στον χαρακτηρισμό

Οι τεχνολογικοί παράγοντες συντελούν στον τρόπο με τον οποίο παρασκευάζονται και χαρακτηρίζονται τα μεταβιοτικά. Οι παράγοντες αυτοί περιλαμβάνουν: ακριβή ταυτοποίηση των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ως αρχικό υλικό για το μεταβιοτικό, περιγραφή της διαδικασίας ή της τεχνικής αδρανοποίησης, καθώς κάθε διαδικασία μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετική σύνθεση μεταβιοτικού με διαφορετικά αποτελέσματα καθώς και περιγραφή και ποσοτικοποίηση της τελικής σύνθεσης του μεταβιοτικού (μεταβολιτών, SCFA, εξωπολυσακχαριτών, βιοενεργών πεπτιδίων, κλπ). Εξ ορισμού τα μεταβιοτικά περιλαμβάνουν νεκρούς μικροοργανισμούς,εκτός αν δεν θανατωθούν γρήγορα εξαιτίας των παρασκευαστικών συνθηκών(για παράδειγμα,μη επιβίωση αυστηρά αναερόβιου μικροοργανισμού λόγω έκθεσης σε ατμοσφαιρικές συνθήκες),θα χρειαστούν ένα στάδιο αδρανοποίησης.Υπάρχουν διάφορες επιλογές για την επίτευξη αυτού του στόχου.

2.8 Αδρανοποίηση

Η θερμική επεξεργασία είναι πιθανό να χρησιμοποιηθεί σε πολλές περιπτώσεις για την αδρανοποίηση μικροοργανισμών, καθώς υπάρχει μακρά ιστορία της θερμικής επεξεργασίας στη βιομηχανία τροφίμων.Οι συμβατικές θερμικές επεξεργασίες(αυτόκαυστο,παστερίωση,τυνδαλοποίηση) χρησιμοποιούνται διαχρονικά για την εξασφάλιση μικροβιακής και ενζυμικής σταθερότητας σε συστήματα τροφίμων. Ωστόσο,τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και η θρεπτική αξία είναι συναρτήσε της θερμοκρασίας και του χρόνου θέρμανσης. Ως εκ τούτου, η θερμική επεξεργασία δεν είναι πάντα η ιδανική κατά τη δημιουργία μεταβιοτικών παρασκευασμάτων που αποσκοπούν για χρήση ως τρόφιμα ή συμπληρώματα διατροφής.

Το μεγαλύτερο μέρος της τεχνολογικής γνώσης σχετικά με τη μη θερμική αδρανοποίηση μικροοργανισμών στα τρόφιμα αναπτύχθηκε για την αδρανοποίηση μικροβιακών παθογόνων παραγόντων ή μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση, αλλά αυτές οι τεχνολογίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν εξίσου καλά για την παραγωγή μεταβιοτικών. Οι τρόποι αδρανοποίησης χωρίς θερμότητα στοχεύουν στην παραγωγή

σταθερών και ασφαλών τροφίμων με διατηρημένη συνολική αξία και ποιότητα, εξασφαλίζοντας τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά τους παραπλήσια σε αυτά των φρέσκων ισοδύναμων τους. Σε αυτό το πλαίσιο, τεχνολογίες όπως η διηλεκτρική θέρμανση, οι υπέρηχοι, η (υπερ)υψηλή πίεση, οι ακτίνες X, η ιονίζουσα ακτινοβολία, το παλμικό φως και τεχνολογία πλάσματος μπορούν να εφαρμοστούν για την αδρανοποίηση μικροοργανισμών και να παράγουν μεταβιοτικά. Η ξήρανση με ψεκασμό (spray drying) είναι ένας τρόπος παραγωγής ξηρής σκόνης από υγρό ή πολτό με ταχεία ξήρανση με θερμό αέρα. Η ξήρανση με ψεκασμό αποτελεί μια οικονομική εναλλακτική λύση αντί της ξήρανσης με κατάψυξη για την παραγωγή αφυδατωμένων αλλά βιώσιμων μικροβιακών καλλιιεργειών και θα μπορούσε να συνδυαστεί με υψηλότερες θερμοκρασίες εισόδου και/ή εξόδου για την επίτευξη μικροβιακής αδρανοποίησης. Ευρέως διαδεδομένα σε πολλές χώρες είναι τα βρεφικά παρασκευάσματα τα οποία έχουν ζυμωθεί με bifidobacteria και βακτήρια γαλακτικού οξέος και έχουν αποξηρανθεί με ψεκασμό. Επομένως, μπορούν να επισημανθούν ότι περιλαμβάνουν μεταβιοτικά, εάν συμφωνούν με τον προτεινόμενο ορισμό και τα κριτήριά μας. Άλλες τεχνολογίες ξήρανσης, όπως η ξήρανση σε κενό και σε ρευστοποιημένη κλίση, αποδεδειγμένα καταπονούν τους μικροοργανισμούς και επηρεάζουν τη βιωσιμότητά τους και πιθανή χρήση τους θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί υπό αυστηρότερο πλαίσιο συνθηκών λειτουργίας για την πλήρη αδρανοποίηση των μικροοργανισμών. Αυτές οι ηπιότερες τεχνολογίες μπορούν να εφαρμοστούν μόνες τους ή συνδυαστικά με άλλους τρόπους καταπόνησης των μικροοργανισμών για την πιο αποτελεσματική τους αδρανοποίηση.

Η λειτουργικότητα του μεταβιοτικού μπορεί να επηρεαστεί και από τα μέσα παραγωγής. Επί παραδείγματι, διάφοροι τρόποι θερμικής επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται στην ανάπτυξη αφυδατωμένων προβιοτικών (ξήρανση με κατάψυξη, ξήρανση στον αέρα και ξήρανση με ψεκασμό) μπορούν να επιφέρουν αλλαγές τόσο στη βιωσιμότητα όσο και στις ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες των προβιοτικών στελεχών, και εν κατακλείδι υποθετικά θα μπορούσαν να επηρεάσουν επίσης τις μεταβιοτικές ιδιότητες. Οι μη θερμικές επεξεργασίες, όπως η επεξεργασία με υψηλή πίεση, έχουν αναφερθεί ότι μεταβάλλουν *in vivo* τις αντιδράσεις του ξενιστή στους γαλακτοβάκιλλους. Πολλά μπορούμε να μάθουμε από τις έρευνες για τα τροφιμογενή παθογόνα σχετικά με τις δυνατότητες αδρανοποίησης των μικροβίων που μπορούν να επιτευχθούν με θερμικές και μη θερμικές επεξεργασίες. Με χρήση θερμότητας, η πλήρης αδρανοποίηση είναι συναρτήσι με τον χρόνο έκθεσης και το επίπεδο της θερμότητας. Η έκταση της μικροβιακής αδρανοποίησης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που σχετίζονται με τον

τύπο κυττάρου (προκαρυωτικά έναντι ευκαρυωτικών, Gram-θετικά έναντι Gram-αρνητικών βακτηρίων, φυτικά κύτταρα έναντι σπορίων, κόκκοι έναντι ραβδόμορφων μικροοργανισμών, τις συνθήκες επεξεργασίας και τη σύνθεση της μήτρας.

2.9 Παράμετροι αδρανοποίησης

Τα περισσότερα μεταβιοτικά δεν θα περιέχουν βιώσιμα κύτταρα, αλλά ορισμένοι επιζώντες μικροοργανισμοί μπορεί να επιμείνουν ανάλογα με τις συνθήκες αδρανοποίησης (Scientific Opinion on the safety of heat- treated milk products fermented with *Bacteroides xyloxylophilus* DSM 23964 as a novel food, 2015). Διαφορετικές τεχνικές αδρανοποίησης (υψηλή πίεση, θέρμανση, χρόνος έκθεσης σε οξυγόνο για αυστηρούς αναερόβιους μικροοργανισμούς) αναμένεται να οδηγήσουν σε διαφορετικό αριθμό εναπομεινάντων βιώσιμων κυττάρων των προγονικών μικροοργανισμών, αν και ακόμη δεν έχουν δημοσιευθεί τέτοιες συγκρίσεις. Ταυτόχρονα, οι ακραίες συνθήκες αδρανοποίησης που αποσκοπούν στην επίτευξη πλήρους αδρανοποίησης ενδέχεται να επιδράσουν αρνητικά στις θρεπτικές, φυσικές, ρεολογικές ή οργανοληπτικές ιδιότητες του υλικού. Έτσι, η επιλεγμένη μέθοδος αδρανοποίησης θα μπορούσε να οδηγήσει σε κάποιους υπολειμματικούς, ζωντανούς μικροοργανισμούς. Αν και δεν απαιτείται ένα μεταβιοτικό να είναι μικροβιολογικά στείρο, πρέπει να υπάρχει σκόπιμη επεξεργασία που έχει σχεδιαστεί για να αδρανοποιεί το μικροβιακό προγονικό στέλεχος.

2.10 Ρυθμιστικά ζητήματα

Κανονιστικό πλαίσιο υπάρχει για μεταβιοτικά σκευάσματα των οποίων η προβλεπόμενη χρήση απευθύνεται σε ιατρικές ή φαρμακευτικές εφαρμογές (EMA, 2019).

Στην Ευρώπη είναι μακρόχρονη η παρουσία των μεταβιοτικών. Αρκετά μεταβιοτικά έχουν κυκλοφορήσει ως ανοσοδιεγερτικοί παράγοντες (π.χ. το παρασκεύασμα Broncho-Vaxom που αποτελείται από λυοφιλοποιημένα βακτηριακά λύματα από 21 διαφορετικά βακτηριακά στελέχη). Όσον αφορά την αξιολόγηση της ασφάλειας στην Ευρώπη, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) αναπτύσσει τακτικά ενημερωμένους καταλόγους μικροοργανισμών που πληρούν κριτήρια για την τεκμαιρόμενη ασφάλεια για χρήση σε τρόφιμα. Αυτή η διαδικασία, που λέγεται Ποιοτικό Τεκμήριο Ασφάλειας (QPS), θα αφορά ζώντες μικροοργανισμούς που θα χρησιμοποιηθούν ως προγονικοί μικροοργανισμοί για τα μεταβιοτικά. Οι μικροοργανισμοί που δεν βρίσκονται στον κατάλογο απαιτούν συστηματική αίτηση και έγκριση νέων τροφίμων στην Ευρώπη προτού μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν για μεταβιοτική ανάπτυξη τροφίμων ή ζωοτροφών.

Ένα παράδειγμα αξιολόγησης ασφάλειας ενός πιθανού μεταβιοτικού περιλαμβάνει το *B. xylanisolvens* για τρόφιμο (Scientific Opinion on the safety of heat- treated milk products fermented with *Bacteroides xylanisolvens* DSM 23964 as a novel food,2017) το οποίο έχει υποβληθεί σε αξιολογήσεις ασφάλειας που έχουν διεξαχθεί σε θερμικά επεξεργασμένα ή αδρανοποιημένα βακτήρια. Ο EMA έχει την ευθύνη για την επίβλεψη και την αξιολόγηση ιατρικών παρασκευασμάτων από μεταβιοτικά(Οδηγία 2004/27/EK)(Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use.,2004) Για τα φαρμακευτικά σκευάσματα και τα φαρμακευτικά προϊόντα, η Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία έχει σαφή κριτήρια, τα οποία ορίζουν τα μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα ζώντων μικροοργανισμών (Microbiological quality of non- sterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use.,2011). Αυτοί οι κανόνες θα πρέπει να εφαρμόζονται στα μεταβιοτικά σκευάσματα. Ο νέος Κανονισμός ΕΕ 2017/745 (Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on medical devices, amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009 and repealing Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC.,2017) για τα ιατροτεχνολογικά προϊόντα κάνει αναφορά σε συγκεκριμένη παράγραφο που θέτει τους «ζωντανούς οργανισμούς» εκτός του πεδίου εφαρμογής του κανονισμού, αλλά τα μεταβιοτικά δεν προκύπτει να είναι εκτός πεδίου εφαρμογής.

Ωστόσο, το θέμα των μεταβιοτικών δεν έχει ακόμη διευθετηθεί, παρόλο που το 2019 μια διεθνής εταιρεία κυκλοφόρησε ένα βρεφικό γάλα με το 30% της σύνθεσής του να προέρχεται από αδρανοποιημένο γάλα με σπρί που έχει υποστεί ζύμωση με *Streptococcus thermophilus* και ένα στέλεχος *Bifidobacterium*, και το προϊόν έφερε την ένδειξη «με μεταβιοτικά». Σε πολλές περιπτώσεις, η ανάπτυξη τροφίμων προηγήθηκε της ρύθμισης και, για τη ρύθμιση, απαιτείται ένας σαφής και καλά αποδεκτός ορισμός των μεταβιοτικών.

Στις ΗΠΑ, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) δεν έχει εντυπώσει ακόμη στο θέμα των μεταβιοτικών. Έπειτα από πρόσφατη αναζήτηση(27/5/2023) δεν προκύπτει κάποιο αποτέλεσμα σε σχέση με τον όρο «μεταβιοτικό» στον ιστότοπο του FDA. Εφόσον τα μεταβιοτικά μπορούν να αναπτυχθούν σε διαφορετικές ρυθμιστικές κατηγορίες (FDA,2021),ο FDA πιθανότατα θα προσεγγίσει τα μεταβιοτικά με βάση τους κανονισμούς που αφορούν τη συγκεκριμένη ρυθμιστική κατηγορία που επιλέγεται για ένα προϊόν υπό ανάπτυξη. Η προβλεπόμενη χρήση, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του προϊόντος θα πρέπει να πληρούν τα πρότυπα για την ισχύουσα ρυθμιστική κατηγορία. Έτσι, για παράδειγμα, εάν ένα μεταβιοτικό πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως συστατικό τροφίμων, θα

πρέπει είτε να υποβληθεί σε έγκριση πριν από την κυκλοφορία ως πρόσθετο τροφίμων είτε να αξιολογηθεί από ειδικούς για να διαπιστωθεί εάν είναι γενικά αναγνωρισμένο ως ασφαλές. Οποιοσδήποτε ισχυρισμός για τα οφέλη για την υγεία που γίνεται θα πρέπει να εγκριθεί από τον FDA είτε ως ισχυρισμός υγείας, ο οποίος προσδιορίζει ένα τρόφιμο ως ικανό να μειώσει τον κίνδυνο ασθένειας είτε ως μη εγκεκριμένος ισχυρισμός γενικής λειτουργίας, ο οποίος προσδιορίζει ότι ένα τρόφιμο επηρεάζει την φυσιολογική δομή ή λειτουργία του ανθρώπινου σώματος. Άλλες ρυθμιστικές κατηγορίες στις οποίες ενδέχεται να εμπίπτουν τα μεταβιοτικά περιλαμβάνουν φάρμακα, ιατροτεχνολογικά προϊόντα ή υποκατηγορίες τροφίμων, όπως συμπληρώματα διατροφής, βρεφικά παρασκευάσματα, τρόφιμα για ειδική διατροφική χρήση ή ιατρικές τροφές.

Στην Ιαπωνία, τα μεταβιοτικά (που ονομάστηκαν «βιογονικά» είναι διαθέσιμα για περισσότερα από 100 χρόνια. Τα προϊόντα αυτά αποτελούνται και από νεκρά βακτήρια γαλακτικού οξέος ή bifidobacteria και χρησιμοποιούνται σε μια ποικιλία προϊόντων διατροφής, όπως παγωτά, πατατάκια, ποπ κορν, χυμούς, natto (σόγια που έχουν υποστεί ζύμωση), σούπα miso στιγμιαίου τύπου (παραδοσιακή ιαπωνική σούπα), ταμπλέτες, συμπληρώματα, σκόνη για τηγανίτες και πολλά άλλα (π.χ. immuno-1p20). Τα περισσότερα από αυτά τα προϊόντα δεν σχετίζονται με κανέναν ισχυρισμό υγείας, αλλά δύο προϊόντα (δύο ροφήματα τύπου γάλακτος που έχουν υποστεί ζύμωση) εμφανίζουν ισχυρισμούς υγείας που βασίζονται σε έναν κανονισμό για τρόφιμα με ισχυρισμούς λειτουργίας (FFC) (περιγράφει το ρόλο ενός θρεπτικού ή διατροφικού συστατικού που μπορεί να επηρεάσει τη δομή ή λειτουργία του ανθρώπινου σώματος, π.χ το ασβέστιο χτίζει γερά οστά) (Salminen et al, 2021). Η επισήμανση των συστατικών αυτών των προϊόντων μπορεί να περιέχει, για παράδειγμα, γαλακτοβάκιλλους, αλλά δεν αναφέρει πάντα ότι οι μικροοργανισμοί που προστίθενται είναι μη βιώσιμοι. Μια τέτοια επισήμανση θα μπορούσε να παραπλανήσει το καταναλωτικό κοινό ως προς την σύσταση των προϊόντων.

3.Επιμέρους συστατικά των μεταβιοτικών

3.1Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου- SCFA

Η παραγωγή των SCFA πραγματοποιείται στο ανθρώπινο έντερο από τη ζύμωση μη αμυλούχων πολυσακχαριτών, ανθεκτικού αμύλου και διαιτητικών ινών. Η σύσταση των SCFA καθορίζεται από τα υποστρώματα και τους μικροοργανισμούς που πέπτουν αυτά τα υποστρώματα. Τα προϊόντα που προκύπτουν έχουν δύο έως έξι άτομα άνθρακα στην αλειφατική αλυσίδα. Υπάρχουν τρία κύρια SCFA: βουτυρικό οξύ (BA), προπιονικό οξύ (PA) και οξικό οξύ (AA). Αυτά τα SCFA παράγονται σχεδόν σε όλα τα μέρη του εντέρου, αλλά κυρίως στο εγγύς τμήμα του παχέος εντέρου. Η συγκέντρωση και οι αναλογίες μεταξύ των SCFA επηρεάζονται από την διατροφή, από την ηλικία και την πιθανή νόσο του ατόμου. Η βέλτιστη αναλογία οξικού, προπιονικού και βουτυρικού στο παχύ έντερο είναι 60:25:15 και η συνολική συγκέντρωση SCFA είναι μεταξύ 70 και 140 mM. Μια σωστή αναλογία SCFA βοηθά στη διατήρηση της ομοιόστασης του ανοσοποιητικού συστήματος. Η πλειοψηφία (95%) των SCFA απορροφώνται στην πυλαία φλέβα και μεταφέρονται στο ήπαρ, όπου μετασχηματίζονται περαιτέρω ή αποικοδομούνται. Λιγότερο από το 5% των SCFAs απεκκρίνονται με τα κόπρανα. Τα SCFA ως οργανικά οξέα δύνανται να οξινίσουν το περιβάλλον τους. Ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν σχετικά με τα οφέλη της οξίνισης, καθώς βελτίωσε τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων και δημιούργησε ένα τείχος προστασίας ενάντια στον αποικισμό παθογόνων μικροοργανισμών (Jung et al.,2015).

3.1.1Βουτυρικό οξύ (BA)

Το βουτυρικό οξύ είναι ένα από τα πιο ισχυρά SCFA παρά την σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα των SCFA σε αυτό (περίπου 15%). Στους ανθρώπους, διακρίνουμε δύο τρόπους δράσης του BA: εντερικό και παρεντερικό. Η εντερική επίδραση του βουτυρικού οξέος είναι πολύπλευρη. Χρησιμεύει ως μία από τις πρωτογενείς πηγές ενέργειας για τα κολονοκύτταρα και έχει προστατευτική δράση αυξάνοντας την έκφραση γονιδίων βλεννίνης, όπως το MUC2 και κατά συνέπεια, αυξάνοντας την παραγωγή βλεννίνης. Το βουτυρικό οξύ έχει διεγερτική επίδραση στον πολλαπλασιασμό των εντεροκυττάρων και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται «παράδοξο βουτυρικού άλατος». Προκύπτει από την αναστολή της αποακετυλάσης της ιστόνης. Το βουτυρικό αναστέλλει τη δραστηριότητα του παράγοντα NF-κΒ στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Με αυτή την διαδικασία καταστέλλει

την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την σύνθεση των κύριων προφλεγμονωδών κυταροκινών TNF α , IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-8 και IL-12. Στις σπουδαίες ιδιότητες του βουτυρικού οξέος περιλαμβάνονται η αντιοξειδωτική του ικανότητα και η ικανότητα να αυξάνει τα επίπεδα γλουταθειόνης (Hamer et al.,2010). Έχουν γίνει προσπάθειες να υποστηριχθεί η θεραπεία της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου με ορθικές εγχύσεις βουτυρικού οξέος ή να χορηγηθεί από το στόμα με τη μορφή διαφόρων σκευασμάτων (Raedler et al.,2004), ωστόσο, τα αποτελέσματα των μελετών είναι ασαφή. Υπάρχει διχογνωμία σχετικά με την θεραπευτική αποτελεσματικότητα, τις δυσκολίες απόκτησης παρασκευασμάτων με τυποποιημένη ποσότητα βουτυρικού οξέος και το μέγεθος του δείγματος. (Sossai,2012). Η παρεντερική επίδραση του βουτυρικού οξέος βασίζεται επίσης στην αναστολή των αποακετυλασών ιστόνης (HDAC) και συμβάλλει στη βελτίωση της αναμίας, της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (IFNE) προάγοντας τη σύνθεση της αιμοσφαιρίνης και αυξάνοντας τον αριθμό των δικτυοερυθροκυττάρων (Perrine et al.,2011). Ο μεταβολισμός της μεγαλύτερης ποσότητας του βουτυρικού υφίσταται στο επιθήλιο του παχέος εντέρου, οπότε οι συγκεντρώσεις βουτυρικού στην πυλαία φλέβα είναι χαμηλές και κυμαίνονται από 1,3 έως 14,4 M στον άνθρωπο. Το βουτυρικό οξύ συνδέεται ειδικά με τον υποδοχέα GPR109A. Ο υποδοχέας εκφράζεται σε λιποκύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα, μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα) (Wanders et al.,2012). Η ενεργοποίηση του υποδοχέα έχει ως αποτέλεσμα την έκκριση αλδεϋδικής αφυδρογονάσης (ALDH1) και αντιφλεγμονώδους IL-10. Προωθεί επίσης τη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων Treg, καθώς και την απομάκρυνση των ηλεκτροφιλικών ενώσεων και ενισχύει τις διαδικασίες αποτοξίνωσης (Singh et al.,2014).

3.1.2 Προπιονικό οξύ (PA)

Το προπιονικό οξύ βρίσκεται φυσικά στο γάλα και σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα. Παράγεται από *Propionibacterium* κατά την διάρκεια ζύμωσης. Χρησιμοποιείται επίσης ως συντηρητικό τροφίμων. Διαθέτει αντιμυκητιασικές και αντιβακτηριδιακές ιδιότητες. Εν αντιθέσει, το προπιονικό οξύ που λαμβάνεται μέσω της διατροφής είναι λιγότερο ως προς το παραγόμενο μέσω του εντέρου. Στο παχύ έντερο, το προπιονικό οξύ παράγεται από την αναερόβια μικροχλωρίδα με την ζύμωση πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών και την αποικοδόμηση λιπαρών οξέων, πρωτεϊνών, πεπτιδίων και γλυκοπρωτεϊνών μακράς αλυσίδας. Σε αντίθεση με το βουτυρικό οξύ, το μεγαλύτερο μέρος του προπιονικού οξέος που παράγεται στο έντερο απορροφάται και μεταφέρεται

μέσω της πυλαίας φλέβας. Έπειτα, στο ήπαρ γίνεται ο μεταβολισμός περίπου του 90% του απορροφούμενου προπιονικού οξέος. Ο προστατευτικός του χαρακτήρας στηρίζεται στην αποτροπή του σχηματισμού αποικιών στον εντερικό αυλό από παθογόνα βακτήρια της οικογένειας *Salmonella* μέσω της αναστολής των γονιδίων των διεισδυτικών βακτηρίων. Το προπιονικό οξύ ανακόπτει επίσης τη δραστηριότητα των ενζύμων COX εμποδίζοντας τον σχηματισμό προσταγλανδινών ή προστακυκλινών και έτσι μειώνει την ανάπτυξη τοπικής φλεγμονής. Οι αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις του προπιονικού οξέος παρατηρούνται σε υψηλές συγκεντρώσεις, μεγαλύτερες από 3 mM.

Σε αυτές τις συγκεντρώσεις, το προπιονικό οξύ δύναται να αναστείλει τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων και κινητοποιεί την έκκριση αντιφλεγμονώδους ρεξιστίνης στον λιπώδη ιστό. Επιπροσθέτως, υψηλές συγκεντρώσεις PA αναστέλλουν την διεγερμένη από λιποπολυσακχαρίτες (LPS) απελευθέρωση TNF- α από ανθρώπινα ουδετερόφιλα και ενδοθηλιακά κύτταρα (Al-Lahham et al., 2010). Το PA είναι ο πιο ισχυρός συνδέτης του υποδοχέα GPCR43. Ο συγκεκριμένος υποδοχέας εκτίθεται έντονα σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, που σημαίνει ότι υπάρχει μια ισχυρή συσχέτιση του ανοσοποιητικού συστήματος με το βακτηριακά παραγόμενο PA. (Tedelind et al., 2007).

3.1.3 Οξικό οξύ (AA)

Το οξικό οξύ είναι το πιο άφθονο SCFA παραγόμενο ως προϊόν ζύμωσης από τους μικροοργανισμούς του εντέρου. Επιπλέον είναι από τους σημαντικότερους μεταβολίτες που παράγονται στο παχύ έντερο έπειτα από τη βακτηριακή ζύμωση των διαιτητικών ινών και του ανθεκτικού αμύλου. Επίσης παράγεται από υδρογονοτροφικά ακετογόνα βακτήρια όπως ένα *Acetobacterium woodii*, από το μυρμηκικό οξύ μέσω της οδού/μονοπατιού Wood-Ljungdahl (Demler and Weuster-Botz, 2010). Η σύνθεση των διαφόρων προϊόντων ζύμωσης εξαρτάται από τη σύσταση της μικροχλωρίδας και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες (pH, διαθέσιμα υποστρώματα). (Chen, Luo, Yan, & Feng, 2013). Οι αλλαγές στην αφθονία των οξικών όπως και των προπιονικών και βουτυρικών έχουν συσχετιστεί με την επιδείνωση της υγείας λόγω της σημασίας της βακτηριακής παραγωγής SCFAs στη φυσιολογία του γαστρεντερικού σωλήνα (Claesson et al., 2012).

Το οξικό οξύ λειτουργεί με βάση την αλληλεπίδραση με τον υποδοχέα GPCR43 (Macia et al., 2015).

Πίνακας 1. Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου –SCFA που παράγονται από την μικροχλωρίδα του εντέρου

Όνομα	Αριθμός C	Κυριότεροι παραγωγοί-βακτήρια	Βιβλιογραφία
Οξικό	C2:0	Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp., Akkermansia muciniphila, Bacteroides spp., Prevotella spp., Ruminococcus spp., Streptococcus spp.	Maafi et al.,2022
Προπιονικό	C3:0	Phascolarctobacterium succinatutens, Akkermansia muciniphila, Bacteroides spp., Dialister spp., Megasphaera elsdenii, Veillonella spp., Coproccoccus catus, Roseburia inulinivorans, Ruminococcus obeum, Salmonella spp.	Maafi et al.,2022
Βουτυρικό	C4:0	Faecalibacterium prausnitzii, Clostridium leptum, Eubacterium rectale, Roseburia spp.	Maafi et al.,2022

3.2 Υπερκείμενα προϊόντα φυγοκέντρωσης

Υπερκείμενα διαλύματα χωρίς κύτταρα που περιέχουν βιολογικά ενεργούς μεταβολίτες που εκκρίνονται από βακτήρια και ζυμομύκητες στο υγρό περιβάλλον μπορούν

να ληφθούν απευθείας από καλλιέργειες κυττάρων (περιλαμβάνονται και τα SCFAs στους μεταβολίτες που μπορούν να ληφθούν από καλλιέργειες κυττάρων, όπως από καλλιέργειες σακχαρολυτικών μικροοργανισμών του εντέρου). Έπειτα από την περίοδο επώασης, οι μικροοργανισμοί φυγοκεντρώνται και απομακρύνονται. Τέλος, για να εξασφαλιστεί η στειρότητα του προκύπτοντος μείγματος θα χρειαστεί να φιλτραριστεί. Τα υπερκείμενα διαλύματα από *Lactobacillus acidophilus* και *Lactobacillus casei* εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, στα μακροφάγα και στα ουδετερόφιλα περιορίζοντας την έκκριση του προφλεγμονώδους παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF- α) κυταροκίνης και ενισχύοντας την έκκριση της αντιφλεγμονώδους κυταροκίνης 10 (IL-10) (De Marco et al., 2018). Από την άλλη πλευρά, τα υπερκείμενα διαλύματα από καλλιέργειες *L. casei* και *Lactobacillus rhamnosus* GG έχει φανεί ότι δύναται να εμποδίσουν την εισβολή των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου (Escamilla et al., 2012). Καθώς τα υπερκείμενα διαλύματα χωρίς κύτταρα μπορούν να μειώσουν το οξειδωτικό στρες *in vivo* (Amaretti et al., 2013) και να παρέχουν άμεση αντικαρκινική δράση, μπορεί να είναι κλινικά χρήσιμα στην πρόληψη του καρκίνου. Τα υπερκείμενα διαλύματα που προέρχονται από βακτηριακές καλλιέργειες των γενών *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* αποδείχθηκε επίσης πρόσφατα ότι εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση αποτρέποντας την εισβολή εντεροδιηθητικών στελεχών *E. coli* στα εντεροκύτταρα *in vitro* (Khodaii et al., 2017). Αν και αυτές οι αντιβακτηριακές ιδιότητες μπορεί να οφείλονται στην αναστολή της προσκόλλησης των παθογόνων βακτηριακών στελεχών (λόγω του ανταγωνισμού για θέσεις υποδοχέων), τα υπερκείμενα των κυττάρων θα μπορούσαν επίσης να έχουν τοπική επίδραση στο εντερικό περιβάλλον, στον κυτταρικό φραγμό και στην έκφραση των προστατευτικών γονιδίων (Khodaii et al., 2017). Επομένως, τα βακτηριακά υπερκείμενα διαλύματα χωρίς κύτταρα είναι πολλά υποσχόμενοι αντιμολυσματικοί παράγοντες, για παράδειγμα, για τη θεραπεία της διάρροιας. Εν τω μεταξύ, τα υπερκείμενα διαλύματα *Lactobacillus plantarum* βρέθηκαν να έχουν θετική επίδραση στην ωρίμανση και τη μορφολογική δομή του εντερικού φραγμού (Izuddin et al., 2019). Χορήγηση αυτών των υπερκειμένων σε αρχικά στάδια της ζωής αμνών συνδέθηκε με αύξηση της επιφάνειας απορρόφησης του εντέρου και μείωση του πληθυσμού των εντερικών παθογόνων παραγόντων (Izuddin et al., 2019). Η συγκέντρωση των φλεγμονωδών δεικτών (IL-1 και TNF- α) στον εντερικό βλεννογόνο μειώθηκε επίσης ($p < 0,05$) (Izuddin et al., 2019). Υπάρχουν τέλος στοιχεία για τα ευεργετικά αποτελέσματα των υπερκειμένων που προέρχονται από καλλιέργειες ζυμομύκητα. Συγκεκριμένα, τα υπερκείμενα διαλύματα από τους σακχαρομύκητες *Saccharomyces cerevisiae* και *Saccharomyces boulardii*

ανέστρεψαν την κατάσταση της διαταραγμένης εντερικής περισταλτικότητας που προκλήθηκε από ερεθίσματα στρες (West et al.,2016). Τα υπερκείμενα διαλύματα *S. boulardii* εμφανίζουν επίσης αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση (De Marco et al.,2018), παρόμοια με τα υπερκείμενα διαλύματα βακτηριακών κυττάρων, και μπορούν να επιταχύνουν την επούλωση των πληγών και την αναγέννηση του εντερικού φραγμού.

3.3 Ένζυμα

Τα ένζυμα αποτελούν σημαντικούς μηχανισμούς άμυνας που διαθέτουν οι μικροοργανισμοί κατά των επιβλαβών δραστικών ριζών οξυγόνου(ROS),που επηρεάζουν αρνητικά τα λιπίδια,τις πρωτεΐνες ,τους υδατάνθρακες και τα νουκλεϊκά οξέα.Ιδιαίτερα τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση ,η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και η NADH-οξειδάση, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην καταπολέμηση των ROS. Έχει βρεθεί ότι δύο στελέχη *L.fermentum* ότι έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε GPx και έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση *in vitro* (Kim et al.,2006). Στη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Izuddin et al φάνηκαν οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των μεταβιοτικών που πηγάζουν από *Lactobacillus plantarum*.Αυτές οι ιδιότητες οφείλονται στην αυξημένη συγκέντρωση GPx στον ορό ($p < 0,05$). Επιπλέον, γενετικά τροποποιημένα στελέχη *Lactobacillus* που συνθέτουν SOD ή καταλάση βρέθηκαν να υπερτερούν των μη τροποποιημένων στελεχών τους αντίστοιχα στην ανακούφιση των συμπτωμάτων από την νόσο του Crohn σε ποντίκια (LeBlanc et al.,2011). Ακόμη,στελέχη *Lactobacillus* με αυξημένη δραστηριότητα καταλάσης ήταν πιο αποτελεσματικά στην ανακούφιση της φλεγμονής από τα στελέχη του ίδιου βακτηρίου που παράγουν SOD σε ένα μοντέλο φλεγμονώδους νόσου του εντέρου σε ποντίκια (Tomusiak-Plebanek et al.,2018). Αυτή η δοκιμή έδειξε ότι η αντιφλεγμονώδης δράση των στελεχών *Lactobacillus* επηρεάζεται από το προφίλ έκφρασης αντιοξειδωτικών ενζύμων κάθε στελέχους. Επιπροσθέτως, ο γενετικά τροποποιημένος *Lactobacillus lactis* που εκφράζει καταλάση αποδείχθηκε ότι εμποδίζει τον χημικά επαγόμενο καρκίνο του παχέος εντέρου σε ποντίκια (de Moreno de LeBlanc et al.,2008).

3.4 Βιοδραστικά πεπτίδια

Τα βιοδραστικά πεπτίδια είναι ολιγοπεπτίδια που αποτελούνται από 2-20 αμινοξέα. Πηγή προέλευσης τους είναι οι πρωτεΐνες διάφορων τροφίμων (γάλα,αυγό, ψάρι, ρύζι, σόγια, μπιζέλι, γλωρέλα, σπιρουλίνα, στρείδι, μύδι, κλπ). Παρουσιάζουν κυρίως

ανοσοτροποποιητικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Chalamaiah et al.,2017). Υπάρχουν διάφοροι τρόποι παραγωγής αυτών των πεπτιδίων,όπως: *in vitro* ενζυματική υδρόλυση, αυτολυτική διαδικασία με χρήση ενδογενών ενζύμων και μικροβιακή ζύμωση. Το τελευταίο πραγματοποιείται κυρίως από γαλακτοβάκιλλους με τις πρωτεάσες τους. Μεταξύ των βιοπεπτιδίων που παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ,είναι αυτά που έχουν πηγή προέλευσης το γάλα. Εμφανίζουν σύνθετες ανοσοτροποποιητικές δραστηριότητες μέσω της ρύθμισης των κυταροκινών, με συνέπεια την εξασθένιση των αλλεργικών αντιδράσεων τόσο σε ζώα όσο και σε προκαταρκτικές *in vitro* και *in vivo* μελέτες (Korhonen&Pihlanto,2006; Möller et al.,2008). Ένα παράδειγμα βιοδραστικών πεπτιδίων είναι οι 2,5-δικετοπιπεραζίνες (DKPs) επίσης γνωστές ως κυκλικά διπεπτίδια. Μπορούν να σχηματιστούν από τα αμινοτελικά υπολείμματα αμινοξέος ενός γραμμικού πεπτιδίου ή πρωτεΐνης και έχουν ανιχνευθεί σε διάφορα τρόφιμα ,ιδίως σε τρόφιμα που έχουν υποστεί ζύμωση,όπως η μύρα, το κακάο και ο καβουρδισμένος καφές. Τα DKP μπορούν επίσης να βρεθούν σε προϊόντα υδρόλυσης πρωτεΐνης ορού γάλακτος. Το cyclo(-His-Pro) εμφάνισε επιδράσεις όπως η αναστολή της πρόσληψης τροφής και η μείωση του σωματικού βάρους σε αρουραίους, επομένως μπορεί να επηρεάσει την ανθρώπινη βιολογική ρύθμιση.

3.5 Βακτηριακά λύματα

Ο τρόπος λήψης των βακτηριακών λυμάτων είναι μέσω της χημικής/μηχανικής αποικοδόμησης θετικών και αρνητικών βακτηρίων. Η ασφαλής κλινική χρήση τους είναι μια ενοποιημένη πρακτική στην παιδιατρική καθώς και στην εσωτερική ιατρική και λοιμωδών νοσημάτων. Ο λόγος που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην πρόληψη ιογενών/βακτηριακών λοιμώξεων συνδέεται με την έννοια του «άξονα εντέρου-πνεύμονα» που αναφέρεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ του εντερικού συστήματος και του αναπνευστικού ανοσοποιητικού συστήματος (Feleszko et al.,2006).Σε μελέτες έχει αποδειχτεί ότι χορηγούμενα από το στόμα λυοφιλοποιημένα BLs φτάνουν στις πλάκες (έμπλαστρα ή συσσωματωμένα λεμφοειδή οζίδια) Peyer (Peyer's patches) στο λεπτό έντερο, με διέγερση των δενδριτικών κυττάρων (DCs) και ενεργοποίηση των T και B λεμφοκυττάρων που μεταναστεύουν εντός της βλεννογόνου μεμβράνης της αναπνευστικής οδού,με αποτέλεσμα την διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος και την έκκριση IgA (Kearney et al.,2015). Στην κλινική ιατρική τα βακτηριακά λύματα παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς μπορούν να μιμηθούν την παρουσία των βακτηρίων για την τόνωση του ανοσοποιητικού συστήματος, χωρίς τις βλαβερές συνέπειες της πραγματικής τους παρουσίας. Συνεπώς, μπορούμε να υποθέσουμε ότι λειτουργούν ως «ήπιο και ευρύ

εμβόλιο». Ισχυρά δεδομένα τεκμηριώνουν αυτές τις παρατηρήσεις: μια μετα-ανάλυση του 2018 που περιελάμβανε περισσότερα από 4800 παιδιά τόνισε μια σημαντικά χαμηλότερη συχνότητα λοιμώξεων της αναπνευστικής οδού σε όσους έλαβαν BLs έναντι μιας ομάδας ελέγχου (Yin et al.,2018).Μια συστηματική ανασκόπηση του 2020 έδειξε ότι τα BLs ως συμπληρωματική θεραπεία είναι αποτελεσματικά στη μείωση των επεισοδίων συριγμού και της συχνότητας των παροξύνσεων άσθματος στα παιδιά (de Boer et al.,2020).

3.6 Εξωπολυσακχαρίτες

Οι εξωπολυσακχαρίτες είναι βιοπολυμερή που παράγονται από μικροοργανισμούς.Το σύμπλεγμα των εξωπολυσακχαριτών (EPSs) απελευθερώνεται έξω από το βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα και έχει φανεί ότι έχει αρκετές χημικές ιδιότητες. Τα EPS δεν είναι ένα νέο μεταβιοτικό, καθώς χρησιμοποιούνται ήδη στη βιομηχανία τροφίμων ως παράγοντες σταθεροποίησης, γαλακτωματοποίησης και δέσμησης νερού (π.χ. η δεξτράνη χρησιμοποιείται στην παρασκευή παγωτού ως σταθεροποιητής και για την αύξηση του ιξώδους).Τα EPS μπορούν επίσης να εμφανίσουν ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες μέσω της αλληλεπίδρασης με τα δενδριτικά κύτταρα (DCs) και τα μακροφάγα, με αποτέλεσμα τον ενισχυμένο πολλαπλασιασμό των T και NK λεμφοκυττάρων (Makino et al.,2016). Επί παραδείγματι, το EPS που προέρχεται από το *L. casei* δύναται να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας του εμβολίου κατά του αφθώδους πυρετού (Lei et al.,2018). Μεταξύ των ποικίλων ιδιοτήτων των EPSs υπάρχει η αναστολή της απορρόφησης της χοληστερόλης (Khalil et al.,2018). Έχει φανεί ότι η κατανάλωση κεφίρανης, EPS που παράγεται από την *L. kefiranofaciens*, έχει δείξει αποτελεσματικότητα καθυστερώντας την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης σε ζωικό μοντέλο (Uchida et al.,2010). Μια άλλη κατηγορία EPS, οι β-γλυκάνες μπορεί να ενισχύσουν την κυτταρομεσολαβούμενη ανοσοαπόκριση έναντι βακτηρίων, ιών, παρασίτων και καρκινικών κυττάρων (Li et al.,2010). Είναι ενδιαφέρον ότι οι β-γλυκάνες μπορεί επίσης να ενισχύσουν τις επιδράσεις των προβιοτικών μέσω μιας διευκολυνόμενης προσκόλλησης γαλακτοβακίλλων στο εντερικό τοίχωμα (Garai-Ibabe et al.,2010). Ομοίως, μπορούν να αυξήσουν την απορρόφηση των καρετενοειδών στο γαστρεντερικό σωλήνα και τη βιοδιαθεσιμότητα (Morifuji et al.,2020). Επίσης η τοπική εφαρμογή των β-γλυκανών δύναται να βοηθήσει στη βελτίωση της επούλωσης από την ατοπική δερματίτιδα και στην πρόληψη της υποτροπής της (Jesenak et al.,2016).

3.7 Θραύσματα κυτταρικού τοιχώματος

Μέρη του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος μπορούν να προκαλέσουν μια ειδική ανοσολογική απόκριση. Ένα πολύ γνωστό συστατικό είναι το βακτηριακό λιποτεϊχοϊκό οξύ (LTA) θετικών κατά Gram βακτηρίων και το οποίο δύναται να απελευθερωθεί αυθόρμητα στο περιβάλλον. Η ανοσοτροποποιητική του δράση είναι πολύπλοκη: ορισμένες αναφορές έχουν δείξει ότι το LTA μειώνει την παραγωγή IL-12 και επάγει την παραγωγή ανοσοτροποποιητικών κυτοκινών (Kaji et al.,2010). Όμως, η χρήση LTA στη δερματολογία είναι πιο ξεκάθαρη: η τοπική εφαρμογή LTA ενισχύει και οδηγεί σε απελευθέρωση αντι-μολυσματικών πεπτιδίων (π.χ. β-defensin και cathelicidin) (Schauber et al.,2009). Επιπλέον, οι γαλακτοβάκιλλοι και τα μπιφιδοβακτήρια παράγουν σημαντικές ποσότητες LTA που διεγείρουν την απόκριση των μαστοκυττάρων του δέρματος έναντι των βακτηριακών και ιογενών λοιμώξεων (Wang et al.,2012). Το πιο σημαντικό είναι ότι το LTA έχει δείξει αντικαρκινική δράση σε *in vitro* πειράματα (Okamoto et al.,2001). Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω αξιολόγηση ασφάλειας για χρήση LTA.

3.8 Υπεροξειδίου του υδρογόνου

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγεται κυρίως από όλα τα βακτήρια, αλλά συνήθως παρατηρείται σε αερόβιες καλλιέργειες αρνητικών κατά Gram βακτηρίων καταλάσης και αποτελεί σημαντικό μεταβολίτη των βακτηρίων γαλακτικού οξέος. Τα ανασταλτικά και αντιβακτηριακά αποτελέσματα εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, ο σημαντικότερος από τους οποίους είναι η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂). Ορισμένοι παράγοντες, όπως το είδος των βακτηριακών στελεχών και οι περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία και pH), μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη συγκέντρωση των βακτηρίων (Cords & Sanitizers, 1993).

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του H₂O₂ σχετίζονται με τις ισχυρές οξειδωτικές του λειτουργίες στο βακτηριακό κύτταρο. Οι Mahsa Abbasi et al. (2020) διερεύνησαν τις επιδράσεις του *L. rhamnosus* Bifidobacterium longum, του *Lactobacillus acidophilus* και του *B. infantis* ως προς το ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro*. Σε αυτή τη μελέτη, διαπιστώθηκε ότι τα προβιοτικά βακτήρια θα μπορούσαν να εμποδίσουν την ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus* μέσω της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου. Με βάση τέτοιες μελέτες, συμπεραίνεται ότι μεταβιοτικοί μεταβολίτες, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κατάλληλη εναλλακτική λύση στα αντιβιοτικά κατά των παθογόνων βακτηρίων και της αλλοίωσης των τροφίμων.

3.9 Βιταμίνες

Οι βιταμίνες είναι βασικές θρεπτικές ουσίες που είναι αναγκαίες για τη μεταβολική δραστηριότητα στα ζωντανά κύτταρα (Park et al.,2022). Οι βιταμίνες K και B συντίθεται στα εντερικά και προβιοτικά βακτήρια(Park et al.,2022). Η απορρόφηση των διαιτητικών βιταμινών B γίνεται στο λεπτό έντερο , ενώ η απορρόφηση των βιταμινών B που προέρχονται από μικροοργανισμούς γίνεται στο παχύ έντερο(Park et al.,2022), υποδηλώνοντας την πιθανότητα οι βιταμίνες B που προέρχονται από τη διατροφή και τα εντερικά μικρόβια να μεταβολίζονται διαφορετικά στον ανθρώπινο οργανισμό.Στην ανθρώπινη εντερική μικροχλωρίδα συντίθεται οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες του συμπλέγματος B,όπως η βιοτίνη,το φολικό οξύ,η κοβαλαμίνη, το νικοτινικό οξύ, η πυριδοξίνη, το παντοθενικό οξύ, η θειαμίνη και η ριβοφλαβίνη (Park et al.,2022). Η κοβαλαμίνη είναι η βιταμίνη που παράγεται μόνο από αναερόβια βακτήρια(Park et al.,2022).Οι πιο συχνά παραγόμενες στην ανθρώπινη εντερική μικροχλωρίδα βιταμίνες είναι η νιασίνη και η ριβοφλαβίνη (Park et al.,2022). Η ριβοφλαβίνη είναι μια θρεπτική ουσία που είναι αναγκαία για την υγιή διατήρηση του ανθρώπινου ενδοκρινικού,νευρικού, καρδιαγγειακού και ανοσοποιητικού συστήματος (Park et al.,2022).Σύμφωνα με τους Aljaadi et al 2019, η πρόσληψη ριβοφλαβίνης κάτω από τη μέση απαίτηση μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο αναιμίας. Οι βιταμίνες B είναι σημαντικοί συμπαραγόντες και συνένζυμα σε πολλές μεταβολικές οδούς και έχουν σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική ομοιόσταση (Park et al.,2022).Τα διατροφικά συστατικά και η μικροχλωρίδα του εντέρου ρυθμίζουν την ανοσολογική λειτουργία του ξενιστή μέσω των βιταμινών B. Οι παραγόμενες βιταμίνες με χρήση εντεροβακτηρίων είναι πιο φιλικές προς τον καταναλωτή και προκαλούν λιγότερες παρενέργειες σε σύγκριση με τις χημικά παρασκευασμένες βιταμίνες (Park et al.,2022).

4.Μεταβιοτικά και εφαρμογές στην υγεία

4.1Ενίσχυση της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού

Δραστηριότητες που ενισχύουν τη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού μπορούν να μεσολαβήσουν από εκκρινόμενες πρωτεΐνες, όπως οι κύριες εκκρινόμενες πρωτεΐνες Msp1/p75 και Msp1/p40 (Salminen et al,2021) ή η πρωτεΐνη HM0539 του προβιοτικού *L. rhamnosus* GG. Ακόμη, οι εξωπολυσακχαρίτες από *Bifidobacterium*, θεωρείται ότι υποστηρίζουν τη λειτουργία φραγμού μειώνοντας τη φλεγμονή μέσω μηχανισμών σηματοδότησης που δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί (Salminen et al,2021). Όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι ορισμένα είδη *Bifidobacterium* επάγουν μονοπάτια σηματοδότησης, όπως το MAPK και το AKT, που προάγουν τη λειτουργία σφιχτού συνδέσμου μέσω αυτοφαγίας και σηματοδοτικών μονοπατιών ασβεστίου. Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου που υπάρχουν σε ένα μεταβιοτικό παρασκεύασμα έχουν τη δυνατότητα να τροποποιήσουν τη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού και να προστατεύσουν από διαταραχές που προκαλούνται από λιποπολυσακχαρίτες, εάν υπάρχουν σε επαρκή επίπεδα (Salminen et al,2021). Για παράδειγμα, το οξικό (0,5 mM), το προπιονικό (0,01 mM) και το βουτυρικό (0,01 mM), μόνα τους ή σε συνδυασμό, αποδείχθηκε ότι αυξάνουν την διεπιθηλιακή αντίσταση (η διεπιθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (TEER) είναι η μέτρηση της ηλεκτρικής αντίστασης σε μια κυτταρική μονοστιβάδα και είναι μια πολύ ευαίσθητη και αξιόπιστη μέθοδος για την επιβεβαίωση της ακεραιότητας και της διαπερατότητας της μονοστοιβάδας) και διεγείρουν τον σχηματισμό σφιχτών συνδέσεων (οι σφιχτές συνδέσεις σχηματίζουν το συνεχές μεσοκυττάριο φράγμα μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων, το οποίο απαιτείται για τον διαχωρισμό των χώρων των ιστών και τη ρύθμιση της επιλεκτικής κίνησης των διαλυμένων ουσιών σε όλο το επιθήλιο) στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα *Caco-2 in vitro* (Salminen et al,2021). Σε άλλη μελέτη, το βουτυρικό άλας αποδείχθηκε ότι μεταβάλλει τη διαπερατότητα των στενών συνδέσεων μέσω της ενεργοποίησης της λιποξυγενάσης μέσω της ακετυλίωσης της ιστόνης στις κυτταρικές σειρές *Caco-2* (Salminen et al,2021).

4.2 Τροποποίηση ανοσολογικών αποκρίσεων

Οι ανοσοτροποποιητικές δραστηριότητες τόσο σε τοπικό όσο και σε συστημικό επίπεδο ασκούνται γενικά από μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με μικροοργανισμούς που αλληλεπιδρούν με συγκεκριμένους υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων των ανοσοκυττάρων, όπως υποδοχείς Toll Like Receptors (TLRs), υποδοχείς ολιγομερισμού που δεσμεύουν νουκλεοτίδια και υποδοχείς τομέα ολιγομερισμού (NOD) – τύπου λεκτίνες, με αποτέλεσμα την έκφραση διαφόρων κυτοκινών και ανοσοδιαμορφωτών. Οι αλληλεπιδράσεις διαφόρων μοριακών προτύπων που σχετίζονται με μικροοργανισμούς με συγκεκριμένους ανοσοϋποδοχείς έχουν χαρακτηριστεί, κυρίως μέσω μελετών μοριακής αλληλεπίδρασης και επικύρωσης σε ζωικά μοντέλα: λιποτεϊχοϊκό οξύ που αλληλεπιδρά με τον TLR2 ή τον TLR6, η πεπτιδογλυκάνη ή τα μουροπεπτίδια που προέρχονται από πεπτιδογλυκάνες, που αλληλεπιδρούν με το NOD2, κροσσοί ή πυλώνες που διαμορφώνουν τη σηματοδότηση του TLR2, μαστίγια που αλληλεπιδρούν κυρίως μέσω του TLR5, CpG-DNA που αλληλεπιδρά με τον TLR9, λιποπολυσακχαρίτης ορισμένων μεταβιοτικών που προέρχονται από Gram-αρνητικά βακτήρια, όπως ως *Escherichia coli* Nissle, αλληλεπιδρώντας κυρίως με τον TLR4 και μερικές φορές τον TLR2 (Salminen et al, 2021), β-γλυκάνες σε ζυμομύκητες, όπως ο *Saccharomyces cerevisiae*, που αλληλεπιδρούν με τους TLR2 και τους ανοσοϋποδοχείς της λεκτίνης και λιποπρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν κυρίως μέσω TLR2. Αυτά τα μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με μικρόβια θα μπορούσαν επίσης να υπάρχουν στα μεταβιοτικά, εάν δεν καταστραφούν ή τροποποιηθούν από τη διαδικασία αδρανοποίησης. Ορισμένα από τα προαναφερθέντα ανοσοδιεγερτικά βακτηριακά λύματα περιέχουν προϊόντα λύσης τόσο θετικών όσο και αρνητικών κατά Gram και έχει αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν με τους TLR4 και TLR2. Επιπλέον βακτήρια του εντέρου όπως ο γαλακτοβάκιλλος παράγουν μεταβολίτες, όπως το γαλακτικό οξύ που διεγείρει τα εντερικά μακροφάγα (κύτταρα του ανοσοποιητικού) μέσω του υποδοχέα GPR31. Ομοίως, παράγωγα ινδόλης της τρυπτοφάνης που παράγονται από το *Limosilactobacillus reuteri* (πρώην *Lactobacillus reuteri*) μπορούν να ενεργοποιήσουν τον υποδοχέα αρυλο-υδρογονάνθρακα στα CD4⁺ T κύτταρα στο έντερο ποντικού, προκαλώντας διαφοροποίηση σε CD4⁺CD8α⁺ διπλά θετικά ενδοεπιθηλιακά λεμφοκύτταρα. Άλλοι ανοσοτροποποιητικοί μικροβιακοί μεταβολίτες περιλαμβάνουν την ισταμίνη, τα διακλαδισμένης αλυσίδας λιπαρά οξέα και τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού τα οποία έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν μια σειρά από ανοσολογικές αποκρίσεις, όπως η καταστολή του NF-κB.

Το εντερικό σύστημα είναι το μεγαλύτερο μικροοικοσύστημα και το μεγαλύτερο ανοσοποιητικό όργανο του ανθρώπινου σώματος. Υπάρχουν τέσσερις κύριες ομάδες εντερικών βακτηρίων: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria και Proteobacteria. Η αναλογία Firmicutes προς Bacteroidetes (F/B) είναι ένας βιοδείκτης που χρησιμοποιείται ευρέως για την αξιολόγηση παθολογικών καταστάσεων. Μια αυξημένη αναλογία F/B θεωρείται ευρέως ως σημάδι ανισορροπίας του εντερικού μικροβιώματος (Salminen et al, 2021).

Τα εντερικά βακτήρια επικοινωνούν με τη φυσιολογία και το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή μέσω των μεταβολιτών τους. Την τελευταία δεκαετία έχει παρατηρηθεί ότι τα SCFA μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των εγγενών ανοσοκυττάρων και κυτοκινών σε ένα μικροπεριβάλλον μέσω των τροφικών τους επιδράσεων στον εντερικό βλεννογόνο και να διατηρήσουν την ομοιότητα του ξενιστή ρυθμίζοντας τη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων για προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση σύμφωνα με τις ανάγκες του ξενιστή. Η αλληλεπίδραση των SCFA με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος λαμβάνει χώρα μέσω των υποδοχέων ελεύθερων λιπαρών οξέων FFA2 και FFA3, μιας ομάδας υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνη G τους GPCR43 και GPCR41 αντίστοιχα. Τα SCFA διαφέρουν ως προς την εκλεκτικότητά τους στην ενεργοποίηση των υποδοχέων FFA2 και FFA3. Έχει αποδειχθεί ότι το FFA2 ενεργοποιείται σε μεγαλύτερο βαθμό από λιπαρά οξέα με μικρότερη αλυσίδα, ενώ το FFA3 χαρακτηρίζεται από αντίστροφη σχέση (Salminen et al, 2021).

4.3 Μελέτες σε ζώα

Η χρήση μεταβιοτικών σε πειραματόζωα έχει καταδείξει τη βιολογική δραστηριότητα αδρανοποιημένων/ νεκρών βακτηρίων, τα οποία προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα στη σύνθεση, την ασφάλεια και τα ρυθμιστικά ζητήματα σε σχέση με τα «ζωντανά» αντίστοιχά τους. Ένα παράδειγμα είναι το μεταβιοτικό που προέρχεται από *Limosilactobacillus fermentum* και *Lactobacillus delbrueckii* που επηρέασε τη συμπεριφορά ποντικών. Το προϊόν ζύμωσης υποβλήθηκε σε επεξεργασία σε υψηλή θερμοκρασία για την επίτευξη μικροβιακής απενεργοποίησης (Salminen et al, 2021). Τα ζώα που τρέφονταν με μεταβιοτικά παρουσίασαν αυξημένη κοινωνικότητα και μειωμένα επίπεδα κορτικοστερόνης (ορμόνη του στρες) σε σύγκριση με τους μάρτυρες που τρέφονταν με κανονικό σιτηρέσιο τρωκτικών, με μικρές αλλά στατιστικά σημαντικές αλλαγές στη σύνθεση του εντερικού μικροβιόκοσμου. Η ίδια ερευνητική ομάδα συνέχισε να χρησιμοποιεί το ίδιο μεταβιοτικό σε ένα μοντέλο ποντικού που έπασχε από κολίτιδα που

προκαλείται από *Citrobacter*, το οποίο χαρακτηρίζεται από βράχυνση του μήκους του λεπτού εντέρου και αύξηση του βάθους της κρύπτης του παχέος εντέρου. Το μεταβιοτικό δεν απέτρεψε τη μόλυνση από το *Citrobacter*, αλλά τα ποντίκια που τρέφονταν με μεταβιοτικά είχαν μακρύτερο λεπτό έντερο και μειωμένο βάθος της κρύπτης του παχέος εντέρου σε σύγκριση με τα ζώα ελέγχου που έλαβαν μόνο τυπική τροφή για ποντίκια.

4.4 Μελέτες σε ανθρώπους

Για στοιχεία σχετικά με τα οφέλη των μεταβιοτικών για την υγεία σε ενήλικες, στο Cochrane Central Register of Controlled Trials και στη βάση δεδομένων MEDLINE αναζητήθηκαν τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές (RCT), μελέτες κοόρτης ή μετα-αναλύσεις τους που συνέκριναν τα μεταβιοτικά με εικονικά φάρμακα ή χωρίς θεραπεία. Αν και τα δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους δεν είναι αρκετά, όμως έχει φανεί η αποτελεσματικότητα των από του στόματος χορηγούμενων απενεργοποιημένων βακτηρίων γαλακτικού οξέος, στην καταπολέμηση της λοίμωξης από ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, στην ανακούφιση των συμπτωμάτων σε ασθενείς με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS)) και χρόνια διάρροια άγνωστης αιτίας και στη μείωση των αρνητικών συνεπειών του στρες (Salminen et al, 2021). Σε μια διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή σε 443 άτομα με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS), η οποία περιελάμβανε από του στόματος χορηγούμενο, απενεργοποιημένο από τη θερμότητα *Bifidobacterium bifidum* MIMBb, το μεταβιοτικό ανακούφισε σημαντικά τα συμπτώματα που σχετίζονται με το IBS, όπως κοιλιακό άλγος ή δυσφορία, κοιλιακό φούσκωμα και μη φυσιολογικές συνήθειες του εντέρου. Δεν παρατηρήθηκαν οφέλη όσον αφορά τη ρύθμιση της λειτουργίας του εντερικού φραγμού σε 25 ασθενείς με αυξημένη διαπερατότητα λόγω αποφρακτικού ίκτερου που έλαβαν θεραπεία με απενεργοποιημένο *Lactiplantibacillus planarum* (παλαιότερα γνωστός ως *Lactobacillus planarum*) (Salminen et al, 2021). Όπως συμβαίνει με ολόκληρη αυτή την κατηγορία, τα δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους είναι περιορισμένα, είναι ποικίλης ποιότητας και έχουν οδηγήσει σε ποικίλα συμπεράσματα. Άλλοι επίσης αναπτύσσουν τοπικά προϊόντα με προϊόντα μεταβολισμού του προβιοτικού *L. rhamnosus* GG για δερματικές εφαρμογές. Ένα αυτόλογο σκεύασμα για τοπική δερματική χρήση που περιλαμβάνει πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP), βιομιμητικά πεπτίδια, μεταβιοτικά (*plantaricin A*, *A. kunkeei* bee bread) και εκχύλισμα άνθους, φύλλων ή στελέχους *Tropaeolum majus*, έδειξε ότι είναι ανώτερο από το εικονικό φάρμακο στη θεραπεία της γυροειδούς αλωπεκίας σε 160 ασθενείς (Rinaldi et al., 2020). Σύμφωνα με τους Rinaldi et al, παρότι τα PRP έχουν εφαρμογές και από μόνα τους στην αλωπεκία, υπάρχουν

κάποιοι περιορισμοί συμπεριλαμβανομένης της απουσίας τυποποιημένης συγκέντρωσης αιμοπεταλίων, της διαφοροποίησης στην παρασκευή του PRP και ορισμένων νομοθετικών ζητημάτων. Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, οι ερευνητές έχουν στραφεί στα βιοδραστικά πεπτίδια που μιμούνται τη δραστηριότητα των αυξητικών παραγόντων που προέρχονται από αιμοπετάλια, έχουν παρόμοια αποτελεσματικότητα με τη θεραπεία PRP και μπορούν εύκολα να ενσωματωθούν σε σκευάσματα. Υπάρχουν πολλά παραδείγματα της κλινικής σημασίας των ουσιών που προέρχονται από μικρόβια.

Ένα από τα πιο αξιοσημείωτα παραδείγματα είναι τα αντιβιοτικά, το πρώτο από τα οποία, η πενικιλίνη, προήλθε από το καλούπι πενικιλίου, το *Penicillium notatum*. Άλλα αντιβακτηριακά συστατικά που έχουν απομονωθεί από το έντερο, συμπεριλαμβανομένων των τοπικά εφαρμοζόμενων βακτηριοσινών όπως η νισίνη και η ESL5, μια βακτηριοκίνη που απομονώθηκε από τον *Enterococcus faecalis* SL-5 (Salminen et al, 2021). Η τοπική εφαρμογή αυτών των ουσιών παρέκαμψε τις προκλήσεις που αντιμετωπίζει μια από του στόματος χορηγούμενη βακτηριοσίνη στη θεραπεία της μαστίτιδας (n = 8) και της κοινής ακμής (n = 70), αντίστοιχα. Η αυξανόμενη ανησυχία για τα ανθεκτικά στα αντιβιοτικά στελέχη διάφορων ανθρώπινων παθογόνων καθιστά αναγκαία την αναζήτηση νέων αντιμικροβιακών παραγόντων στη μικροχλωρίδα. Τέτοιες ουσίες σε καθαρή μορφή δεν εμπίπτουν στο πεδίο των μεταβιοτικών όπως ορίζεται εδώ, αλλά θα μπορούσαν να συμβάλλουν στη λειτουργικότητα των παρασκευασμάτων αδρανοποιημένων μικροοργανισμών.

4.5 Γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί

Στην ιατρική χρησιμοποιούνται ευρύτατα οι γενετικώς τροποποιημένοι οργανισμοί και φαίνεται να έχουν θετικό ρόλο ως πρόγονοι μικροοργανισμοί για την παραγωγή μεταβιοτικών για μια σειρά κλινικών σεναρίων, όπως τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου ή τη βλεννογονίτιδα που προκαλείται από την ακτινοβολία και την τροφική αλλεργία (Salminen et al., 2021). Έχουν βρεθεί συγκεκριμένες ενδείξεις κλινικής αποτελεσματικότητας για τους ΓΤΟ (Salminen et al, 2021), αλλά οι κανονιστικές προκλήσεις, καθώς και η κοινή γνώμη σε ορισμένες περιοχές του κόσμου, αποτελούν τροχοπέδη για την εξέλιξη σε αυτόν τον τομέα.

4.6 Αντιβακτηριακές επιδράσεις των μεταβιοτικών

Μία από τις ευεργετικές ιδιότητες των μεταβιοτικών είναι η αναστολή των παθογόνων βακτηρίων. Τα αντιβακτηριακά αποτελέσματα των μεταβιοτικών εξαρτώνται

από (α) τον τύπο του προβιοτικού από τον οποίο παρασκευάζεται το μεταβιοτικό, (β) τον τύπο του βακτηρίου στόχου (τα Gram-θετικά είναι πιο ανθεκτικά από τα Gram-αρνητικά έναντι των μεταβιοτικών ενώσεων) και (γ) τη συγκέντρωση των μεταβιοτικών (Moradi et al.,2020). Τα μεταβιοτικά έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες, καθώς σφραγίζουν τον εντερικό φραγμό και δεσμεύονται ανταγωνιστικά σε υποδοχείς που χρειάζονται τα παθογόνα. Έτσι αλλάζουν την έκφραση του γονιδίου του ξενιστή ή διαμορφώνουν το τοπικό περιβάλλον. Από αυτή την άποψη, σε μια *in vitro* μελέτη, διερευνήθηκαν οι επιδράσεις των μεταβιοτικών που προέρχονται από το *Lactobacillus plantarum*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μεταβιοτικά μπορούν να αποτελέσουν ανασταλτικό παράγοντα, ώστε να μειωθεί η προσκόλληση και η διείσδυση της *Listeria monocytogenes* (Moradi et al.,2019). Η χορήγηση μεταβιοτικών από προβιοτικά βακτήρια *L. casei*, *L. acidophilus* και *L. delbruckii* σε ποντίκια αύξησε τα επίπεδα IgA στη βλεννογόνο του λεπτού και παχέως εντέρου. Αυτό μείωσε τη σοβαρότητα των εντερικών λοιμώξεων που προκαλούνται μέσω παθογόνων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου των *Escherichia coli* ή *Salmonella enteritidis* *Typhimurium* (Humam et al.,2020). Αντιβακτηριακή δράση έχει φανεί στα υπερκείμενα των καλλιιεργειών *Bifidobacterium* και *Lactobacillus*. Αυτό έχει παρατηρηθεί *in vitro* με την πρόληψη της εισβολής εντεροδιηθητικών στελεχών *E. coli* στα εντεροκύτταρα. Τα υπερκείμενα των κυττάρων θα μπορούσαν επίσης να ασκήσουν τοπικές επιδράσεις στην έκφραση των προστατευτικών γονιδίων, του κυτταρικού φραγμού και του εντερικού περιβάλλοντος, παρόλο που τέτοια αντιβακτηριακά χαρακτηριστικά μπορεί να προκληθούν από την αναστολή της προσκόλλησης παθογόνων βακτηρίων (καθώς ανταγωνίζονται για θέσεις υποδοχέα). Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (π.χ. οξικό) που παράγονται από τους γαλακτοβάκιλλους απέτρεψαν τη μόλυσματικότητα του *E. coli* O157: H7 σε ένα μοντέλο ποντικού. Γαλακτικό οξύ που παράγεται από έξι στελέχη *Lactobacillus* (*L. amylovorus* DCE 471, *L. acidophilus* IBB 801, *L. johnsonii* La1, *L. casei* Shirota, *L. plantarum* ACA-DC 287 και *L. rhamnosus* GG) μπλοκάρει την μόλυνση από *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* SL1344 στα κύτταρα Caco 2/TC7, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπινων εντεροκυττάρων (Bhat et al.,2019). Σύμφωνα με μελέτες, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι κάθε μία από τις μεταβιοτικές ενώσεις μπορεί να αναστείλει ή να θανατώσει παθογόνα βακτήρια μέσω διαφορετικού μηχανισμού.

4.7 Αντιβακτηριακοί μηχανισμοί των μεταβιοτικών

Όπως αναφέρθηκε, η επίδραση των μεταβιοτικών στα παθογόνα βακτήρια πραγματοποιείται μέσω διαφορετικών μηχανισμών.

4.7.1 Μεταβιοτικά με βάση οργανικά οξέα

Τα οργανικά οξέα των μεταβιοτικών είναι ενώσεις με αντιμικροβιακές ιδιότητες (Aljumaah et al.,2020). Τα πιο σημαντικά οξέα που παράγονται από προβιοτικά βακτήρια και που εμφανίζουν ισχυρή αντιβακτηριακή δράση είναι το κιτρικό, το οξικό και το τρυγικό οξύ. Το γαλακτικό, το οξικό, το τρυγικό, το μηλικό και το κιτρικό οξύ αναστέλλουν τα παθογόνα μειώνοντας σημαντικά την τιμή του pH (Mani-López et al.,2012). Η ανασταλτική δράση των γαλακτικών οξέων σχετίζεται επίσης με την επίδρασή τους στις βακτηριακές κυτταρικές μεμβράνες. Ο αντιβακτηριακός μηχανισμός των οργανικών οξέων παρατηρείται κυρίως μέσω της μείωσης του ενδοκυτταρικού pH και της επακόλουθης καταστροφής της ακεραιότητας της μεμβράνης (Rad et al.,2020).

4.7.2 Μεταβιοτικά με βάση τα λιπαρά οξέα

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFAs) που παράγονται από προβιοτικά βακτήρια έχει γίνει πολύ διαδεδομένη. Στους αντιβακτηριδιακούς μηχανισμούς των SCFAs περιλαμβάνονται η αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης και η κυτταρική λύση, η διαταραχή της δομής, η δραστηριότητα των ενζύμων και μορφολογικές/λειτουργικές αλλαγές σε ευαίσθητα συστατικά όπως οι πρωτεΐνες.

4.7.3 Πεπτιδικής φύσης μεταβιοτικά

Οι μικροοργανισμοί παράγουν αντιβακτηριακά πεπτίδια. Τα πεπτίδια αυτά καταστρέφουν τα μικρόβια μέσω πλειοτροπικών μηχανισμών (πολλαπλών δράσεων), όπως η αποικοδόμηση της μικροβιακής μεμβράνης και η αναστολή της σύνθεσης μακρομορίων. Τα αντιβακτηριακά πεπτίδια παρουσιάζουν ισχυρή αντιβακτηριακή δράση *in vitro* διαταράσσοντας τις μικροβιακές μεμβράνες (Hanson et al.,2019) ή/και το κυτταρόπλασμα (Karimi et al.,2020). Άλλοι αντιβακτηριδιακοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη δημιουργία φυσικών οπών που διαρρέουν κυτταρικό περιεχόμενο, την καταστροφή των ευαίσθητων ενδοκυτταρικών συστατικών των μικροβίων, και την αύξηση της οξύτητας στη βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη (Zasloff,2002).

4.7.4 Μεταβιοτικά με βάση τις βακτηριοσίνες

Βακτηριοσίνες είναι πεπτίδια ή πρωτεΐνες με αντιβακτηριακή δράση που παράγονται από βακτήρια, όπως ο *Lactobacillus* και τα *bifidobacteria* (Rad et al.,2020). Χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τροφίμων που έχουν υποστεί ζύμωση και

χαρακτηρίζονται από αντιβακτηριακή δράση. Η ταξινόμηση τους γίνεται με βάση τον μηχανισμό δράσης, το μέγεθος τους και το ανασταλτικό τους φάσμα. Ο αντιβακτηριακός μηχανισμός των βακτηριοσινών εστιάζει κυρίως μέσω της επίδρασής τους στις βακτηριακές κυτταροπλασματικές μεμβράνες.

4.8 Αντιικές επιδράσεις των μεταβιοτικών

Σε *in vitro* μελέτες έχει φανεί ότι τα μεταβιοτικά έχουν αντιικές ιδιότητες, σε ιούς με περίβλημα. Για την επιτυχή εξάλειψη των ιών, το μολυσμένο κύτταρο πρέπει να προκαλέσει μια προφλεγμονώδη ανοσολογική απόκριση και να αναπτύξει ανοσία τύπου Th1, που και τα δύο οδηγούν στον περιορισμό της αντιγραφής του ιού. Οι αποκρίσεις αυτές συνδέονται με την παραγωγή φλεγμονωδών χημειοκινών, κυτταροκινών και ιντερλευκινών, όπως ο TNF- α , οι ιντερφερόνες, η IL-23, η IL-18 και η IL12, και την κυτταροτοξική ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων, των NK κυττάρων και των μονοκυττάρων/μακροφάγων (Alsaadi et al.,2020). Τα προβιοτικά και οι μεταβολίτες τους μπορούν να προστατεύσουν από ιογενείς λοιμώξεις ενισχύοντας την προσαρμοστική και έμφυτη ανοσία, μειώνοντας τη διάρκεια της ασθένειας και τον αριθμό των φορών που θα νοσήσει κάποιος. Ενισχύουν επίσης τη δημιουργία αντισωμάτων ειδικών για τον ιό και ομαλοποιούν τη διαπερατότητα του εντέρου (Wu et al.,2020). Τα μεταβιοτικά μπορούν να επηρεάσουν την απορρόφηση και τη διείσδυση του ιού στο κύτταρο ξενιστή και να αναστείλουν αρκετές ρετροϊκές ανάστροφες μεταγραφάσες. Η αντιική δράση των μεταβιοτικών εξαρτάται από τον τύπο του προβιοτικού που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή των μεταβιοτικών και τον τύπο των ιών.. Σε μια μελέτη, οι Firoz Anwar et al. (2020) έδειξαν την επίδραση των προβιοτικών φυτικής προέλευσης (Plantaricin) στον SARS-CoV-2. Παρατηρήθηκε ότι τα Plantaricin αποτρέπουν τη μόλυνση ρυθμίζοντας το ανοσοποιητικό σύστημα (επηρεάζοντας τα T κύτταρα, παράγοντας IFN- γ και μειώνοντας της προφλεγμονώδεις κυτοκίνες) και έχοντας άμεση επίδραση στον ιό. Ο SARS-CoV-2 εισέρχεται στο κύτταρο ξενιστή μέσω της ακίδας γλυκοπρωτεΐνης (S) με υψηλή συγγένεια για τον υποδοχέα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE2). Μόλις αυτή η γλυκοπρωτεΐνη εισέλθει στο σώμα με το ένζυμο μετατροπέα αγγειοτενσίνης 2 (ACE2), προκαλεί μόλυνση στο σώμα. Οι μεταβιοτικές ενώσεις (Plantaricin) μπορούν να αναστείλουν την παθογένεια του Covid-19, δεσμεύοντας την ακίδα γλυκοπρωτεΐνης (S). Σε μια άλλη μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση των απαλλαγμένων από κύτταρα μεταβολιτών του *L. rhamnosus* στον εντεροϊό και τον ιό Coxsackie στις κυτταρικές σειρές HeLa, Vero και Hep-2. Διαπιστώθηκε ότι οι μεταβολίτες του *L. rhamnosus* εμπόδισαν τους ιούς να

προσκολληθούν στις κυτταρικές σειρές (Kalinichenko et al.,2020). Σε μια άλλη μελέτη, οι B.J. Seo et al. (2012) εξέτασαν την επίδραση του υπερκειμένου ελεύθερων κυττάρων *Leuconostoc mesenteroides* στο H9N2 σε νεοσσούς με SPF και διαπίστωσε ότι η πρόσληψη προβιοτικών μεταβολιτών αύξησε σημαντικά την παραγωγή κυτοκίνης IFN- γ και έκανε τα κοτόπουλα άνοσα έναντι του H9N2(Seo et al.,2012).

Η αντιική δράση των μεταβιοτικών παρατηρείται κυρίως με την παρεμπόδιση της προσκόλλησης των ιών στα κύτταρα του ξενιστή, αποτρέποντας έτσι τα αρχικά στάδια της ιογενούς λοίμωξης. Οι ιοί εμποδίζονται να εισέλθουν στα κύτταρα του ξενιστή ,αναστέλλοντας τη σύνδεση τους με ειδικούς υποδοχείς (Baud et al.,2020). Επιπλέον, τα προβιοτικά μπορεί να παρεμβαίνουν στα στάδια του ιικού κύκλου εντός των κυττάρων (Sundararaman et al.,2020).

Σχετικά με τα συστατικά των μεταβιοτικών με αντιική δράση αναφέρονται τα οργανικά οξέα όπως το γαλακτικό (Li et al.,2002), το κιτρικό και το οξικό οξύ που μειώνουν το pH και δημιουργούν ένα όξινο περιβάλλον, τα πεπτιδικά μόρια που εμποδίζουν τον ιικό πολλαπλασιασμό και το υπεροξειδίο του υδρογόνου που αποτελεί τον κύριο μεταβολίτη των βακτηρίων γαλακτικού οξέος (Aljumaah et al.,2020).

4.9 Αντιοξειδωτικές επιδράσεις των μεταβιοτικών

Τα μεταβιοτικά περιλαμβάνουν συστατικά με μηχανισμούς έναντι της οξειδωσης κυρίως από τα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS). Ειδικότερα, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, συμπεριλαμβανομένης της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD), της καταλάσης, και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx) κατέχουν σημαντικό ρόλο στην καταπολέμηση των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (Homayouni et al.,2020).

Πίνακας 2. Αντιοξειδωτικές εφαρμογές των μεταβιοτικών

Προβιοτικό στέλεχος	Τύπος μεταβιοτικού	Τύπος αξιολόγησης	Μέθοδος	Αντιοξειδωτικές επιδράσεις	Βιβλιογραφία
Lactobacillus plantarum RG14 · RG11	Ένζυμο	Ως στοματικό συμπλήρωμα για αρνιά	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Τα μεταβιοτικά αυξάνουν την αντιοξειδωτική δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX) στον ορό και το υγρό της μεγάλης κοιλίας και των GPX1, GPX4, ηπατικής υπεροξειδάσης δισμουτάσης	(Izuddin et al.,2020)
Lactobacillus plantarum	Ένζυμο	Ως από του στόματος συμπλήρωμα για κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής	Εξετάζοντας την ποιότητα του κρέατος (pH, WHC, χρώμα και ευαισθησία)	Ενισχύουν τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων.	(Lin et al.,2020)
Lactobacillus plantarum RI11	Ένζυμο	Ως από του στόματος συμπλήρωμα για κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής	Με τον έλεγχο της ποιότητας του κρέατος κοτόπουλου	Το μεταβιοτικό αυξάνει τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (GPx, CAT και GSH) και μειώνει τον δείκτη θερμικού στρες	(Humam et al.,2020)

4.10 Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί μεταβιοτικών

Μελέτες σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση των μεταβιοτικών έχουν δείξει ότι εξαρτάται κυρίως από τον τύπο των προβιοτικών που επιλέγονται για την εξαγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων. Για παράδειγμα, το *L. fermentum* έχει αποδειχθεί ότι παράγει

την υψηλότερη ποσότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ακολούθως παρουσιάζονται αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί αυτών των ενζύμων.

Η καταλάση είναι ένα ένζυμο που βρίσκεται στα προβιοτικά και σε άλλους οργανισμούς και διασπά το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε οξυγόνο και νερό. Η καταλάση παράγεται ως μεταβολίτης των προβιοτικών βακτηρίων και επομένως θεωρείται μεταβιοτικό. Γενικά, η καταλάση (Reductase oxidase enzyme) δρα ως αντιοξειδωτικό, προστατεύοντας τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες αναστέλλοντας τα ενεργά είδη οξυγόνου. Το pH που είναι κατάλληλο για την δράση αυτού του ενζύμου είναι 4-11 (Yang et al., 2020). Επομένως, το pH του περιβάλλοντος πρέπει επίσης να λαμβάνεται υπόψη κατά τη χρήση αυτών των ενζύμων ως μεταβιοτικών με αντιοξειδωτικές ιδιότητες.

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) είναι ένα βασικό ένζυμο του αντιοξειδωτικού συστήματος των ζωντανών οργανισμών. Μπορεί να καταλύσει και να διευκολύνει τη ριζική διάσπαση των υπεροξειδίων (O_2^-) σε μόρια οξυγόνου (O_2) ή υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) (Lin et al., 2020). Οι τρεις ισομορφές υπεροξειδικής δισμουτάσης σε ζωντανούς οργανισμούς, οι οποίες περιλαμβάνουν την κυτοσολική SOD1 (χαλκός, ψευδάργυρος-SOD), τη μιτοχονδριακή SOD2 (Mn-SOD) και την εξωκυτταρική SOD3 (EC-SOD), διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της υγείας των κυττάρων. Επίσης προστατεύει τους ιστούς από τις επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες (Banerjee et al., 2019). Η SOD είναι ένας τύπος μεταβιοτικού που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιοξειδωτική ένωση (Hassaan et al., 2020).

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) είναι ένας τύπος ενζύμου του οποίου ο κύριος βιολογικός ρόλος είναι η προστασία των οργανισμών από οξειδωτικές βλάβες. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης εξουδετερώνει τις επιδράσεις του H_2O_2 (Brigelius-Flohé & Flohé, 2020). Η GPx ανάγει τα υπεροξειδία προς αλκοόλες εμποδίζοντας τον σχηματισμό δραστικών ελεύθερων ριζών, χρησιμοποιώντας ως αναγωγικό παράγοντα τη γλουταθειόνη.

4.11 Αντικαρκινική δράση των μεταβιοτικών

Πολλές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τις αντικαρκινικές επιδράσεις των μεταβιοτικών σε εργαστηριακές και προκλινικές φάσεις. Για παράδειγμα, μια μελέτη κατέδειξε τον μεταβιοτικό ρόλο του *Lactobacillus paracasei* στον καρκίνο του φλοιού των επινεφριδίων. Ο αντικαρκινικός μηχανισμός του *L. paracasei* συνδέεται με την ανασταλτική επίδραση μιας πρωτεΐνης του κυτταρικού τοιχώματος στην κυτταρική ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων (Yang et al., 2020). Μια άλλη μελέτη ανέδειξε την αντικαρκινική δράση

μεταβιοτικών που συνδέεται με τις βακτηριοσίνες, ιδιαίτερα την εντεροκίνη. Γενικά, οι βακτηριοσίνες έχουν κυτταροστατική και αποπτωτική δράση κατά των καρκινικών κυττάρων (Vairavel et al.,2020).

Πίνακας 3. Πιθανή αντικαρκινική δράση των μεταβιοτικών

Προβιοτικό στέλεχος	Τύπος μεταβιοτικού	Κυτταρική γραμμή καρκίνου	Επίδραση/εις	Μέθοδος αξιολόγησης αντικαρκινικής δραστηριότητας	Βιβλιογραφία
Lactobacillus plantarum	Βακτηριοσίνη	Ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα μαστού MCF-7	Μειωμένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός	Παρατήρηση της κυτταροτοξικής επίδρασης των μεταβιοτικών με φθορίζουσα μικροσκοπική παρατήρηση χρησιμοποιώντας έγχρωμα αντιδραστήρια AO / PI και κυτταρομετρικές αναλύσεις ροής	(Chuah et al.,2019)
Lactobacillus plantarum I-UL4	Πρωτεΐνη	MCF-7 καρκινικό κύτταρο μαστού	Κυτταροτοξικότητα και μειωμένος πολλαπλασιασμός	Μέσω μεθόδου στέρησης 3-(4, 5 διμεθυλθειαζολ-2-υλ)-2, 5-διφαινυλ τετραζολίου βρωμιούχου και μπλε τρυπανίου.	(Luang-In et al.,2020)
Lactobacillus casei and Lactobacillus paracasei	Πρωτεΐνη	Κύτταρα καρκίνου του τραχήλου της μήτρας	Μειώνουν την απόπτωση, δεσμεύουν καρκινογόνες γονοτοξίνες και μειώνουν τον πολλαπλασιασμό	Μέσω RT-q PCR και western blotting	(Pourmollaie et al.,2020)
Lactobacillus paracasei K5	Πρωτεΐνη	Ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου	Αντιπολλαπλασιαστική δράση και αποπτωτική δράση	Με τη χρήση ποσοτικής ανάλυσης και συνεστιακής, φθορίζουσας μικροσκοπίας μελετήθηκαν οι ιδιότητες πρόσφυσης των μεταβιοτικών	(Chondrou et al.,2020)

4.12 Αντικαρκινικοί μηχανισμοί των μεταβιοτικών

Τα τελευταία χρόνια έχει φανεί σε πολλές *in vitro* και *in vivo* μελέτες ότι τα μεταβιοτικά κατέχουν πρωτεύοντα ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία διαφόρων τύπων καρκίνων. Σε αυτές τις μελέτες καταδείχθηκαν διάφοροι μοριακοί μηχανισμοί με ρόλους στη λειτουργία των μεταβιοτικών, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης της απόπτωσης και της νέκρωσης, της ρύθμισης των ανοσολογικών αποκρίσεων, της μείωσης της βακτηριακής μετάδοσης, της αναστολής των καρκινογόνων και μεταλλαξιογόνων παραγόντων, της ενεργοποίησης προ-αποπτωτικών μονοπατιών κυτταρικού θανάτου, της αναστολής της δυσβίωσης του εντέρου και της αύξησης του θανάτου των καρκινικών κυττάρων μέσω της αυτοφαγίας (Nozari et al.,2019).

4.12.1 Μείωση της βακτηριακής μετάδοσης

Για την πρόκληση καρκίνου ευθύνονται διάφορα βακτήρια.Μια ασθένεια που προκαλείται από παθογόνα βακτήρια (*Enterococcus* spp.,*Streptococcus bovis*, *Helicobacter pylori* και *E. coli*) είναι ο καρκίνος του παχέος εντέρου.Επιπλέον, ο καρκίνος του στομάχου προκαλείται συχνά από το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού. Λόγω των αντιβακτηριακών τους ιδιοτήτων, τα μεταβιοτικά είναι σε θέση να εμποδίσουν την προσκόλληση των βακτηρίων στο εντερικό επιθήλιο και την παραγωγή τοξινών και με αυτόν τον τρόπο να αποτρέψουν την πρόκληση καρκίνου.

4.12.2 Αναστολή μεταλλαξιογόνων και καρκινογόνων παραγόντων

Τα μεταβιοτικά δύναται να αναστείλουν ενεργά καρκινογόνα συστατικά ή να επιδράσουν στη λειτουργία ενζύμων που διεγείρουν/απενεργοποιούν τον καρκίνο. Μελέτες *in vitro* έχουν δείξει ότι η αντιμεταλλαξιογόνος ιδιότητα των προβιοτικών συνδέεται με τα μεταβιοτικά που προέρχονται από αυτά, συμπεριλαμβανομένων των πολυσακχαριτών ,των εκκριτικών γλυκοπρωτεϊνών και πεπτιδικών γλυκανών, καθώς και στη φάση της βακτηριακής ανάπτυξης, στον τύπο μετάλλαξης, στο pH του περιβάλλοντος και σχετικό στέλεχος (Chuah et al.,2019).

4.12.3 Ενεργοποίηση προ-αποπτωτικών οδών κυτταρικού θανάτου

Τα καρκινικά κύτταρα διαθέτουν μη ρυθμισμένο πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη και είναι ικανά να καταπολεμούν τις αποπτωτικές αποκρίσεις. Μεταβολίτες που παράγονται από *Lactobacillus* spp. όπως πεπτιδογλυκάνες, κυτταροπλασματικά εκχυλίσματα έχουν αντιπολλαπλασιαστικές και αποπτωτικές αποκρίσεις στα καρκινικά κύτταρα. Από αυτή την

άποψη, οι μεταβολίτες που προέρχονται από *Lactobacillus spp* έχει αποδειχθεί ότι έχουν ανασταλτική δράση με ταχεία αποπτωτική απόκριση και αναστολή του κυτταρικού κύκλου σε κυτταρικές σειρές καρκίνου HT-29 (Eslami, et al.,2019).

4.12.4 Αυξημένη εντερική οξύτητα

Μεταβιοτικά συστατικά, όπως SCFAs και οργανικά οξέα (προπιονικά και γαλακτικά) μπορούν να οξινίσουν το εντερικό περιβάλλον και να αποτρέψουν την ανάπτυξη παθογόνων που οδηγούν στο σχηματισμό καρκινικών όγκων (Nozari et al.,2019). Μεταξύ των μεταβιοτικών, τα SCFA αποτελούν έναν ιδανικό ενεργειακό πόρο για τα κολονοκύτταρα που ενισχύοντας τη διαφοροποίηση των κυττάρων του βλεννογόνου, συμβάλλουν στη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού, ελέγχουν την απόπτωση, αποτρέπουν τη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη των κυττάρων και ελέγχουν την ακετυλίωση της ιστόνης (Taware et al.,2015).

4.13 Μελλοντικές κλινικές εφαρμογές

Τα μεταβιοτικά θα διαδραματίσουν στο μέλλον σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία πολλών ασθενειών (π.χ. νόσος Alzheimer, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου ή σκλήρυνση κατά πλάκας). Τα πρώτα αποτελέσματα από κλινικές δοκιμές που έχουν αρχίσει να πραγματοποιούνται σχετικά με την τροποποίηση του μικροβιόκοσμου των ασθενών είναι ενθαρρυντικά (Khan et al.,2019). Τα μεταβιοτικά θα έχουν ιδιαίτερο ρόλο και στα βρέφη, καθώς οι πρώτοι μήνες της ζωής είναι κρίσιμοι για την ανάπτυξη της σωστής δομής της μικροχλωρίδας. Εφόσον η μικροχλωρίδα ωριμάζει μέχρι την ηλικία των τριών περίπου ετών, τυχόν ανωμαλίες μπορεί να συνδέονται με βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες συνέπειες (π.χ. νεκρωτική εντεροκολίτιδα και άσθμα, αντίστοιχα) (DeWeerd,2018). Η δημιουργία του κατάλληλου περιβάλλοντος για το σχηματισμό της σωστής μικροχλωρίδας φαίνεται κρίσιμη για τη σωστή ανάπτυξη και διατήρηση της μελλοντικής ευημερίας του παιδιού και τα μεταβιοτικά μπορούν να παρέχουν τέτοιες συνθήκες. Τα μεταβιοτικά μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και τη θεραπεία της λοίμωξης SARS-CoV-2, καθώς η δομή και η μεταβολική δραστηριότητα του εντερικού μικροβιώματος μπορεί να συνδέεται με την εμφάνιση βιοδεικτών που προβλέπουν την πορεία της σοβαρής νόσου του κοροναϊού 2019 (COVID-19) (Gou et al.,2020). Η πιθανή αξία των μεταβιοτικών δεν περιορίζεται σε θεραπευτικές εφαρμογές. Η εμφάνιση βιολογικού ντόπινγκ (και η ανίχνυσή του) είναι ένας τομέας ενδιαφέροντος. Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια

έδειξε ότι η παρουσία βακτηρίων του γένους *Veillonella* στο έντερο, τα οποία μπορούν να μεταβολίσουν το γαλακτικό οξύ σε προπιονικό, αύξησε σημαντικά τη φυσική απόδοση των ζώων (Scheiman et al.,2019).

5. Εφαρμογές μεταβιοτικών στα Τρόφιμα

5.1 Βιοσυντήρηση τροφίμων

Βιοσυντήρηση τροφίμων είναι μία μέθοδος συντήρησης τροφίμων με χρήση μεταβιοτικών, η οποία εφαρμόζεται περισσότερο σε ευπαθή τρόφιμα. (Rad AH et al.,2020).

5.1.1 Γαλακτοκομικά προϊόντα

Στο παρελθόν, τα γαλακτοκομικά προϊόντα χρησιμοποιούνταν ως μέσο ενίσχυσης της ωφέλιμης εντερικής μικροχλωρίδας (προβιοτικά). Ωστόσο, η αλλοίωσή τους από εξωτερικούς παράγοντες θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την επιβίωση των προβιοτικών στελεχών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της επεξεργασίας (Homayouni-rad et al.,2021).

Η χρήση μεταβιοτικών αποτελεί έναν νέο τρόπο βελτίωσης της ασφάλειας των γαλακτοκομικών προϊόντων. Φυσικά, παράγοντες που εμπλέκονται στην απόδοση των μεταβιοτικών είναι πολύ σημαντικοί στη συντήρηση των τροφίμων. Για παράδειγμα, τα αποτελέσματα των Mehran Moradi et al.,2019 έχουν δείξει ότι τα μεταβιοτικά που παρασκευάζονται με αγάρ MRS(άγαρ De Man , Rogosa και Sharpe) ενδέχεται να έχουν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος και να επηρεάσουν τη συνολική αποδοχή των καταναλωτών. Λόγω της λευκότητας, της ρευστότητας και της αδιαφάνειας του γάλακτος, πολλά πρόσθετα θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε αλλοιώσεις στο χρώμα και τη μορφή του γάλακτος (Moradi et al.,2019).

Μια πρόσφατη μελέτη είχε ως στόχο τη χρήση μεταβιοτικών που παρασκευάζονται από τρία προβιοτικά στελέχη στο γάλα ως αντιμυκητιασικούς παράγοντες για την πρόληψη της ανάπτυξης αλλοίωσης μυκήτων σε ημίσκληρο τυρί και κρέμα γάλακτος (Guilhaumou et al.,2019). Συμπέραναν ότι τα μεταβιοτικά μπορούν να βοηθήσουν στη μείωση σημαντικά του πληθυσμού των μυκήτων στο τυρί, χωρίς καμία επίδραση στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Πρόσφατα, έχει προταθεί ότι τα μεταβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιμικροβιακά σε μορφή σπρέι για την αναστολή επιβλαβών μικροβίων (Rad AH et al.,2020).

5.1.2 Προϊόντα κρέατος

Η αποσύνθεση του κρέατος προκαλείται κυρίως από βακτήρια (Gomez-Sala et al.,2016). Τα πιο σημαντικά από αυτά είναι το *Clostridium perfringens* και διάφορα γένη

της οικογένειας των εντεροβακτηριδίων. Αυτά τα βακτήρια προκαλούν ανεπιθύμητες οργανοληπτικές αλλαγές στο κρέας, καθιστώντας το μη ελκυστικό για τον καταναλωτή. Ως αντιμικροβιακά μέσα για τη συντήρηση των προϊόντων του κρέατος, μεταβιοτικές ενώσεις θα μπορούσαν να εφαρμοστούν απευθείας στο προϊόν μέσω τεχνικών επικάλυψης και ψεκασμού. Για παράδειγμα, στον κιμά προτιμάται η μέθοδος του ψεκασμού, ενώ η επικάλυψη προτείνεται για τα φιλέτα κρέατος. Αρκετά πειράματα έχουν δείξει τα πλεονεκτήματα των μεταβιοτικών ενώσεων για τη συντήρηση του κρέατος στο ψυγείο. Μεταβιοτικά από *Lactobacillus rhamnosus* EMCC 1105 σε συγκέντρωση 100 mg/g θανάτωσαν το *Clostridium perfringens* σε κιμά κοτόπουλου την τέταρτη ημέρα αποθήκευσης στους 6°. Φυσικά, η ποσότητα της αντιμικροβιακής δράσης των μεταβιοτικών ενώσεων εξαρτάται από τον τύπο της μεταβιοτικής ένωσης (Hamad et al.,2020). Μεταξύ των μεταβιοτικών ενώσεων, οι βακτηριοσίνες έχουν πολύ ισχυρή αντιμικροβιακή δράση. Από αυτή την άποψη, μια μελέτη διερεύνησε τις αντιμικροβιακές επιδράσεις των μεταβιοτικών που προέρχονται από τρία προβιοτικά (*Lactobacillus casei* 431, *Lactobacillus acidophilus* LA5 και *Lactobacillus salivarius*) στο *Listeria monocytogenes* στον κιμά και στον ζωμό Luria Bertani. Παρατηρήθηκε ότι αυτή η μεταβιοτική ένωση θα μπορούσε να αναστείλει την ανάπτυξη του *L. monocytogenes* και να αποτρέψει την αλλοίωση του κιμά και του ζωμού Luria Bertani. Περαιτέρω κατανόηση των μεταβιοτικών ενώσεων αποκάλυψε ότι τέτοια αντιμικροβιακή δράση των μεταβιοτικών σχετίζεται με την παρουσία βακτηριοσινών και οργανικών οξέων (Moradi et al.,2019;Moradi et al.,2020). Επομένως, η χρήση μεταβιοτικών μπορεί να αποτελέσει μια νέα μέθοδο στη συντήρηση των προϊόντων κρέατος.

5.2 Η Επίδραση των Παραγόντων Τροφίμων στην Απόδοση των Μεταβιοτικών

Υπάρχουν ορισμένοι παράγοντες εσωτερικοί ή εξωτερικοί (φυσικοχημικοί) που επηρεάζουν την απόδοση των μεταβιοτικών. Οι εσωτερικοί παράγοντες σχετίζονται με τη μήτρα του τροφίμου, ενώ οι εξωτερικοί με όλους τους παράγοντες στο περιβάλλον του τροφίμου (π.χ. αποθήκευσης) (Moradi et al.,2019). Τα αποτελέσματα των ερευνών αποφάνθηκαν ότι αυτοί οι παράγοντες επηρεάζουν σημαντικά τη φύση, τη δομή και τη λειτουργία των μεταβιοτικών.

5.2.1 Εσωτερικοί παράγοντες

Διάφορες ενώσεις στα τρόφιμα μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία των μεταβιοτικών. Η αλληλεπίδραση μεταξύ ενεργών μεταβολιτών των μεταβιοτικών και συγκεκριμένων τροφικών συστατικών (ενδογενής μικροχλωρίδα, ένζυμα, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη) μπορεί να αναστείλουν τη λειτουργία των πρώτων (Rad AH et al.,2020). Για παράδειγμα, τα πρωτεολυτικά ένζυμα στα τρόφιμα μπορεί να επηρεάσουν τη δραστηριότητα των μεταβιοτικών ενώσεων. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα διασπούν τις μεταβιοτικές πρωτεϊνικές ενώσεις με αποτέλεσμα να αναστέλλουν τη λειτουργία τους. Αυτά τα ένζυμα μπορεί είτε να βρίσκονται στο φαγητό είτε να εκκρίνονται από τα πρωτεολυτικά βακτήρια του φαγητού. Τα πιο σημαντικά ένζυμα είναι η πεψίνη, η θρυψίνη, η χυμοθρυψίνη, η παπαΐνη και η πρωτεϊνάση K. Για παράδειγμα, εάν εφαρμοστούν τα πρωτεϊνικά μεταβιοτικά, το ένζυμο πρωτεάσης διασπά την πρωτεΐνη και αποτρέπει το μεταβιοτικό αποτέλεσμα. Επομένως, τα πρωτεολυτικά ένζυμα είναι ένας από τους παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη σε σχέση με τις μεταβιοτικές δυσλειτουργίες (Humam et al.,2021;Izuddin et al.,2020). Ωστόσο, δεν υπάρχουν ακόμη ερευνητικά αποτελέσματα για συνεργιστική και ανταγωνιστική δράση μεταβιοτικών μειγμάτων με ενώσεις τροφίμων.

5.2.2 Φυσικοχημικοί παράγοντες

Το pH των τροφίμων μπορεί να επηρεάσει την αντιμικροβιακή δράση των μεταβιοτικών. Το εύρος pH από 4 έως 9 έχει αποδειχτεί το καλύτερο εύρος για μεταβιοτική δραστηριότητα. Μεταξύ των μοντέλων τροφίμων που χρησιμοποίησαν μεταβιοτικά για τον έλεγχο των μικροβίων, το παστεριωμένο γάλα και ο κιμάς είχαν καλό pH και δεν υπήρχαν διαταραχές στη λειτουργία των μεταβιοτικών (Moradi et al.,2019). Η θερμότητα είναι επίσης ένας εξωτερικός παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την απόδοση των μεταβιοτικών.

Επομένως, η διαδικασία θέρμανσης των τροφίμων μπορεί επίσης να παίζει σημαντικό ρόλο στη δραστηριότητα των μεταβιοτικών.

5.3 Μικροενθυλάκωση Μεταβιοτικών

Η προστασία των μεταβιοτικών έναντι δυσμενών περιβαλλοντικών παραγόντων (υψηλής οξύτητας, χολικών αλάτων, κ.ο.κ.) θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με τη χρήση μεθόδων μικροενθυλάκωσης. Επίσης, μέσω της χρήσης τεχνικών όπως η ξήρανση σε ρευστοποιημένη κλίνη, η ψύξη με ή χωρίς ψεκασμό, η εξώθηση, η ξήρανση με ψεκασμό, η συνκρυστάλλωση και η συνσυσσώρευση, θα ήταν δυνατή η ανάπτυξη της επεξεργασίας

μιας κάψουλας σχηματισμού (Le et al.,2019). Η επιλογή της τεχνικής που θα μας ενδιαφέρει εξαρτάται από τον τύπο του υλικού, την εφαρμογή και τον μηχανισμό απελευθέρωσης. Ενώσεις όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λιπίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μικροενθυλάκωση των μεταβιοτικών (Abbasi et al.,2020). Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τη μικροενθυλάκωση των μεταβιοτικών θα πρέπει να είναι μη τοξικά, εξαιρετικά διαλυτά, ανθεκτικά στη θερμότητα, διαπερατά από οξυγόνο, ανθεκτικά στα οξέα και ασταθή σε pH πάνω από 6 (Rathore et al.,2013;, Anwar et al.,2020). Στη διαδικασία ενθυλάκωσης των μεταβιοτικών, θα πρέπει να χρησιμοποιείται βιοσυμβατή μήτρα για την ενθυλάκωση των μεταβιοτικών έναντι παραγόντων όπως το pH και η υψηλή θερμοκρασία. Η βιοσυμβατή μήτρα δρα ως ημιπερατή μεμβράνη και επιτρέπει τη μεταφορά μεταβιοτικών.

Ο Le et al. (2019) ενθυλάκωσε μεταβιοτικό (βακτηριοκίνη) που παράγεται από *Lactobacillus plantarum* που απομονώθηκε από βιετναμέζικο ζυμωμένο γιαούρτι σε γέλη αλγινικού (ALG-GEL). Επίσης, οι αντιμικροβιακές του επιδράσεις παρουσία παραγόντων όπως η θερμοκρασία επώασης, το μέτριο pH και οι επιφανειοδραστικές ουσίες (αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA), δωδεκυλοθειικό νάτριο (SDS)) έναντι πέντε οργανισμών δεικτών, όπως *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* και *Bacillus subtilis* αξιολογήθηκαν στο κρέας. Παρατήρησαν ότι η ενθυλάκωση των μεταβιοτικών παρουσία αυτών των παραγόντων θα μπορούσε να αποτρέψει την αλλοίωση του χοιρινού από παθογόνα (Le et al.,2019). Φαίνεται ότι η μικροενθυλάκωση των μεταβιοτικών μπορεί να είναι ένας καλός τρόπος για την προστασία των μεταβιοτικών. Χρησιμοποιώντας την τεχνολογία μικροενθυλάκωσης, τα μεταβιοτικά θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε τρόφιμα που εκτίθενται σε υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλό pH (π.χ. λαχανικά).

5.4 Εφαρμογές των μεταβιοτικών ως αντιβιοφίλμ

Τα βιοφίλμ είναι πολύπλοκα μικροβιακά δίκτυα που περικλείονται μέσα σε μια μήτρα πολυσακχαρίτη ή πρωτεΐνης. Τα βιοφίλμ μπορεί να προκύψουν από μικροοργανισμούς που περιλαμβάνουν μύκητες και βακτήρια. Τόσο τα θετικά όσο και τα αρνητικά κατά gram βακτήρια έχουν αυτή την ικανότητα. Στη βιομηχανία τροφίμων, τα βιοφίλμ, τα συστατικά αποικιών και η διαχείρισή και αντιμετώπιση τους είναι ζωτικής σημασίας για την ασφάλεια των γευμάτων.

Τα βιοφίλμ που αναπτύσσονται σε επιφάνειες καταστημάτων εστίασης είναι πιο ανθεκτικά στις διαδικασίες καθαρισμού και απολύμανσης. Οι *Yersinia enterocolitidis*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni* και *Bacillus cereus* είναι

ζωτικοί μικροοργανισμοί που σχηματίζουν βιοφίλμ εντός επιχειρήσεων εστίασης (Shi, Zhu,2009). Η χρήση μεταβιοτικών για την εξάλειψη των βιοφίλμ είναι μια ολοκαίνουργια προσέγγιση η οποία έχει αποφέρει θετικά αποτελέσματα (Sharma et al.,2018). Εκτός από τις αντιμικροβιακές ιδιότητες, τα μεταβιοτικά έχουν επιπρόσθετα την ικανότητα της καταστροφής του σχηματιζόμενου βιοφίλμ. Σε μια μελέτη, η αντιβιοτική επίδραση των μεταβιοτικών που προέρχονται από τον προβιοτικό μικροοργανισμό *L.casei* 431, *L.acidophilus* LA5 και *L. salivarius* σε βιοφίλμ που σχηματίστηκε από *L. monocytogenes* στις επιφάνειες πολυστυρενίου μας επικύρωσε ότι τα μεταβιοτικά αναστέλουν το σχηματισμό βιοφίλμ. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η παρουσία μεταβιοτικών που βασίζονται κυρίως σε βακτηριοσίνη είναι ο κύριος λόγος για την καταστροφή του βιοφίλμ του *L. monocytogenes*. Επομένως, τα μεταβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέσο για τον χειρισμό και την εξάλειψη του σχηματισμού βιοφίλμ με πρακτικές εφαρμογές σε επιχειρήσεις εστίασης (Moradi et al.,2019).

5.5 Μεταβιοτικά στη Συσκευασία Τροφίμων

Τα παλαιότερα χρόνια,ένας τρόπος αύξησης της διάρκειας ζωής των τροφίμων ήταν η προσθήκη μεταβιοτικών .Όπως όμως ήδη αναφέρθηκε παραπάνω, η αλληλεπίδραση των μεταβιοτικών με τα πρόσθετα τροφίμων μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητά τους (Hamad et al.,2017). Επιπλέον, η χαμηλότερη συνοχή μερικών αντιμικροβιακών μεταβολιτών προκαλεί την αποικοδόμηση και την αδρανοποίησή τους σε κάποιο στάδιο της επεξεργασίας των τροφίμων. Η χαμηλότερη αναμειξιμότητα αποτελεί ένα επιπρόσθετο πρόβλημα που περιορίζει τη δυνατότητα εφαρμογής μεταβιοτικών. Τέλος η ενσωμάτωση μιας ποσότητας της συντηρητικής ένωσης στο εσωτερικό της μήτρας των τροφίμων δεν είναι κατάλληλη, λόγω του γεγονότος ότι η μικροβιακή επιδείνωση, κυρίως η ανάπτυξη μούχλας, ξεκινά από το εξωτερικό των τροφίμων (Dunand et al.,2019).

Μια μέθοδος που ενδείκνυται για να υπερκεραστούν αυτά τα εμπόδια είναι η εφαρμογή των μεταβιοτικών στη συσκευασία των τροφίμων για την παράταση της διάρκειας ζωής τους. Τα μεταβιοτικά έχουν χαρακτηριστικά που καθιστούν τη χρήση τους ευνοϊκή σε ενεργές συσκευασίες, καθώς (α) επιβιώνουν σε μεγάλο εύρος pH, (β) δύναται να αδρανοποιηθούν εύκολα μέσω των πεπτικών πρωτεασών και, επομένως, να μην επηρεάζουν πλέον τη μικροχλωρίδα του εντέρου, (γ) συνήθως χαρακτηρίζονται ως ασφαλείς ουσίες, (δ) έχουν ισχυρές αντιμικροβιακές επιδράσεις και (ε) τα περισσότερα από τα αντιμικροβιακά μεταβιοτικά έχουν υπερβολική θερμική σταθερότητα και η ενσωμάτωσή τους στη μήτρα του πολυμερούς είναι δυνατή ακόμη και μέσω εξώθησης και διαφορετικών μεθόδων

επεξεργασίας με βάση τη θερμότητα (Rad et al,2020). Τα μεταβιοτικά περιέχουν διάφορες ενώσεις όπως οργανικά οξέα, πρωτεΐνες, πεπτίδια, ένζυμα και εξωπολυσακχαρίτες (EPS). Κάθε μία από τις μεταβιοτικές ενώσεις αναστέλλει τα βακτήρια που αλλοιώνουν τα τρόφιμα με έναν συγκεκριμένο μηχανισμό. Η αποτελεσματικότητα των μεταβιοτικών στη συσκευασία τροφίμων εξαρτάται (α) από τον μεταβιοτικό τύπο που χρησιμοποιείται στη σύνθεση της συσκευασίας, (β) τη συγκέντρωση, (γ) τον τύπο του μικροοργανισμού-στόχου και (δ) τα χαρακτηριστικά της μήτρας τροφίμων.

Υπάρχουν πολυάριθμα είδη χρήσης μεταβιοτικών σε ενεργά συστήματα συσκευασίας τροφίμων, όπως (α) επικάλυψη ή προσρόφηση ενός λεπτού στρώματος μεταβιοτικών στην επιφάνεια του πολυμερούς. (β) ακινητοποίηση μεμονωμένων μεταβιοτικών (π.χ. βακτηριοσινών και ενζύμων) σε πολυμερή με τη βοήθεια της χρήσης ιόντων (γ) άμεση ενσωμάτωση μεταβιοτικών σε πολυμερή μήτρα συσκευασίας. και (δ) ελασματοποίηση του φορτισμένου με μεταβιοτικά ενεργού φιλμ μεταξύ των εξωτερικών στρωμάτων, που βελτιώνουν τη συνοχή των μεταβιοτικών και διαχειρίζονται τη μετακίνησή τους (Moradi et al.,2020).

5.6 Λειτουργικά τρόφιμα

Τα λειτουργικά τρόφιμα είναι είδη διατροφής που παρουσιάζουν πρόσθετα οφέλη εκτός από τη διατροφική τους αξία. Τα φυσιολογικά οφέλη των λειτουργικών τροφίμων παρέχονται με την προσθήκη νέων (π.χ. προβιοτικών ή μεταβιοτικών) ή ήδη υπαρχόντων συστατικών. Το ευνοϊκό προφίλ ασφάλειας των μεταβιοτικών τα καθιστά λογικά υποψήφια για χρήση σε λειτουργικά τρόφιμα.

Η γαλακτοσυλλακτόζη (3'-GL) αποτελεί παράδειγμα λειτουργικού συστατικού, η οποία σχηματίζεται ως αποτέλεσμα της ζύμωσης των ολιγοσακχαριτών του ανθρώπινου γάλακτος (HMOs). Εκτός από την ανοσοτροποποιητική δραστηριότητα, το 3'-GL έχει επίσης φυσικές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και βελτιώνει την ακεραιότητα του εντερικού φραγμού (Newburg et al.,2015). Καθώς τα βακτήρια, μαζί με τα θραύσματα και τους μεταβολίτες τους, περνούν στο μωρό με το μητρικό γάλα, ένα τέτοιο σύνθετο μείγμα δεν μπορεί προφανώς να αντικατασταθεί από μία μόνο ουσία. Ωστόσο, ο συνδυασμός προβιοτικών, μεταβιοτικών και HMOs σε ένα παρασκεύασμα είναι μια δελεαστική ιδέα για τη χαρτογράφηση της σύνθεσης και των ιδιοτήτων του φυσικού ανθρώπινου γάλακτος. Επιπλέον, τα λειτουργικά τρόφιμα θα μπορούσαν να εμπλουτιστούν με μεταβιοτικά για να αυξήσουν την ανοσολογική δραστηριότητα του ξενιστή. Για παράδειγμα, το απαλλαγμένο από κύτταρα κλάσμα του γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση απέτρεψε τη μόλυνση από

σαλμονέλα σε ένα μοντέλο ποντικού (Dunand et al.,2019). Αξιοσημείωτο είναι ότι η αποτελεσματικότητα των μεταβιοτικών που χρησιμοποιήθηκαν στην παραπάνω μελέτη ήταν ισοδύναμη για σκευάσματα που παράγονται τόσο σε εργαστηριακή όσο και σε βιομηχανική κλίμακα. Τα μεταβιοτικά από το *B. breve* και το *Streptococcus thermophilus* χρησιμοποιούνται επί του παρόντος στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων (ιδιαίτερα για τροποποιημένο γάλα) και η αποτελεσματικότητά τους έχει αξιολογηθεί σε τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές. Για παράδειγμα, τα μεταβιοτικά *B. breve* και *S. thermophilus* μείωσαν τη συχνότητα εμφάνισης συμπτωμάτων που υποδηλώνουν τροφική ή εισπνευστική αλλεργία κατά τους πρώτους μήνες της ζωής σε παιδιά με θετικό ιστορικό ατοπικής δερματίτιδας (Morisset et al.,2011). Η χρήση των προαναφερθέντων μεταβιοτικών συσχετίστηκε επίσης με ηπιότερη πορεία της οξείας διάρροιας σε βρέφη (Thibault et al.,2004). Συγκεκριμένα, ένας από τους ενεργούς μεταβολίτες του *S. thermophilus* είναι ο προαναφερόμενος 3'-GL (Perrin et al.,2000).

6. Συμπεράσματα

Για την εξέταση των μεταβιοτικών και τον ρόλο τους στην υγεία και στα τρόφιμα αναζητήθηκε και συγκεντρώθηκε επιστημονικό υλικό από διαδικτυακές βάσεις δεδομένων, όπως οι scopus, science direct, pubchem, pubmed, google scholar με βάση τον αγγλικό όρο «postbiotics», δηλαδή μεταβιοτικά. Συνοψίζοντας τα συμπεράσματα της βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι ότι τα μεταβιοτικά έχουν πολλαπλές δυνατότητες για εφαρμογές στο πεδίο της υγείας και της τεχνολογίας τροφίμων. Συνοπτικά κάποιες από τις πολλές δυνατότητες και πιθανές εφαρμογές τους είναι :

Στην υγεία:

α) αντικαρκινικές δράσεις. Για παράδειγμα, το βουτυρικό οξύ αναστέλλει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου και οι βακτηριοσίνες έχουν κυτταροστατική και αποπτωτική δράση κατά των καρκινικών κυττάρων (Vairavel et al.,2020).

β) αντιβακτηριακές, αντιμικροβιακές, αντικές, αντιοξειδωτικές ιδιότητες πολλών μεταβιοτικών όπως για παράδειγμα τα υπερκείμενα που προέρχονται από καλλιέργειες των γενών *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* και που εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση αποτρέποντας την εισβολή εντεροδιηθητικών στελεχών *E. coli* στα εντεροκύτταρα *in vitro*, όπως ή τα υπερκείμενα *S.bouardii* εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες οφείλονται κυρίως στα ένζυμα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, της υπεροξειδικής δισμουτάσης, της καταλάσης και της NADH-οξειδάσης που παίζουν βασικό ρόλο στην καταπολέμηση των ROS.

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες οφείλονται τόσο στο υπεροξείδιο του υδρογόνου όσο και στις βακτηριοσίνες που επιδρούν στις βακτηριακές κυτταροπλασματικές μεμβράνες.

Οι αντικές ιδιότητες εστιάζουν στην παρουσία πεπτιδίων που αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ιών (Elnagdy & AlKhazindar,2020) όπως της γρίπης αλλά και του SARS-CoV-2.

γ) ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες που οφείλονται κυρίως στην παρουσία βιοδραστικών πεπτιδίων, μέσω της ρύθμισης των κυταροοκινών ή στην παρουσία των εξωπολυσακχαριτών (EPS) μέσω της αλληλεπίδρασής τους με τα δενδριτικά κύτταρα και τα μακροφάγα με αποτέλεσμα τον ενισχυμένο πολλαπλασιασμό των T και NK λεμφοκυττάρων.

δ) άλλες ευεργετικές επιδράσεις είναι η ενίσχυση της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού ή η ελάττωση των επιπέδων της κορτικοστερόνης (ορμόνη του στρες) ή και η ελάττωση των συμπτωμάτων από το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, όπως τοκοιλιακό άλγος.

Στην τεχνολογία τροφίμων:

α) στην βιοσυντήρηση προϊόντων κρέατος και γαλακτοκομικών. Παράδειγμα αποτελούν μεταβιοτικά που παρασκευάζονται από τρία προβιοτικά στελέχη στο γάλα και χρησιμοποιήθηκαν ως αντιμυκητιασικοί παράγοντες σε ημίσκληρο τυρί και κρέμα γάλακτος (Guilhaumou et al.,2019).

β) σε ενεργές συσκευασίες τροφίμων (λόγω των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων τους, της μεγάλης θερμικής τους σταθερότητας, του μεγάλου εύρους pH στο οποίο είναι λειτουργικές και της θεώρησής τους ως ασφαλείς ουσίες).

γ) εφαρμογές σε λειτουργικά τρόφιμα (π.χ. τα μεταβιοτικά από *B. breve* και το *Streptococcus thermophilus* χρησιμοποιούνται ήδη στην παραγωγή λειτουργικών τροφίμων (ιδιαίτερα του τροποποιημένου γάλακτος). Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι η χρήση αυτών μείωσε την συχνότητα εμφάνισης συμπτωμάτων που υποδηλώνουν τροφική ή εισπνευστική αλλεργία κατά της πρώτους μήτης της ζωής σε παιδιά με θετικό ιστορικό ατοπικής δερματίτιδας.

δ) ιδιότητες αναστολής βιοφίλμ. Η παρουσία για παράδειγμα μεταβιοτικών που βασίζονται κυρίως σε βακτηριοσίνη είναι ο λόγος καταστροφής του βιοφίλμ του *L.monocytogenes* (Sharma et al.,2018).

Η έρευνα στο πεδίο των μεταβιοτικών είναι ακόμη σε αρχικά στάδια ,καθώς και το ότι δεν έχει θεσμοθετηθεί ένα συγκεκριμένο νομοθετικό πλαίσιο που να διέπει τα μεταβιοτικά ,καθιστούν αναγκαίο περαιτέρω μελέτες και έρευνες για να γίνουν ακόμα πιο κατανοητοί οι μηχανισμοί δράσης τους και για την αποσαφήνιση του τρόπου εφαρμογής τους στους κλάδους της υγείας και της επιστήμης/ τεχνολογίας τροφίμων.

7. Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Aljaadi A.M., How R.E., Loh S.P., Hunt S.E., Karakochuk C.D., Barr S.I., McAnena L., Ward M., McNulty H., Khor G.L., et al. Suboptimal Biochemical Riboflavin Status Is Associated with Lower Hemoglobin and Higher Rates of Anemia in a Sample of Canadian and Malaysian Women of Reproductive Age. *J. Nutr.* 2019;149:1952–1959.
doi: 10.1093/jn/nxz151.
2. Anwar, F.; Altayb, H.N.; Al-Abbasi, F.A.; Al-Malki, A.L.; Kamal, M.A.; Kumar, V. Antiviral effects of probiotic metabolites on COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 2020, 1-10
3. Aljumaah, M.R.; Alkhulaifi, M.M.; Abudabos, A.M.; Alabdullatifb, A.; El-Mubarak, A.H.; Al Suliman, A.R.; Stanley, D. Organic acid blend supplementation increases butyrate and acetate production in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium challenged broilers. *Plos one* 2020, 15, e0232831
4. Amaretti, A.; di Nunzio, M.; Pompei, A.; Raimondi, S.; Rossi, M.; Bordoni, A. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: In vitro and in vivo activities. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013, 97, 809–817.
5. Al-Lahham, S.H.; Peppelenbosch, M.P.; Roelofsen, H.; Vonk, R.J.; Venema, K. Biological Effects of Propionic Acid in Humans; Metabolism, Potential Applications and Underlying Mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta* 2010, 1801, 1175–1183.
7. Alsaadi, L.G.; Baker, B.A.A.; Kadhem, B.M.; Mahdi, L.H.; Mater, H.N. Exopolysaccharide As Antiviral, Antimicrobial And As Immunostimulants: A Review. *Plant archives* 2020, 20, 5859-5875
8. Baud, D.; Dimopoulou Agri, V.; Gibson, G.R.; Reid, G.; Giannoni, E. Using probiotics to flatten the curve of coronavirus disease COVID-2019 pandemic. *Frontiers in public health* 2020
9. Basso, A.; De Castro, R.; De Castro, T.; Guimarães, H.; Polez, V.; Carbonero, E.; Pomin, V.; Hoffmann, C.; Grossi-de-Sa, M.; Tavares, A. Immunomodulatory activity of β -glucan-containing exopolysaccharides from *Auricularia auricular* in phagocytes and mice

infected with *Cryptococcus neoformans*. *Medical mycology* 2020, 58, 227-239,
<https://doi.org/10.1093/mmy/myz042>.

10.Banerjee, M.; Vats, P.; Kushwah, A.; Srivastava, N. Interaction of antioxidant gene variants and susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *British journal of biomedical science* 2019, 76, 166-171

11.Brigelius-Flohé, R.; Flohé, L. Regulatory phenomena in the glutathione peroxidase superfamily. *Antioxidants & redox signaling* 2020, 33, 498-516,
<https://doi.org/10.1089/ars.2019.7905>.

12.Bhat, M.I.; Sowmya, K.; Kapila, S.; Kapila, R. Potential Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* (MTCC-5897) Inhibits *Escherichia coli* Impaired Intestinal Barrier Function by Modulating the Host Tight Junction Gene Response. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 2019, 1-12

13.Chuah, L.-O.; Foo, H.L.; Loh, T.C.; Alitheen, N.B.M.; Yeap, S.K.; Mutalib, N.E.A.; Rahim, R.A.; Yusoff, K. Postbiotic metabolites produced by *Lactobacillus plantarum* strains exert selective cytotoxicity effects on cancer cells. *BMC complementary and alternative medicine* 2019, 19, 114

14.Chalamaiah, M.; Yu, W.; Wu, J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food Chem.* 2017, 245, 205–222.

15.Council of Europe. Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use. European Commission https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2004_27/dir_2004_27_en.pdf (2004).

16.Chondrou, P.; Karapetsas, A.; Kiouisi, D.E.; Vasileiadis, S.; Ypsilantis, P.; Botaitis, S.; Alexopoulos, A.; Plessas, S.; Bezirtzoglou, E.; Galanis, A. Assessment of the Immunomodulatory Properties of the Probiotic Strain *Lactobacillus paracasei* K5 in vitro and In Vivo. *Microorganisms* 2020

17.Chuah, L.-O.; Foo, H.L.; Loh, T.C.; Alitheen, N.B.M.; Yeap, S.K.; Mutalib, N.E.A.; Rahim, R.A.; Yusoff, K. Postbiotic metabolites produced by *Lactobacillus plantarum*

strains exert selective cytotoxicity effects on cancer cells. *BMC complementary and alternative medicine* 2019, 19, 114, <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2528-2>.

18. Council of Europe. Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on medical devices, amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009 and repealing Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0745&from=EN> (2017).

19. Council of Europe. European Pharmacopoeia 7.0: 5.1.4. Microbiological quality of non-sterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use. Medicinal Genomics https://www.medicinalgenomics.com/wp-content/uploads/2013/04/CFU_Tolerance_European.pdf (2011).

20. DeWeerd, S. How baby's first microbes could be crucial to future health. *Nature* 2018, 555, S18–S19.

21. Dunand, E.; Burns, P.; Binetti, A.; Bergamini, C.; Peralta, G.H.; Forzani, L.; Reinheimer, J.; Vinderola, G. Postbiotics produced at laboratory and industrial level as potential functional food ingredients with the capacity to protect mice against *Salmonella* infection. *Journal of applied microbiology* 2019

22. De Marco, S.; Sichetti, M.; Muradyan, D.; Piccioni, M.; Traina, G.; Pagiotti, R.; Pietrella, D. Probiotic Cell-Free Supernatants Exhibited Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity on Human Gut Epithelial Cells and Macrophages Stimulated with LPS. *Evid. Based Complementary Altern. Med.* 2018

23. de Moreno de LeBlanc, A.; LeBlanc, J.G.; Perdigon, G.; Miyoshi, A.; Langella, P.; Azevedo, V.; Sesma, F. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. *J. Med. Microbiol.* 2008, 57, 100–105.

24. de Boer, G.; Zólkiewicz, J.; Strzelec, K.; Ruszczyński, M.; Hendriks, R.; Braunstahl, G.; Feleszko, W.; Tramper-Stranders, G. Bacterial lysate therapy for the prevention of wheezing episodes and asthma exacerbations: a systematic review and meta-analysis

25. Elnagdy, S.; AlKhazindar, M. The potential of antimicrobial peptides as an antiviral therapy against COVID-19. *ACS pharmacology & translational science* 2020

- 26.**Eslami, M.; Yousefi, B.; Kokhaei, P.; Hemati, M.; Nejad, Z.R.; Arabkari, V.; Namdar, A. Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer. *Journal of cellular physiology* 2019, 234, 17127-17143, <https://doi.org/10.1002/jcp.28473>.
- 27.**European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the safety of heat- treated milk products fermented with *Bacteroides xylanisolvens* DSM 23964 as a novel food. *EFSA J.* 13, 3956 (2015).
- 28.**European Medicines Agency. Assessment report. Referral under Article 31 of Directive 2001/83/EC. Bacterial lysates- containing medicinal products for respiratory conditions. EMA https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/bacterial-lysate-medicinesarticle-31-referral-chmp-assessment-report_en.pdf (2019).
- 29.**Escamilla, J.; Lane, M.A.; Maitin, V. Cell-free supernatants from probiotic *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease colon cancer cell invasion in vitro. *Nutr. Cancer* 2012, 64, 871–878.
- 30.**Food and Drug Administration. What does FDA regulate? FDA <https://www.fda.gov/about-fda/fda-basics/what-does-fda-regulate> (2021).
- 31.**Feleszko, W.; Jaworska, J.; Rha, R.-D.; Steinhausen, S.; Avagyan, A.; Jaudszus, A.; Ahrens, B.; Groneberg, D.A.; Wahn, U.; Hamelmann, E. Probiotic-induced suppression of allergic sensitization and airway inflammation is associated with an increase of T regulatory-dependent mechanisms in a murine model of asthma. *Clin. Exp. Allergy* 2006, 37, 498–505.
- 32.**Garai-Ibabe, G.; Dueñas, M.; Irastorza, A.; Sierra-Filardi, E.; Werning, M.; López, P.; Corbi, A.; Palencia, P. Naturally occurring 2- substituted (1,3)—D-glucan producing *Lactobacilli* *suebicus* and *Pediococcus parvulus* strains with potential utility in the production of functional foods. *Bioresour. Technol.* 2010, 101, 9254–9263.
- 33.**Guilhaumou, R.; Benaboud, S.; Bennis, Y.; Dahyot-Fizelier, C.; Dailly, E.; Gandia, P.; Goutelle, S.; Lefeuvre, S.; Mongardon, N.; Roger, C. Optimization of the treatment with beta-lactam antibiotics in critically ill patients—guidelines from the French Society of Pharmacology and Therapeutics (Société Française de Pharmacologie et Thérapeutique—SFPT) and the French Society of Anaesthesia and Intensive Care Medicine (Société

Française d'Anesthésie et Réanimation—SFAR). *Critical Care* 2019, 23,
<https://doi.org/10.1186/s13054-019-2378-9>.

34.Gou, W.; Fu, Y.; Yue, L.; Chen, G.-d.; Cai, X.; Shuai, M.; Xu, F.; Yi, X.; Chen, H.; Zhu, Y.J.; et al. Gut microbiota may underlie the predisposition of healthy individuals to COVID-19. *medRxiv* 2020

35.Hanson, M.A.; Dostalova, A.; Ceroni, C.; Poidevin, M.; Kondo, S.; Lemaitre, B. Synergy and remarkable specificity of antimicrobial peptides in vivo using a systematic knockout approach. *Elife* 2019**50**.Homayouni, Rad.A.; Samadi, Kafil.H.; Fathi, Zavoshti.H.; Shahbazi, N.; Abbasi, A. Therapeutically Effects of Functional Postbiotic Foods. *Clinical Excellence* 2020, 10,33-52, <http://ce.mazums.ac.ir/article-1-532-en.html>.

36.Hassaan, M.S.; El-Sayed, A.; Mohammady, E.Y.; Zaki, M.A.; Elkhyat, M.M.; Jarmołowicz, S.; El-Haroun, E.R. Eubiotic effect of a dietary potassium diformate (KDF) and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on growth, hemato-biochemical indices, antioxidant status and intestinal functional topography of cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed diet free fishmeal. *Aquaculture* 2020

37.Homayouni-rad, A.; Oroozzadeh, P.; Abbasi, A. The Effect of Yeast *Kluyveromyces marxianus* as a Probiotic on the Microbiological and Sensorial Properties of Set Yoghurt during Refrigerated Storage.

38.Hamad, G.M.; Abdelmotilib, N.M.; Darwish, A.M.; Zeitoun, A.M. Commercial probiotic cell-free supernatants for inhibition of *Clostridium perfringens* poultry meat infection in Egypt. *Anaerobe* 2020

39.Humam, A.M.; Loh, T.C.; Foo, H.L.; Izuddin, W.I.; Zulkifli, I.; Samsudin, A.A.; Mustapha, N.M. Supplementation of postbiotic RII1 improves antioxidant enzyme activity, upregulated gut barrier genes, and reduced cytokine, acute phase protein, and heat shock protein 70 gene expression levels in heat-stressed broilers. *Poultry Science* 2020, <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.12.011>.

40.Hamad, G.; Botros, W.; Hafez, E. Combination of probiotic filtrates as antibacterial agent against selected some pathogenic bacteria in milk and cheese. *Int J Dairy Sci* 2017

41.Hamer, H.M.; Jonkers, D.M.A.E.; Vanhoutvin, S.A.L.W.; Troost, F.J.; Rijkers, G.; de Bruïne, A.; Bast, A.; Venema, K.; Brummer, R.-J.M. Effect of Butyrate Enemas on

Inflammation and Antioxidant Status in the Colonic Mucosa of Patients with Ulcerative Colitis in Remission. *Clin. Nutr.* 2010, 29, 738–744.

42.Izuddin, W.I.; Humam, A.M.; Loh, T.C.; Foo, H.L.; Samsudin, A.A. Dietary postbiotic lactobacillus plantarum improves serum and ruminal antioxidant activity and upregulates hepatic antioxidant enzymes and ruminal barrier function in post-weaning lambs.

Antioxidants 2020

43.Izuddin, W.I.; Loh, T.C.; Foo, H.L.; Samsudin, A.A.; Humam, A.M. Postbiotic *L. plantarum* RG14 improves ruminal epithelium growth, immune status and upregulates the intestinal barrier function in post-weaning lambs. *Sci. Rep.* 2019, 9, 9938.

44.J.C.; Sousa, R.C.; Otoni, C.G.; Moraes, A.R.; Souza, V.G.; Medeiros, E.A.; Espitia, P.J.; Pires, A.C.; Coimbra, J.S.; Soares, N.F. Nisin and other antimicrobial peptides: Production, mechanisms of action, and application in active food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2018, 48, 179-194.

45.Jung, T.-H.; Han, W.-M.J.; Han, K.-S. In Vitro Effects of Dietary Inulin on Human Fecal Microbiota and Butyrate Production. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2015, 25, 1555–1558.

46.Jesenak, M.; Urbancek, S.; Majtan, J.; Banovcin, P.; Hercogova, J. Beta-Glucan-based cream (containing pleuran isolated from *pleurotus ostreatus*) in supportive treatment of mild-to-moderate atopic dermatitis. *J. Dermatol. Treat.* 2016, 27, 351–354.

47.Karimi, N.; Jabbari, V.; Nazemi, A.; Ganbarov, K.; Karimi, N.; Tanomand, A.; Karimi, S.; Abbasi, A.; Yousefi, B.; Khodadadi, E.; Kafil, H.S. Thymol, cardamom and *Lactobacillus plantarum* nanoparticles as a functional candy with high protection against *Streptococcus mutans* and tooth decay. *Microbial pathogenesis* 2020

48.Kalinichenko, S.V.; Melentyeva, K.V.; Manee, H.; Dubinina, N.V.; Zvereva, N.V.; Toryanik, I.I.; Popova, N.G.; Pakhomov, O.V. Study of anti-virus actions of metabolites of *Lactobacteria*. *Wiadomosci Lekarskie* 2020, 73, <https://doi.org/10.36740/WLek2022007132>

49.Kim, H.; Chae, H.S.; Jeong, S.G.; Ham, J.; Im, S.K.; Ahn, C.N.; Lee, J. In vitro Antioxidative Properties of *Lactobacilli*. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2006, 19.

50.Korhonen, H.; Pihlanto, A.A. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* 2006, 16, 945–960.

- 51.**Khodaii, Z.; Ghaderian, S.M.H.; Natanzi, M.M. Probiotic Bacteria and their Supernatants Protect Enterocyte Cell Lines from Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) Invasion. *Int. J. Mol. Cell. Med.* 2017, 6, 183–189.
- 52.**Kearney, S.C.; Dziekiewicz, M.; Feleszko, W. Immunoregulatory and immunostimulatory responses of bacterial lysates in respiratory infections and asthma. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015, 114, 364–369.
- 53.**Khalil, E.S.; Abd Manap, M.Y.; Mustafa, S.; Alhelli, A.M.; Shokryazdan, P. Probiotic Properties of Exopolysaccharide-Producing Lactobacilli Strains Isolated from Tempoyak. *Mol.* 2018, 23, 398.
- 54.**Kaji, R.; Kiyoshima-Shibata, J.; Nagaoka, M.; Nanno, M.; Shida, K. Bacterial Teichoic Acids Reverse Predominant IL-12 Production Induced by Certain Lactobacilli Strains into Predominant IL-10 Production via TLR2-Dependent ERK Activation in Macrophages. *J. Immunol.* 2010, 184, 3505–3513.
- 55.**Khan, I.; Ullah, N.; Zha, L.; Bai, Y.; Khan, A.; Zhao, T.; Che, T.; Zhang, C. Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. *Pathogens* 2019, 8, 126.
- 56.**Luang-In, V.; Saengha, W.; Buranrat, B.; Nudmamud-Thanoi, S.; Narbad, A.; Pumriw, S.; Samappito, W. Cytotoxicity of Lactobacillus plantarum KK518 Isolated from Pak-Sian Dong (Thai Fermented Gynandropsis pentaphylla DC.) Against HepG2, MCF-7 and HeLa Cancer Cells. *Pharmacognosy Journal* 2020, 12, <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.148>.
- 57.**Lin, X.; Xia, Y.; Yang, Y.; Wang, G.; Zhou, W.; Ai, L. Probiotic characteristics of Lactobacillus plantarum AR113 and its molecular mechanism of antioxidant. *LWT* 2020
- 58.**Lin, J.; Zhuge, J.; Zheng, X.; Wu, Y.; Zhang, Z.; Xu, T.; Meftah, Z.; Xu, H.; Wu, Y.; Tian, N.; et al. Urolithin A-induced mitophagy suppresses apoptosis and attenuates intervertebral disc degeneration via the AMPK signaling pathway. *Free Radic. Biol. Med.* 2020, 150, 109–119.
- 59.**Le, N.T.T.; Bach, L.G.; Nguyen, D.C.; Le, T.H.X.; Pham, K.H.; Nguyen, D.H.; Hoang Thi, T.T. Evaluation of factors affecting antimicrobial activity of bacteriocin from Lactobacillus plantarum microencapsulated in alginate-gelatin capsules and its application on pork meat as a bio-preservative. *International journal of environmental research and public health* 2019, 16, <https://doi.org/10.3390/ijerph16061017>.

- 60.**LeBlanc, J.G.; del Carmen, S.; Miyoshi, A.; Azevedo, V.; Sesma, F.; Langella, P.; Bermúdez-Humarán, L.G.; Watterlot, L.; Perdigon, G.; de Moreno de LeBlanc, A. Use of superoxide dismutase and catalase producing lactic acid bacteria in TNBS induced Crohn's disease in mice. *J. Biotechnol.* 2011, 151, 287–293.
- 61.**Lei, X.; Zhang, H.; Hu, Z.; Liang, Y.; Guo, S.; Yang, M.; Du, R.; Wang, X. Immunostimulatory activity of exopolysaccharides from probiotic *Lactobacilli casei* WXD030 strain as a novel adjuvant in vitro and in vivo. *Food Agric. Immunol.* 2018, 29, 1086–1105.
- 62.**Li, Y.-L.; Ma, S.-C.; Yang, Y.-T.; Ye, S.-M.; But, P.P.-H. Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge. *Journal of Ethnopharmacology* 2002
- 63.**Morisset, M.; Aubert-Jacquín, C.; Soullaines, P.; Moneret-Vautrin, D.A.; Dupont, C. A non-hydrolyzed, fermented milk formula reduces digestive and respiratory events in infants at high risk of allergy. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2011, 65, 175–183.
- 64.**Mani-López, E.; García, H.; López-Malo, A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International* 2012, 45, 713-721.
- 65.**Moradi, M.; Kousheh, S.A.; Almasi, H.; Alizadeh, A.; Guimarães, J.T.; Yılmaz, N.; Lotfi, A. Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety.
- 66.**Macia, L.; Tan, J.; Vieira, A.T.; Leach, K.; Stanley, D.; Luong, S.; Maruya, M.; Ian McKenzie, C.; Hijikata, A.; Wong, C.; et al. Metabolite-Sensing Receptors GPR43 and GPR109A Facilitate Dietary Fibre-Induced Gut Homeostasis through Regulation of the Inflammasome. *Nat. Commun.* 2015, 6, 1–15.
- 67.**Morifuji, M.; Ichikawa, S.; Kitade, M.; Fukasawa, T.; Asami, Y.; Manabe, Y.; Sugawara, T. Exopolysaccharides from milk fermented by lactic acid bacteria enhance dietary carotenoid bioavailability in humans in a randomized crossover trial and in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 2020, 111, 903–914.
- 68.**Moradi, M.; Mardani, K.; Tajik, H. Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT* 2019

- 69.** Makino, S.; Sato, A.; Goto, A.; Nakamura, M.; Ogawa, M.; Chiba, Y.; Hemmi, J.; Kano, H.; Takeda, K.; Okumura, K.; et al. Enhanced natural killer cell activation by exopolysaccharides derived from yogurt fermented with *Lactobacilli delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *J. Dairy Sci.* 2016, 99, 915–923.
- 70.** Maafi R. Islam, Subha Arthur, Jennifer Haynes, Molly R. Butts, Niraj Nepal and Uma Sundaram. The Role of Gut Microbiota and Metabolites in Obesity-Associated Chronic Gastrointestinal Disorders *Nutrients*. 2022 Jan 31;14(3):624. doi: 10.3390/nu14030624.
- 71.** Möller, N.P.; Scholz-Ahrens, K.E.; Roos, N.; Schrezenmeir, J. Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects. *Eur. J. Nutr.* 2008, 47, 171–182.
- 72.** Newburg, D.; Ko, J.; Leone, S.; Nanthakumar, N. Human Milk Oligosaccharides and Synthetic Galactosyloligosaccharides Contain 3'-, 4-, and 6'-Galactosyllactose and Attenuate Inflammation in Human T84, NCM-460, and H4 Cells and Intestinal Tissue Ex Vivo. *J. Nutr.* 2015, 146.
- 73.** Nozari, S.; Faridvand, Y.; Etesami, A.; Ahmad Khan Beiki, M.; Miresmaeili Mazrakhondi, S.A.; Abdolalizadeh, J. Potential anticancer effects of cell wall protein fractions from *Lactobacillus paracasei* on human intestinal Caco-2 cell line. *Letters in applied microbiology* 2019, 69, 148-154,
- 74.** Okamoto, M.; Ohe, G.; Oshikawa, T.; Furuichi, S.; Nishikawa, H.; Tano, T.; Ahmed, S.; Yoshida, H.; Moriya, Y.; Saito, M.; et al. Enhancement of anti-cancer immunity by a lipoteichoic-acid-related molecule isolated from a penicillin-killed group A *Streptococcus*. *Cancer Immunol. Immunother.* 2001, 50, 408–416.
- 75.** O'Connor, P.M.; Kuniyoshi, T.M.; Oliveira, R.P.; Hill, C.; Ross, R.P.; Cotter, P.D. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Biotechnology* 2020
- 76.** Perrine, S.P.; Wargin, W.A.; Boosalis, M.S.; Wallis, W.J.; Case, S.; Keefer, J.R.; Faller, D.V.; Welch, W.C.; Berenson, R.J. Evaluation of Safety and Pharmacokinetics of Sodium 2,2 Dimethylbutyrate, a Novel Short Chain Fatty Acid Derivative, in a Phase 1, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single- and Repeat-Dose Studies in Healthy Volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 2011, 51, 1186.

- 77.**Perrin, V.; Fenet, B.; Praly, J.-P.; Lecroix, F.; Dung Ta, C. Identification and synthesis of a trisaccharide produced from lactose by transgalactosylation. *Carbohydr. Res.* 2000, 325, 202–210
- 78.**Pourmollaei, S.; Barzegari, A.; Farshbaf-Khalili, A.; Nouri, M.; Fattahi, A.; Shahnazi, M.; Dittrich, R. Anticancer effect of bacteria on cervical cancer: Molecular aspects and therapeutic implications. *Life Sciences* 2020, 246, 117413, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117413>.
- 79.**Rad, A.H.; Abbasi, A.; Javadi, A.; Pourjafar, H.; Javadi, M.; Khaleghi, M. Comparing the microbial quality of traditional and industrial yoghurts. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 2020
- 80.**Rad AH.; Abbasi A.; Kafil HS.; Ganbarov K. Potential pharmaceutical and food applications of postbiotics: a review. *Current pharmaceutical biotechnology* 2020
- 81.**Rad, A.H.; Aghebati-Maleki, L.; Kafil, H.S.; Gilani, N.; Abbasi, A.; Khani, N. Postbiotics, as Dynamic Biomolecules, and Their Promising Role in Promoting Food Safety. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 2021,11, 14529-44, <https://doi.org/10.33263/BRIAC116.1452914544>.
- 82.**Rathore, S.; Desai, P.M.; Liew, C.V.; Chan, L.W.; Heng, P.W.S. Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering* 2013, 116, 369-381, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.022>
- 83.**Raedler, A.; Behrens, C.; Bias, P. Mesalazine (5-Aminosalicylic Acid) Micropellets Show Similar Efficacy and Tolerability to Mesalazine Tablets in Patients with Ulcerative Colitis—Results from a Randomized-Controlled Trial. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2004, 20, 1353–1363.
- 84.**Rinaldi, F., Trink, A. & Pinto, D. Efficacy of postbiotics in a PRP- like cosmetic product for the treatment of alopecia area Celsi: a randomized double- blinded parallel-group study. *Dermatol. Ther.* 10, 483–493 (2020).
- 85.**Seo, B.; Rather, I.; Kumar, V.; Choi, U.; Moon, M.; Lim, J.; Park, Y. Evaluation of *Leuconostoc mesenteroides* YML003 as a probiotic against low-pathogenic avian influenza (H9N2) virus in chickens. *Journal of applied microbiology* 2012, 113, 163-171, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05326.x>.
- 86.**Sundararaman, A.; Ray, M.; Ravindra, P.; Halami, P.M. Role of probiotics to combat viral infections with emphasis on COVID-19. *Applied microbiology and biotechnology* 2020

- 87.**Seppo Salminen 1 Maria Carmen Collado², Akihito Endo 3, Colin Hill 4,5, Sarah Lebeer⁶, Eamonn M. M. Quigley 7, Mary Ellen Sanders 8, Raanan Shamir^{9,10}, Jonathan R. Swann^{11,12}, Hania Szajewska 13 and Gabriel Vinderola¹⁴ The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics *Nature Reviews | Gastroenterology & Hepatology* volume 18 | September 2021 | 649
- 88.**Scheiman, J.; Luber, J.M.; Chavkin, T.A.; MacDonald, T.; Tung, A.; Pham, L.-D.; Wibowo, M.C.; Wurth, R.C.; Punthambaker, S.; Tierney, B.T.; et al. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nat. Med.* 2019, 25, 1104–1109
- 89.**Shi, X.; Zhu, X. Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology* 2009, 20, 407-413, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.054>.
- 90.**Sharma, V.; Harjai, K.; Shukla, G. Effect of bacteriocin and exopolysaccharides isolated from probiotic on *P. aeruginosa* PAO1 biofilm. *Folia microbiologica* 2018, 63, 181-190, <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0545-4>.
- 91.**Schauber, J.; Gallo, R.L. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 124, R13–R18.
- 92.**Šušković, J.; Kos, B.; Beganović, J.; Leboš Pavunc, A.; Habjanič, K.; Matošić, S. Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria.
- 93.**Sossai, P. Butyric Acid: What Is the Future for This Old Substance? *Swiss Med. Wkly.* 2012, 142.
- 94.**Singh, N.; Gurav, A.; Sivaprakasam, S.; Brady, E.; Padia, R.; Shi, H.; Thangaraju, M.; Prasad, P.D.; Manicassamy, S.; Munn, D.H.; et al. Activation of Gpr109a, Receptor for Niacin and the Commensal Metabolite Butyrate, Suppresses Colonic Inflammation and Carcinogenesis. *Immunity* 2014, 40, 128–139.
- 95.**Tedelind, S.; Westberg, F.; Kjerrulf, M.; Vidal, A. Anti-Inflammatory Properties of the Short-Chain Fatty Acids Acetate and Propionate: A Study with Relevance to Inflammatory Bowel Disease. *World J. Gastroenterol.* 2007, 13, 2826–2832.
- 96.**Tomusiak-Plebanek, A.; Heczko, P.; Skowron, B.; Baranowska, A.; Okon, K.; Thor, P.J.; Strus, M. Lactobacilli with superoxide dismutase-like or catalase activity are more effective in alleviating inflammation in an inflammatory bowel disease mouse model. *Drug Des. Dev. Ther.* 2018, 12, 3221–3233.

- 97.**Thibault, H.; Aubert-Jacquín, C.; Goulet, O. Effects of Long-term Consumption of a Fermented Infant Formula (with *Bifidobacterium breve* c50 and *Streptococcus thermophilus* 065) on Acute Diarrhea in Healthy Infants. *J. Pediatric Gastroenterol. Nutr.* 2004, 39, 147–152
- 98.**Uchida, M.; Ishii, I.; Inoue, C.; Akisato, Y.; Watanabe, K.; Hosoyama, S.; Toida, T.; Ariyoshi, N.; Kitada, M. Kefiran reduces atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. *J. Atheroscler. Thromb.* 2010, 17, 980–988.
- 99.**Vairavel, M.; Devaraj, E.; Shanmugam, R. An eco-friendly synthesis of *Enterococcus* sp.–mediated gold nanoparticle induces cytotoxicity in human colorectal cancer cells.
- 100.**Wanders, D.; Graff, E.C.; Judd, R.L. Effects of High Fat Diet on GPR109A and GPR81 Gene Expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012, 425, 278–283.
- 101.**West, C.; Stanisiz, A.M.; Wong, A.; Kunze, W.A. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* or *boulardii* yeasts on acute stress induced intestinal dysmotility. *World J. Gastroenterol.* 2016, 22, 10532–10544.
- 102.**Wang, Z.; MacLeod, D.T.; Di Nardo, A. Commensal Bacteria Lipoteichoic Acid Increases Skin Mast Cell Antimicrobial Activity against Vaccinia Viruses. *J. Immunol.* 2012, 189, 1551–1558.
- 103.**Wu, J.; Zhang, Y.; Ye, L.; Wang, C. The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides in vitro: A review. *Carbohydrate Polymers* 2020
- 104.**Yang, G.; Shen, K.; Yu, R.; Wu, Q.; Yan, Q.; Chen, W.; Ding, L.; Kumar, V.; Wen, C.; Peng, M. Probiotic (*Bacillus cereus*) enhanced growth of Pengze crucian carp concurrent with modulating the antioxidant defense response and exerting beneficial impacts on inflammatory response via Nrf2 activation. *Aquaculture* 2020, 529, 735691, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735691>.
- 105.**Yang, L.-C.; Lin, S.-W.; Li, I.; Chen, Y.-P.; Tzu, S.-Y.; Chou, W.; Chen, C.-C.; Lin, W.-C.; Chen, Y.-L.; Lin, W.-H. *Lactobacillus plantarum* GKM3 and *Lactobacillus paracasei* GKS6 Supplementation Ameliorates Bone Loss in Ovariectomized Mice by Promoting Osteoblast Differentiation and Inhibiting Osteoclast Formation. *Nutrients* 2020, 12, 1914, <https://doi.org/10.3390/nu12071914>.
- 106.**Zasloff, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *nature* 2002