

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗΣ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



Χρήση εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων στη
ζύμωση του γιαουρτιού

Διπλωματική Εργασία

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΛΟΥΚΑ ΕΛΕΝΗ

A.M.: 05109035

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΤΖΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2020

Περιεχόμενα

| | |
|---|-----------|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 6 |
| Κεφάλαιο Πρώτο: Γιαούρτι | 8 |
| 1.1 Ιστορική Αναδρομή | 8 |
| 1.2 Κριτήρια Ορισμού του Γιαουρτιού | 9 |
| 1.3 Αδυναμίες της Ελληνικής Νομοθεσίας | 11 |
| 1.4 Τύποι Γιαουρτιού | 12 |
| 1.4.1 Παστεριωμένο Γιαούρτι | 15 |
| 1.4.2 Ρευστό Γιαούρτι (Drinking Yogurt) | 15 |
| 1.4.3 Αεριούχο Γιαούρτι (Carbonated Yogurt) | 15 |
| 1.4.4 Παγωμένο Γιαούρτι (Frozen Yogurt)..... | 15 |
| 1.5 Τύποι Γιαουρτιού στην Ελλάδα | 16 |
| 1.6 Ζυμωμένα Προϊόντα Γάλακτος | 16 |
| 1.7 Ταξινόμηση και Χαρακτηριστικά Οξυγαλακτικών Βακτηρίων Γιαουρτιού | 17 |
| 1.8 Είδη Γαλακτικών Βακτηρίων στα Γιαούρτια | 19 |
| 1.8.1 Στρεπτόκοκκοι | 19 |
| 1.8.2 Λακτοβάκιλλοι | 20 |
| 1.8.3 Λακτόκοκκοι | 21 |
| 1.8.4 <i>Leuconostoc</i> spp. | 22 |
| 1.8.5 <i>Bifidobacterium</i> spp. | 22 |
| 1.9 Ζύμωση Γιαουρτιού | 23 |
| 1.10 Διατροφική Αξία του Γιαουρτιού | 26 |
| 1.10.1 Βιταμίνες του συμπλέγματος Β..... | 26 |
| 1.10.2 Λακτόζη | 27 |
| 1.10.3 Πρωτεΐνες..... | 27 |
| 1.10.4 Λιπίδια..... | 28 |
| 1.10.5 Μέταλλα..... | 28 |
| 1.11 Γιαούρτι και Εντερική Λειτουργία | 28 |
| 1.11.1 Εντερική χλωρίδα | 29 |
| 1.11.2 Εντερική ανοσολογική απάντηση | 29 |
| 1.12 Γιαούρτι και Υγεία | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 1.12.1 Κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και επίπεδα χοληστερόλης | 31 |
| 1.12.2 Κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και δυσανεξία στη λακτόζη | 31 |
| 1.12.3 Κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και ανοσοποιητικό σύστημα | 32 |
| 1.12.4 Διαρροϊκές ασθένειες | 32 |
| 1.12.5 Καρκίνος του παχέος εντέρου | 33 |
| 1.12.6 Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, IBD | 35 |
| 1.12.7 <i>Helicobacter pylori</i> | 36 |
| 1.12.8 Αλλεργικές αντιδράσεις | 36 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ..... | 38 |
| 2.1 Ορισμός και Ιστορική Αναδρομή της Χρήσης των Προβιοτικών | 38 |
| 2.2 Ταυτοποίηση Προβιοτικών | 39 |
| 2.3 Κριτήρια Επιλογής Προβιοτικών..... | 39 |
| 2.4 Παραδείγματα Προβιοτικών Μικροοργανισμών | 40 |
| 2.5 Λειτουργικές Ιδιότητες των Προβιοτικών..... | 42 |
| 2.6 Μηχανισμοί Δράσης των Προβιοτικών | 46 |
| 2.6.1 Ενίσχυση του εντερικού φραγμού | 46 |
| 2.6.2 Αντιμικροβιακή δράση | 47 |
| 2.6.3 Ανοσοτροποποιητική δράση..... | 48 |
| 2.6.4 Επιδράσεις στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου | 49 |
| 2.6.5 Επιδράσεις στα δενδριτικά κύτταρα | 50 |
| 2.6.6 Επίδραση σε μονοκύτταρα και μακροφάγα | 50 |
| 2.6.7 Επιδράσεις σε λεμφοκύτταρα | 50 |
| 2.7 Κλινικές Εφαρμογές Προβιοτικών | 51 |
| 2.8 Εφαρμογή των Προβιοτικών Πληθυσμών στα Τρόφιμα | 53 |
| 2.8.1 Γαλακτοκομικά προϊόντα | 53 |
| 2.8.2 Άλλα τρόφιμα | 54 |
| 2.9 Ασφάλεια και Παρενέργειες των Προβιοτικών..... | 55 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ | 57 |
| 3.1 Γενικά για τον Εγκλεισμό | 57 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2 Πλεονεκτήματα Εγκλεισμού Διατροφολογικών Συστατικών | 62 |
| 3.3 Τεχνικές Εγκλεισμού | 63 |
| 3.3.1 Ξήρανση με ψεκασμό | 64 |
| 3.3.2 Λυοφιλίωση | 66 |
| 3.3.3 Εξώθηση | 69 |
| 3.3.4 Γαλακτωματοποίηση | 70 |
| 3.4 Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για εγκλεισμό Προβιοτικών Κυττάρων | 73 |
| 3.4.1 Αλγινικό | 73 |
| 3.4.2 Κ - καραγενάνη | 74 |
| 3.4.3 Χιτοζάνη | 74 |
| 3.4.4 Κυκλοδεξτρίνη | 75 |
| 3.5 Μέθοδοι Μελέτης Εγκλεισμού | 76 |
| 3.6 Εφαρμογές του Εγκλεισμού στη Βιομηχανία Τροφίμων | 78 |
| 3.7 Εφαρμογή του Εγκλεισμού στα Προβιοτικά Βακτήρια και Παραγωγή Προβιοτικού Γιαουρτιού | 81 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 84 |
| 4.1 Σκοπός | 84 |
| 4.2 Υλικά και Μέθοδοι | 84 |
| 4.2.1 Πρώτες Ύλες - Υλικά, Αντιδραστήρια και Εξοπλισμός | 84 |
| 4.2.2 Πειραματική Διαδικασία | 86 |
| 4.2.3 Αναλύσεις – Μετρήσεις | 88 |
| 4.3 Στατιστική Επεξεργασία | 94 |
| 5.1 Μικροβιολογικά | 95 |
| 5.2 Μετρήσεις τιμών pH | 97 |
| 5.2.1 Ξηρή μαγιά | 97 |
| 5.3 Γαλακτωματοποίηση | 98 |
| 5.3.1 Αλγινικό νάτριο | 98 |
| 5.3.2 Χιτοζάνη | 100 |
| 5.3.3 Κ-καραγεννάνη | 101 |
| 5.3.4 Ξανθάνη | 103 |
| 5.3.5 Κυκλοδεξτρίνη | 105 |

| | |
|---|------------|
| 5.4 Σύγκριση αποτελεσμάτων σειράς πειραμάτων | 107 |
| 5.4.1 Μέγιστος ρυθμός μείωσης pH..... | 107 |
| 5.4.2 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης ζύμωσης (λ) | 108 |
| 5.4.3 Ιξώδες γιαουρτιών μετά την ζύμωση..... | 109 |
| 5.4.4 Ιξώδες γιαουρτιών μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C | 110 |
| 5.4.5 Προσκολλησιμότητα | 111 |
| 5.4.6 Συνεκτικότητα | 112 |
| 5.4.7 Σκληρότητα..... | 113 |
| 5.4.8 Κομμιώδες | 114 |
| 5.4.9 Μικροβιακό φορτίο..... | 115 |
| 5.5 Freeze drying..... | 116 |
| 5.5.1 Αλγινικό νάτριο | 116 |
| 5.5.2 Χιτοζάνη | 118 |
| 5.5.3 Κ-καραγεννάνη..... | 119 |
| 5.5.4 Ξανθάνη | 121 |
| 5.5.5 Κυκλοδεξτρίνη..... | 122 |
| 5.6 Σύγκριση αποτελεσμάτων σειράς πειραμάτων | 124 |
| 5.6.1 Μέγιστος ρυθμός μείωσης pH..... | 124 |
| 5.6.2 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης ζύμωσης (λ) | 125 |
| 5.6.3 Ιξώδες γιαουρτιών μετά την ζύμωση..... | 126 |
| 5.6.4 Ιξώδες γιαουρτιών μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C | 127 |
| 5.6.5 Προσκολλησιμότητα | 128 |
| 5.6.6 Συνεκτικότητα | 129 |
| 5.6.7 Σκληρότητα..... | 130 |
| 5.6.8 Κομμιώδες | 131 |
| 5.6.9 Μικροβιακό φορτίο..... | 132 |
| 5.7 Spray drying | 133 |
| 5.7.1 Αλγινικό νάτριο | 134 |
| 5.7.2 Χιτοζάνη | 135 |
| 5.7.3 Κ-καραγεννάνη..... | 136 |
| 5.7.4 Ξανθάνη | 137 |
| 5.7.5 Κυκλοδεξτρίνη..... | 138 |
| 5.7.6 Μέγιστος ρυθμός μείωσης pH..... | 139 |
| 5.7.7 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης ζύμωσης (λ) | 140 |
| 5.8 Παράγοντες μείωσης του pH | 141 |
| 5.8.1 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης, λ | 141 |
| 5.8.2 Μέγιστος ρυθμός μείωσης, μ | 143 |
| 5.8.3 Ιξώδες | 145 |
| 5.9 Ανάλυση Υφής | 148 |

| | |
|---|------------|
| 5.10 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) | 148 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΈΚΤΟ: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 149 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ..... | 150 |
| ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ..... | 162 |

Περίληψη

Ο ορισμός προβιοτικών αναφέρεται σε μικροοργανισμούς οι οποίοι όταν καταναλωθούν ζωντανοί, έχουν θετική επίδραση στην υγεία του ξενιστή. Ωστόσο λόγω των αντίξωων συνθηκών του πεπτικού συστήματος περιορίζεται η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών και κατ' επέκταση οι θετικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Για τον λόγο αυτό εφαρμόζονται τεχνικές εγκλεισμού αυτών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο εγκλεισμός *bifidobacterium bifidus* στα εξής μέσα: αλγινικό νάτριο, χιτοζάνη, κ-καραγεννάνη, ξανθάνη και κυκλοδεξτρίνη. Για τον εγκλεισμό εφαρμόστηκαν διάφορες τεχνικές όπως γαλακτωματοποίηση, ξήρανση με κατάψυξη-λυοφιλίωση (freeze drying) και ξήρανση με ψεκασμό (spray drying). Στα δείγματα των εγκλεισμένων καλλιέργειών μετρήθηκε το μικροβιακό φορτίο ώστε να αξιολογηθεί η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών στα εγκλειστικά μέσα. Στη συνέχεια οι εγκλεισμένες καλλιέργειες χρησιμοποιήθηκαν στην οξυγαλακτική ζύμωση γάλακτος και μελετήθηκαν παράγοντες όπως η κινητική μείωσης του pH (διάρκεια λανθάνουσας φάσης, λ, μέγιστος ρυθμός μείωσης, μ) κατά τη ζύμωση καθώς και τα χαρακτηριστικά υφής του γιαουρτιού (ιξώδες, συνεκτικότητα, σκληρότητα, κομμιώδες, προσκολλησιμότητα).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα το δείγμα της λυοφιλωμένης καλλιέργειας σε κυκλοδεξτρίνη οδήγησε σε τιμές λ και μ παρόμοιες με της μη εγκλεισμένης καλλιέργειας. Τα δείγματα γαλακτωματοποίησης σε χιτοζάνη και λυοφιλωμένης καλλιέργειας σε κυκλοδεξτρίνη παρουσίασαν τη μέγιστη τιμή λ και την ελάχιστη τιμή μ αντίστοιχα. Αντίθετα, τα δείγματα λυοφιλωμένης καλλιέργειας σε αλγινικό νάτριο και ξήρανσης με ψεκασμό σε κ-καραγεννάνη παρουσίασαν την ελάχιστη τιμή λ και τη μέγιστη τιμή μ αντίστοιχα. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά υφής του παραγόμενου γιαουρτιού, όλα τα εγκλειστικά μέσα είχαν αρνητική επίδραση στις τιμές τους με σημαντικότερη μείωση να παρατηρείται στα δείγματα με λυοφιλωμένη καλλιέργεια σε αλγινικό νάτριο.

Abstract

The definition probiotic refers to microorganisms which when eaten, alive, have a positive effect on the host's health. However due to the adverse conditions of the digestive system limited the viability of microorganisms and thus positive effects on human health. Therefore encapsulation techniques apply. In the present study confinement *bifidobacterium bifidus* in the following media: sodium alginate, chitosan, n-carrageenan, xanthan and cyclodextrin.

For encapsulation various techniques applied such emulsification, drying by freeze-lyophilization (freeze drying), and spray drying (spray drying). In samples of encapsulated crop the microbial load was measured to evaluate the viability of microorganisms in enclosed means. Then the encapsulated lactic acid bacterial cultures were used in milk fermentation and the kinetics reduction of pH was studied (during the latent phase, l , maximal rate of decrease, m) during the fermentation as well as the textural characteristics of yogurt (viscosity, firmness, hardness, gummy, adhesiveness).

According to the results the sample of lyophilized culture cyclodextrin resulted in values and m similar to the non-encapsulated culture. Samples emulsion of chitosan and cyclodextrin lyophilized culture showed the maximum l value and the minimum value m respectively. In contrast, the samples of freeze-dried culture in sodium alginate, and spray drying in n-carrageenan showed a minimum l value and the maximum value m respectively. Regarding the textural characteristics of the produced yoghurt, all enclosed within had a negative impact on their prices with significant reduction observed in samples lyophilised culture in alginate sodium.

Κεφάλαιο Πρώτο: Γιαούρτι

1.1 Ιστορική Αναδρομή

Το γιαούρτι είναι τρόφιμο το οποίο παράγεται πλέον σε όλο τον κόσμο, μέσω γαλακτικής ζύμωσης αγελαδινού ή πρόβειου γάλακτος. Κατά την σύγχρονη παραγωγή γιαουρτιού γίνεται προσθήκη πρωτεϊνών γάλακτος.^[24] Ένα από τα πιο σημαντικά τεχνικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού είναι η υφή, η οποία εξαρτάται από την θερμοκρασία που εφαρμόζεται και από τις καλλιέργειες εκκίνησης που παίρνουν μέρος στην ζύμωση. ^[59]

Στην πορεία του χρόνου, οι λαοί της Μεσογείου προχώρησαν στην εκμάθηση παραγωγής του γιαουρτιού και των συναφών ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος, τροποποιώντας τις παραδοσιακές μεθόδους παραγωγής που κληρονόμησαν από την επαφή τους με τις νομαδικές φυλές. Το αποτέλεσμα ήταν η παραγωγή ενός προϊόντος αρκετά διαφοροποιημένου από το αρχικό, το οποίο φαίνεται ότι αρχικά κάλυπτε την ανάγκη για την επιμήκυνση του χρόνου συντήρησης των γαλακτοκομικών προϊόντων στους λαούς αυτούς, με δεδομένο την ανισοκατανομή της παραγωγής γάλακτος μέσα στον χρόνο. ^[73]

Η παραδοσιακή μεθοδολογία για την παρασκευή των διαφόρων ζυμωμένων προϊόντων δεν γνωρίζουμε ιστορικά πως και πότε προέκυψε, αλλά σίγουρα είναι μία διαδικασία που στηρίζεται στις συνθήκες περιβάλλοντος που επικρατούν στις εκάστοτε οικογενειακές παραγωγές. Οι συνθήκες αυτές δεν ελέγχονται αυστηρά και κατά συνέπεια η κατεύθυνση της διαδικασίας της ζύμωσης μπορεί να μεταβληθεί, με αποτέλεσμα τα τελικά προϊόντα να μην παρουσιάζουν σταθερότητα στα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους.

Δεν πρέπει να αγνοηθεί ότι η διαδικασία παραγωγής στηρίζεται πλέον σε ασύγκριτα μεγαλύτερους όγκους πρώτης ύλης (γάλα) και ότι ο έλεγχος της ζυμωτικής διαδικασίας είναι απαραίτητος για την ποιότητα των γαλακτοκομικών προϊόντων. Παραμένει όμως το γεγονός ότι στην παράδοση οφείλουμε την βασική αρχική τεχνογνωσία. [56]

1.2 Κριτήρια Ορισμού του Γιαουρτιού

Σύμφωνα με τους διεθνείς οργανισμούς FAO, WHO και Codex Alimentarius, ορίζεται ότι το γιαούρτι είναι ένα προϊόν πηγμένου γάλακτος το οποίο υπόκειται σε οξυγαλακτική ζύμωση μέσω της δράσης των βακτηρίων *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*. Αυτοί οι μικροοργανισμοί στο τελικό προϊόν πρέπει να είναι βιώσιμοι και σε αφθονία. [28]

Τα γιαούρτια χωρίζονται σύμφωνα με τη χημική τους σύσταση στις παρακάτω τρεις κατηγορίες:

i. Πλήρες γιαούρτι

Ελάχιστη σύσταση λιπαρών 3,0% w/w

Ελάχιστη σύσταση μη λιπαρών στερεών συστατικών 8,2% w/w

ii. Ημιάπαχο γιαούρτι

Μέγιστη σύσταση λιπαρών <3,0 w/w

Ελάχιστη σύσταση λιπαρών >0,5% w/w

Ελάχιστη σύσταση μη λιπαρών στερεών συστατικών 8,2% w/w

iii. Άπαχο γιαούρτι

Μέγιστη σύσταση λιπαρών 0,5% w/w

Ελάχιστη σύσταση μη λιπαρών στερεών συστατικών 8,2% w/w

Υπάρχουν, βέβαια και γιαούρτια που περιέχουν γλυκαντικές ουσίες και φρούτα.

Κριτήρια έχουν οριστεί και ως προς την ετικέτα της συσκευασίας του γιαουρτιού, δηλαδή την σήμανση του προϊόντος και αφορά τα εξής χαρακτηριστικά:

- i. Όνομα προϊόντος:** Το όνομα του γιαουρτιού ορίζεται σύμφωνα με την παραπάνω κατηγοριοποίηση σε πλήρες, ημιάπαχο, άπαχο και φρουτώδες. Επίσης πρέπει να αναγράφεται και η περιεκτικότητα σε λίπος. Υποχρεωτική είναι και η αναγραφή της ζωικής προέλευσης του γάλακτος που χρησιμοποιείται (αγελαδινό , πρόβειο).
- ii. Λίστα συστατικών:** Σε αυτή τη λίστα θα πρέπει να αναγράφονται τα συστατικά που περιέχει συγκεκριμένη μερίδα του γιαουρτιού (π.χ. υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λίπη, ιχνοστοιχεία, βιταμίνες κ.λ.π.).
- iii. Βάρος προϊόντος:** Στην ετικέτα πρέπει να αναγράφεται το καθαρό βάρος του γιαουρτιού που περιέχεται στην συγκεκριμένη συσκευασία. Οι μονάδες μέτρησης θα πρέπει να ακολουθούν το Διεθνές Σύστημα (S.I.).
- iv. Όνομα και διεύθυνση:** Θα πρέπει να αναφέρεται το όνομα, η διεύθυνση και κάποιες φορές το τηλέφωνο του παρασκευαστή ή του αποκλειστικού αντιπροσώπου διανομής.
- v. Χώρα παραγωγής:** Η χώρα παραγωγής πρέπει να αναγράφεται σε περιπτώσεις εξαγωγής του προϊόντος.
- vi. Ημερομηνία:** Υποχρεωτική είναι η αναγραφή της ημερομηνίας παρασκευής καθώς και η ημερομηνία λήξης του γιαουρτιού για μεγαλύτερη ασφάλεια του καταναλωτή.
- vii. Συνολική ταυτότητα:** Κάθε εμπορευματοκιβώτιο πρέπει να φέρει έναν κωδικό που υποδηλώνει την ταυτότητα του εργοστασίου παραγωγής καθώς και τον κωδικό της παρτίδας (lotnumber).

Η εξουσιοδοτημένη αρχή στην Ελλάδα αναφέρει ότι ένας ξεκάθαρος ορισμός του γιαουρτιού δίνεται μόνο σε προϊόντα που περιέχουν ζωντανά, ενεργά και σε αφθονία κύτταρα των βακτηρίων *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*. Επίσης μόνο φυσικά υλικά πρέπει να χρησιμοποιούνται για την παραγωγή γιαουρτιού δηλαδή όχι άλλα υλικά εκτός του γάλακτος. [27,28]

1.3 Αδυναμίες της Ελληνικής Νομοθεσίας

Οι αδυναμίες που υπάρχουν στην ελληνική νομοθεσία για την παρασκευή γιαουρτιού, σε σύγκριση με την προσέγγιση που έχει γίνει διεθνώς με το standard του Codex Alimentarius αναφέρονται παρακάτω:

- Στο νομοθετικό μας πλαίσιο υπάρχουν προδιαγραφές μόνο για το γιαούρτι παρ' όλο που στην αγορά κυκλοφορούν και άλλα προϊόντα πέραν αυτού (π.χ. ξινόγαλα, αριάνι, κεφίρ, κούμης, προϊόντα με προβιοτικούς μικροοργανισμούς). Η ύπαρξη λοιπόν του όρου «ζυμωμένα γάλατα» καθίσταται αναγκαία, μιας και η καθιέρωση του θα συμπεριλάβει εκτός από το γιαούρτι και άλλα προϊόντα που παράγονται μετά από ζύμωση. Επίσης κρίνεται απαραίτητη η αποσαφήνιση όρων όπως βουτυρόγαλα, οξύγαλα κ.α.
- Στον ορισμό του γιαουρτιού δεν γίνεται καμία αναφορά στα είδη των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται καθώς όμως και στον πληθυσμό τους κατά την πώληση και την ονοματολογία σε περίπτωση αντικατάστασης ή προσθήκης άλλου μικροοργανισμού. Σύμφωνα με το standard του Codex Alimentarius ο συνολικός αριθμός των χαρακτηριστικών μικροοργανισμών του γιαουρτιού θα πρέπει να είναι κατά την ημερομηνία της ελάχιστης διατηρησιμότητας των βακτηρίων τουλάχιστον 10^7 cfu/g. Επιπλέον, στην περίπτωση που αντικατασταθεί ο *Lactobacillus bulgaricus* με άλλον μικροοργανισμό του γένους *Lactobacillus*, θα πρέπει ο όρος γιαούρτι να συνοδεύεται από άλλη λέξη που θα διευκρινίζει την τροποποίηση αυτή.
- Στο standard του Codex Alimentarius για την παρασκευή γιαουρτιού δίνεται η δυνατότητα της προσθήκης και ωφέλιμων μικροοργανισμών (π.χ. άλλων *Bifidobacteria*) μαζί με τους χαρακτηριστικούς μικροοργανισμούς. Ωστόσο, ο προστιθέμενος μικροοργανισμός θα πρέπει να έχει πληθυσμό τουλάχιστον 10^6 cfu/g προκειμένου να γίνει δήλωση και διαφήμιση του στην συσκευασία.

- Η έλλειψη συγκεκριμένου νομοθετικού πλαισίου σχετικά με τα προϊόντα με βελτιωτικά γεύσης ή και με συστατικά για την βελτίωση της θρεπτικής αξίας (σύνθετα προϊόντα) που κυκλοφορούν με διάφορες εμπορικές ονομασίες, έχει ως αποτέλεσμα τα προϊόντα αυτά να παρουσιάζουν μεγάλη ανομοιομορφία.
- Επίσης, τα χαρακτηριστικά των προϊόντων διαφοροποιούνται από χώρα σε χώρα και αυτό μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα κατά την διακίνηση τους και ακόμη μεγαλύτερη σύγχυση των καταναλωτών.

Τα προϊόντα αυτά θα μπορούσαν να ενταχθούν στα ζυμωμένα γάλατα μετά από περιγραφή των χαρακτηριστικών τους σε σχέση με τον αριθμό των χαρακτηριστικών μικροοργανισμών και το μέγιστο επίπεδο προσθήκης βελτιωτικών γεύσης. Σε περίπτωση προσθήκης πρόσθετων θα πρέπει να υπάρχει σαφής καθορισμός τους, γιατί τα ζυμωμένα γάλατα εκτιμώνται από τους καταναλωτές ως φυσικά προϊόντα.

Στον Κώδικα Τροφίμων της Ελλάδας για την παρασκευή του γιαουρτιού επιτρέπεται η χρησιμοποίηση αποκλειστικά νωπού γάλακτος ως πρώτη ύλη. Ωστόσο, πολύ καλής ποιότητας προϊόν μπορεί να παρασκευαστεί έπειτα από εμπλουτισμό του γάλακτος με πρωτεΐνες γάλακτος ή χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη συμπυκνωμένο γάλα που έχει υποστεί χαμηλή θερμική επεξεργασία. [27,28]

1.4 Τύποι Γιαουρτιού

Το γάλα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή του γιαουρτιού πρέπει να μην περιέχει αντιβιοτικά και άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες (π.χ. απολυμαντικά που χρησιμοποιούνται για τον καθαρισμό του εξοπλισμού άρμεξης, αποθήκευσης και επεξεργασίας γάλακτος) τα οποία παρεμποδίζουν την κανονική ανάπτυξη της καλλιέργειας εκκίνησης.

Το γιαούρτι είναι αποτέλεσμα της γαλακτικής ζύμωσης της λακτόζης από τα θερμοφιλά γαλακτικά βακτήρια *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus* που δρουν συνεργιστικά. Ζυμώνουν την λακτόζη παράγοντας γαλακτικό οξύ το οποίο μειώνει το pH. Όταν το pH φτάσει στο ισοηλεκτρικό σημείο των καζεϊνών (pH 4,6) προκαλείται η όξινη πήξη και τη δημιουργία του πήγματος γιαουρτιού. [1]

Τα κύρια χαρακτηριστικά του γιαουρτιού είναι:

- Το χαμηλό pH (pH 4,2 και οξύτητα 0,9- 1,0 %) με χαρακτηριστική γεύση και άρωμα που διαμορφώνονται από τα προϊόντα μεταβολισμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων που είναι εκτός από το γαλακτικό οξύ, η ακεταλδεύδη και το διακετύλιο.
- Χαρακτηριστικός τύπος πήγματος με διαφόρους βαθμούς ρευστότητας.
- Η παρουσία ζωντανών βακτηριακών κυττάρων (περίπου 10⁸-10⁹/g).

Οι θερμοκρασίες συντήρησης του γιαουρτιού είναι μεταξύ 2°C και 5°C. Για να περιοριστούν οι ενζυμικές αλλαγές στο ελάχιστο πρέπει να χρησιμοποιείται ως θερμοκρασία συντήρησης αυτή των 0°C. Αν οι θερμοκρασίες είναι άνω των 5°C επιτρέπουν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών επιμόλυνσης που είναι κυρίως ζύμες και μύκητες.

Η διάρκεια συντηρήσεως του γιαουρτιού μπορεί να κυμαίνεται από 1 έως 6 εβδομάδες. Οι παράγοντες που επηρεάζουν και καθορίζουν το χρόνο διατήρησης αυτών των προϊόντων αναφέρονται παρακάτω:

- Η θερμοκρασία συντήρησης.
- Η τιμή του pH στο τέλος της επώασης
- Οι επιμολύνσεις από ψυχρότροφους μικροοργανισμούς και ιδιαίτερα από ζύμες και μύκητες που περιορίζουν κατά πολύ το χρόνο συντήρησης.
- Η μέθοδο παραγωγής και το είδος συσκευασίας. Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών δίνει ενδεικτικό χρόνο συντήρησης 15 ημερών.

Η παρασκευή γιαουρτιού έχει τις ρίζες του στην Βαλκανική χερσόνησο όπως επίσης και στην Μέση Ανατολή. Για τους κατοίκους των περιοχών αυτών η παραγωγή προϊόντων από την ζύμωση του γάλακτος ήταν γνωστή από παλιά ως φυσικό-απλό γιαούρτι χωρίς ζάχαρη. [73]

Οι κυριότεροι τύποι γιαουρτιού που έχουν γίνει γνωστοί σε παγκόσμια κλίμακα είναι η συμπαγής (στερεή- συνεκτική- set type) και η ανακατεμένη (αναδεμένη –ημίρρευση –stirred type). Ωστόσο υπάρχουν και άλλες παρασκευές γιαουρτιού που βρίσκουν ανταπόκριση στην αγορά γαλακτοκομικών προϊόντων και είναι οι παρακάτω:

- Από γάλα διαφορετικών θηλαστικών
- Από αίγαιο γάλα
- Από πρόβειο γάλα
- Από βουβαλίσιο γάλα
- Παστεριωμένο-μακράς διάρκειας γιαούρτι
- Ρευστό γιαούρτι
- Αεριούχο γιαούρτι
- Γιαούρτι από υδρολυμένη λακτόζη (Lactose hydrolysed yoghurt)
- Στραγγιστό-συμπυκνωμένο γιαούρτι (στραγγισμένο σακούλας στραγγισμένο με φυγοκέντριση, συμπυκνωμένο με υπερδιήθηση).
- Παγωμένο γιαούρτι (Frozen yoghurt)
- Αποξηραμένο γιαούρτι
- Βιολογικό γιαούρτι (Bio- yoghurt)
- Γιαούρτι με υποκατάστατο λίπους (Fat-substitute yoghurt)
- Γιαούρτι με φυτικό λίπος
- Γιαούρτι από γάλα σόγιας
- Διάφορα προϊόντα γιαουρτιού

1.4.1 Παστεριωμένο Γιαούρτι

Ο χρόνος συντηρήσεως του γιαουρτιού κυμαίνεται στις 3-4 εβδομάδες. Για τον λόγο αυτό παρασκευάστηκε το παστεριωμένο γιαούρτι το οποίο αύξησε την ικανότητα συντηρήσεως με θέρμανση των κυτίων σε αυτόκαστο θερμοκρασίας 60-85°C και πίεση 2 atm, είτε στο αναμιγμένο πήγμα σε ειδικούς παστεριωτήρες και με θέρμανση στους 60-70°C για χρόνο από 3 min έως 40s. [44]

1.4.2 Ρευστό Γιαούρτι (Drinking Yogurt)

Το ρευστό γιαούρτι ανήκει στην κατηγορία του αναδευμένου (stirred) γιαουρτιού με χαμηλό ιξώδες το οποίο καταναλώνεται ως ένα δροσιστικό ποτό. Το γιαούρτι αναμιγνύεται καλά με ίση ποσότητα νερού, ανακινείται καλώς ή ομογενοποιείται το πήγμα και διανέμεται ως εμφιαλωμένο.

Το προϊόν αυτό έχει μικρό ιξώδες και συνήθως παρασκευάζεται από γάλα χαμηλής λιποπεριεκτικότητας (σε αντίθεση με το αριάνι). Το ρευστό γιαούρτι είναι συνήθως αρωματισμένο με πουρέ ή χυμό φρούτων (φράουλα-βατόμουρο, μήλο, καρότο, κ.α).

1.4.3 Αεριούχο Γιαούρτι (Carbonated Yogurt)

Το αεριούχο γιαούρτι μπορεί να παρασκευαστεί τόσο σε υγρή όσο και σε ξηρή μορφή. Το πήγμα του γιαουρτιού ομογενοποιείται και συγχρόνως ενσωματώνεται σε αυτό CO₂.

1.4.4 Παγωμένο Γιαούρτι (Frozen Yogurt)

Το παγωμένο γιαούρτι χωρίζεται σε τρεις κύριες κατηγορίες: του σκληρού, του μαλακού και της μους. Θυμίζει στην μορφή του παγωτό έχοντας όμως την όξινη γεύση του γιαουρτιού. Το αναμιγμένο γιαούρτι μπορεί να καταψυχθεί και να συντηρηθεί έως και 12 μήνες.

Για το σκοπό αυτό τα στερεά συστατικά του φυσικού γιαουρτιού θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 13-14% και του γιαουρτιού φρούτων 20-25% με προσθήκη σταθεροποιητών. Η κατάψυξη γίνεται με ταχεία μέθοδο και η συντήρηση στους -18 °C έως -26 °C. [17]

Η κατάψυξη δεν επηρεάζει την οξυγαλακτική χλωρίδα αισθητά αλλά το προϊόν έχει υποβαθμιστεί σε εμφάνιση και πρέπει να καταναλωθεί γρήγορα γιατί αλλοιώνεται. Η κατάψυξη του μη αναμιγμένου γιαουρτιού δεν επιτυγχάνεται διότι σχηματίζονται κρύσταλλοι οι οποίοι βλάπτουν το πήγμα και προκαλούν διαχωρισμό ορού κατά την απόψυξη.

1.5 Τύποι Γιαουρτιού στην Ελλάδα

Στη χώρα μας παράγονται και καταναλώνονται σε μεγάλες σχετικά ποσότητες τρεις κατηγορίες γιαουρτιού: **α)** το παραδοσιακό με επιδερμίδα, **β)** το βιομηχανικό και **γ)** το στραγγισμένο. Στο βιομηχανικό γιαούρτι εκτός από το στερεάς δομής (set type), όπου η επώαση γίνεται μέσα στα κύπελλα συσκευασίας, υπάρχει και το αναδευμένο (stirred type) όπου η επώαση γίνεται μέσα σε δεξαμενές. Παρακάτω περιγράφεται ο τρόπος παρασκευής τους.

1.6 Ζυμωμένα Προϊόντα Γάλακτος

Η σύγχρονη παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων γάλακτος, στηρίζεται στην πλειοψηφία της, σε εμβολιασμό με καθαρές καλλιέργειες βακτηρίων (καλλιέργειες εκκίνησης), για την διεξαγωγή της γαλακτικής ζύμωσης.

Η προσεκτική επιλογή των ειδών είναι σημαντική για τη διατήρηση της ταυτότητας του κάθε προϊόντος. Η εκδήλωση των επιθυμητών χαρακτηριστικών εξαρτάται από την παροχή των βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης για τους μικροοργανισμούς και μια από τις πιο σημαντικές είναι η θερμοκρασία.

Οι σημαντικότερες διαφορές μεταξύ των προϊόντων γάλακτος είναι αποτέλεσμα των εξής παραγόντων:

- Τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό (στέλεχος) που θα χρησιμοποιηθεί ως καλλιέργεια εκκίνησης.
- Τις ακριβείς συνθήκες που θα χρησιμοποιηθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.
- Τη σύσταση και την επεξεργασία του γάλακτος. [56]

Οι σημαντικότερες λειτουργίες των μικροβιακών καλλιεργειών στα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι:

- Να προστατεύσουν από πιθανόν παθογόνους μικροοργανισμούς το προϊόν μέσω της ζύμωσης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και ενίσχυση της ασφάλειας του προϊόντος.
- Να ενισχύουν τα διακριτά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος με την παραγωγή οργανικών οξέων και την μερική υδρόλυση των πρωτεϊνών και των λιπιδίων.
- Να βελτιώνουν το χρώμα και την παραγωγή αερίου σε ορισμένες περιπτώσεις.
- Να συνεισφέρουν στις διατροφικές ιδιότητες κάποιων προϊόντων με την χρήση προβιοτικών στελεχών. [74]

1.7 Ταξινόμηση και Χαρακτηριστικά Οξυγαλακτικών Βακτηρίων Γιαουρτιού

Για την παραγωγή του παραδοσιακού γιαουρτιού χρησιμοποιούνται βακτήρια του γαλακτικού οξέος που ανήκουν στα γένη *Lactobacillus* και *Streptococcus*.

Παρόλο που η χρήση του *L.delbrueckii subsp.bulgaricus*, ως καλλιέργεια εκκίνησης για την παραγωγή γιαουρτιού, είναι σχεδόν υποχρεωτική παρατηρείται η περιστασιακή χρήση του *L.delbrueckii subsp.lactis* πιθανόν επειδή η ταξινομική σχέση των δύο μικροοργανισμών είναι πολύ κοντινή.

Οι οργανισμοί όμως που σχετίζονται με την παραγωγή γιαουρτιού είναι περιοριστικά τα *L.delbrueckii subsp.bulgaricus* και *Strep. thermophilus*.

- Ο τελευταίος έχει ταξινομηθεί ως *Streptococcus alivarius subsp. thermophiles* επειδή η ομολογία του DNA ανάμεσα στα είδη *S.salivarius* και *S.thermophilus* έχει βρεθεί σε ποσοστό 75-97%.

Ωστόσο αυτά τα γενετικά δεδομένα δεν υποστηρίχτηκαν από μεγάλο αριθμό ταξινομικών μελετών και έτσι οι περισσότερες πηγές έχουν επιστρέψει στην παλιά ονοματολογία του *S.thermophilus*. [7] Το *S.thermophilus* είναι Gram- θετικό βακτήριο με σφαιρικό/ωοειδές κύτταρο 0,7- 0,9μm διάμετρο. Εμφανίζεται στο γάλα σε μακριές αλυσίδες των 10-20 κύτταρων και με τη ζύμωση της λακτόζης δίνει L(+)-γαλακτικό οξύ ως κύριο προϊόν σε ποσότητα 10g για κάθε λίτρο του γιαουρτιού. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 37 °C αερόβια. [56]

Το *L.delbrueckii subsp.bulgaricus* είναι επίσης Gram- θετικό βακτήριο αλλά στο γάλα εμφανίζεται σε αλυσίδες των τριών με τεσσάρων ραβδίων (βάκιλλοι) με στρογγυλό τελείωμα και διαστάσεις 0,5-0,8*2,9-9,0 μm. Το προϊόν του βασικού μεταβολισμού του είναι το D(-)-γαλακτικό οξύ σε ποσότητα περίπου 18g/L. Η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης είναι 45 °C αναερόβια.

Σε ορισμένα γιαούρτια μαζί με τους παραπάνω δύο μικροοργανισμούς προσθέτονται και βακτήρια του γένους *Bifidobacterium* για τη δημιουργία των λεγόμενων βιολογικών – προβιοτικών γιαουρτιών.

Η ταξινομική κατάσταση και η ονοματολογία αυτών των βακτηρίων έχει μεταβληθεί με την βοήθεια των νέων ταξινομικών μοριακών εργαλείων. Ενώ, λοιπόν, ήταν ταξινομημένα ως *Lactobacillus spp.* στην τελευταία έκδοση του *Bergey's Manual* οι ίδιοι οργανισμοί συγκεντρώνονται σε ξεχωριστό γένος, το γένος *Bifidobacterium*.

Παρότι απομονώθηκαν 30 διαφορετικά είδη του γένους *Bifidobacterium* μόνο έξι παρουσιάζουν ενδιαφέρον στην βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων: *Bifidobacterium adolescentis*, *B.breve*, *B.bifidum*, *B.infantis*, *B.lactis*, *B.longum*. Τα βακτήρια αυτά είναι Gram- θετικοί, υποχρεωτικά αναερόβιοι μη σπορογόνοι πλειομορφικοί βάκιλλοι με διαστάσεις των κυττάρων 0,5-1,5*1,5-8μm. Οι βάκιλλοι αυτοί παρουσιάζουν πολύ χαρακτηριστικό σχήμα V ή Y ή X, γεγονός στο οποίο οφείλουν το όνομά τους (δισχιδή βακτήρια). [73]

1.8 Είδη Γαλακτικών Βακτηρίων στα Γιαούρτια

1.8.1 Στρεπτόκοκκοι

Τα στελέχη του γένους *Streptococcus* περιγράφονται με βάση μορφολογικά, φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά. Έχουν μορφή κόκκων που σχηματίζουν μεγάλες αλυσίδες και περιλαμβάνουν ένα μεγάλο εύρος οργανισμών, όπως τα ισχυρά παθογόνα βακτήρια *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* και *S. agalactiae*, την εντερική ομάδα *S. faecalis* και *S. faecium* και τα βακτήρια που χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης *S. cremoris* και *S. lactis*. Οι στρεπτόκοκκοι έχουν πολύπλοκες τροφικές απαιτήσεις και ευδοκιμούν σε περιβάλλοντα με επαρκείς πηγές πρωτεϊνών και υδατανθράκων, συμπεριλαμβανομένων των ιστών του εντερικού σωλήνα, του γάλατος και των γαλακτοκομικών, των λαχανικών κ.α..

Το εξελικτικό δέντρο της κλωστριδικής υποομάδας των Gram+ βακτηρίων χωρίζει τους στρεπτόκοκκους σε τρία διαφορετικά είδη: *Streptococcus sensu stricto*, *Enterococcus* και *Lactococcus*. [19] Το *S. thermophilus* είναι το μοναδικό στέλεχος των στρεπτόκοκκων που χρησιμοποιείται ως καλλιέργεια εκκίνησης στη βιομηχανία τροφίμων και είναι βασικό στοιχείο στην παραγωγή γιαουρτιού και τυριού.

Τα κύτταρά του έχουν σφαιρική ή ωοειδή μορφή με διάμετρο μικρότερη από 1μm και σχηματίζουν ζεύγη ή αλυσίδες. Αναπτύσσεται μεταξύ 40 και 50°C και για τη βέλτιστη ανάπτυξή του χρειάζονται βιταμίνες του συμπλέγματος Β και κάποια αμινοξέα. Μαζί με τα στελέχη *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus lactis* και *Lactobacillus helveticus*, χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες εκκίνησης ανάμεικτων στελεχών, με βέλτιστη θερμοκρασία επώασης μεγαλύτερη των 40°C, όπως στο γιαούρτι και άλλα παρόμοια γαλακτοκομικά προϊόντα.

Τα στελέχη *S. thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* εμφανίζουν μια συνεργιστική σχέση στην ανάπτυξή τους.

Ο *S. thermophilus* παράγει φουμαρικό οξύ, το οποίο ευνοεί την ανάπτυξη του *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, το οποίο στη συνέχεια με την προτεωλυτική του δράση επιτρέπει την ανάπτυξη του στρεπτόκοκκου στο γάλα. [4]

1.8.2 Λακτοβάκιλλοι

Οι λακτοβάκιλλοι είναι αποκλειστικά ζυμωτικοί οργανισμοί και έχουν πολύπλοκες τροφικές απαιτήσεις. Είναι ανθεκτικοί σε όξινο περιβάλλον και τροποποιούν στην όξινη περιοχή το pH των τροφίμων που περιέχουν ζυμώσιμους υδατάνθρακες, με αποτέλεσμα να μπορούν να αναστείλουν ή και να εξοντώσουν άλλα βακτήρια.

Χρησιμοποιούνται ως καλλιέργειες εκκίνησης για τυριά, ζυμωμένα κρέατα και λαχανικά κρασιά κ.α. Ανάλογα με τον χαρακτήρα ζύμωσης, οι λακτοβάκιλλοι χωρίζονται σε υποχρεωτικά ομοζυμωτικούς, προαιρετικά ετεροζυμωτικούς και υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς.

Οι υποχρεωτικά ομοζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι ζυμώνουν τις εξόζες και παράγουν γαλακτικό οξύ. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα στελέχη *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. farmicinis* και *L. kefirifaciens*.

Το *L. acidophilus* χρησιμοποιείται στην παραγωγή ξινόγαλου και κατατάσσεται μαζί με το *L. jensonii* στην κατηγορία των προβιοτικών βακτηρίων. Το *L. Delbruekii* περιλαμβάνει τα *L. delbruekii subsp. delbruekii bulgaricus* και *lactis*, τα οποία χρησιμοποιούνται στην παρασκευή γιαουρτιών και τυριών.

Οι προαιρετικά ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι ζυμώνουν τις εξόζες και παράγουν γαλακτικό οξύ, αλλά μπορούν να ζυμώσουν και το γλυκονικό παράγοντας CO₂. Ακόμα ζυμώνουν και τις πεντόζες προς παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέος. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα στελέχη *L. casei*, *L. rhamnosus* και *L. plantarum*. Ο *L. casei* εντοπίζεται στα γαλακτοκομικά προϊόντα, τον εντερικό σωλήνα κ.α..

Οι υποχρεωτικά ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι ζυμώνουν τις πεντόζες προς γαλακτικό οξύ, αιθανόλη και CO₂. Στην κατηγορία αυτή ανήκει ο *L. sanfrancisco*, ο οποίος συμμετέχει στη ζύμωση του ψωμιού μετατρέποντας τη μαλτόζη σε γαλακτικό και οξικό οξύ. [14]

1.8.3 Λακτόκοκκοι

Το γένος *Lactococcus* είναι σχετικά νέο, καθιερώθηκε μόλις το 1985 από τους Schleifer και συν., και τα περισσότερα στελέχη του ανήκαν παλαιότερα στα γένη *Streptococcus* και *Lactobacillus*. Οι λακτόκοκκοι είναι ομοζυμωτικά βακτήρια και παράγουν L (+) γαλακτικό οξύ. Τα κύτταρά τους έχουν ωοειδές σχήμα, μεγέθους μεταξύ 0,5 – 1,5 μm, και σχηματίζουν ζεύγη και κοντές αλυσίδες.

Αναπτύσσονται σε θερμοκρασία 30°C και μπορούν να αναπτυχθούν μέχρι και σε θερμοκρασία 10°C αλλά όχι στους 45°C. Έχουν πολύπλοκες τροφικές απαιτήσεις και είναι αυξοτροφικά για κάποια αμινοξέα και πρωτεΐνες.

Στο γένος αυτό ανήκουν τα στελέχη *Lc. Lactis subsp. cremoris*, *Lc. lactis subsp. hordniae*, *Lc. garvieae*, *Lc. piscium*, *Lc. Plantarum* και *Lc. raffinolactis*. Τα *Lc.lactis subsp.lactis* και *cremoris* χρησιμοποιούνται ευρύτατα για ζυμώσεις στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

1.8.4 Leuconostoc spp.

Τα στελέχη του γένους *Leuconostoc* είναι ετεροζυμωτικά βακτήρια και παράγουν D(+)-γαλακτικό οξύ από τις πεντόζες. Έχουν πολύπλοκες τροφικές απαιτήσεις οι οποίες περιλαμβάνουν κάποια αμινοξέα, πεπτιδία, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μεταλλικά ιόντα. Έχουν μορφή κοντών βακίλλων, μεγέθους μεταξύ 0,5– 0,7 x 0,7 – 1,2 μm, και σχηματίζουν ζεύγη ή αλυσίδες.

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα στελέχη *Leuconostoc argentinum*, *carosum*, *citreum*, *fallax*, *gelidum*, *lactis*, *mesenteroidessubsp. cremoris*, *menteroidessubsp. dextranicum*, *mesenteroides subsp. mesenteroides* και *pseudo-mesenteroides*.

1.8.5 Bifidobacterium spp.

Τα bifidobacterium ανήκουν στη φυσική εντερική χλωρίδα των ανθρώπων και των ζώων και είναι αναερόβια, μη σποριογόνα, χωρίς αυτόνομη κίνηση Gram+ βακτήρια, τα οποία αρχικά κατατάσσονταν στα είδη των λακτοβακίλλων.

Με την εφαρμογή των τεχνικών της μοριακής ταξινόμησης διαχωρίστηκαν από τους λακτοβάκιλλους και τα υπόλοιπα βακτήρια του γαλακτικού οξέος, από τα οποία διαφέρουν ως προς το υψηλότερο ποσοστό βάσεων G + C που έχουν στο DNA τους. Αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μεταξύ 20 και 46 °C και εξουδετερώνονται στους 60 °C.

Το βέλτιστο pH για την ανάπτυξή τους είναι μεταξύ 6,5 και 7,0, ενώ δεν αναπτύσσονται καθόλου σε pH μικρότερο από 5,1 ή μεγαλύτερο από 8,0.

Το όνομά τους οφείλεται στις διοχιδείς μορφές που έχουν, και ανάλογα με το θρεπτικό υπόστρωμα στο οποίο αναπτύσσονται εμφανίζουν χαρακτηριστικά σχήματα, όπως Y, X, V, λεπτότερο κέντρο με πιο χοντρά άκρα και κοκκοειδή ή βακιλλόμορφα κύτταρα. [74]

Είναι ετεροζυμωτικά βακτήρια και ζυμώνουν τη γλυκόζη προς παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέος. Τα bifidobacterium περιλαμβάνουν περισσότερα από 30 είδη, τα οποία έχουν εντοπιστεί σε διάφορες πηγές, όπως ο άνθρωπος, τα ζώα, τα έντομα, το περιβάλλον κ.α. Τα είδη των bifidobacterium που βρίσκονται στην εντερική χλωρίδα του ανθρώπου διαφέρουν από τα είδη των bifidobacterium που βρίσκονται στην εντερική χλωρίδα των ζώων.

Τα είδη των bifidobacterium που εντοπίζονται στον άνθρωπο είναι τα *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. adolescentis* και *B. pseudocatenulatum*, ενώ στα ζώα εντοπίζονται κυρίως τα *B. pseudolongum*, *B. thermophilus* και *B. animalis*. Στην βιομηχανία γαλακτοκομικών προϊόντων χρησιμοποιούνται κυρίως έξι είδη bifidobacterium, τα *B. adolescentis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. lactis* και *B. longum*, για την παρασκευή καινοφανών γαλακτοκομικών προϊόντων.

1.9 Ζύμωση Γιαουριού

Η συνεργιστική αλληλεπίδραση των δυο μικροοργανισμών ως καλλιέργειες ζύμωσης στο γιαούρτι είναι σημαντική και δίνει στο γιαούρτι έναν διακριτό χαρακτήρα. Έχει παρατηρηθεί ότι η παραγωγή του γαλακτικού οξέος από την μικτή καλλιέργεια των δύο ειδών είναι σημαντικά μεγαλύτερη από το άθροισμα των παραγωγών του κάθε είδους χωριστά. [73] Αυτή η παρατήρηση οδήγησε τους Pette and Lolkema να θέσει ως δεδομένο τη συνεργιστική σχέση μεταξύ των δύο αυτών ειδών. Έτσι είναι ευρύτατα αποδεκτό ότι:

- Η πρωτεολυτική δράση του *L.delbrueckii subsp. bulgaricus* απελευθερώνει πεπτιδία και σε μικρότερο ποσοστό, αμινοξέα που μπορούν να μεταβολιστούν από το *S.thermophilus*.

- Οι πεπτιδάσες του *S.thermophilus* δρουν στα πεπτίδια και απελευθερώνουν αμινοξέα που χρησιμοποιούνται από το *L.delbrueckii subsp.bulgaricus*.

Μερικές αλλαγές που εμφανίζονται κατά την παραγωγή γιαουρτιού ως αποτέλεσμα της δράσης των καλλιεργειών που αναφέρθηκαν παραπάνω είναι:

- **Υδατάνθρακες:** Η λακτόζη υδρολύεται μέσα στο βακτηριακό κύτταρο από το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Το τελευταίο χρησιμοποιείται για την παραγωγή των D(-) και L(+) γαλακτικού οξέος.
Το σύμπλεγμα του ασβεστίου-φωσφόρου σταθεροποιείται από το γαλακτικό οξύ και αυτό οδηγεί στην πήξη του γιαουρτιού. Η γεύση και οσμή του γιαουρτιού προέρχονται από προϊόντα ζύμωσης των σακχάρων του γάλακτος όπως ακεταλδεύδη, ακετόνη, ακετοίνη και διακετύλιο σε συγκέντρωση $2,4-41\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $1,0-4,0\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $2,5-4,0\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $0,4-13,0\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ αντίστοιχα.
- **Πρωτεόλυση:** Οι καλλιέργειες των γιαουρτιών είναι ελάχιστα πρωτεολυτικές και τα πεπτίδια και τα αμινοξέα που παράγονται δρουν ως πρόδρομοι για τις ενζυμικές και χημικές αντιδράσεις που οδηγούν στις παραπάνω αρωματικές ενώσεις. Τα ελεύθερα αμινοξέα στο γιαούρτι ποικίλουν σε συγκέντρωση από 23,6 με 70mg /100ml.
- **Λιπόλυση:** Η λιπόλυση γίνεται σε κάποιο βαθμό από τα βακτήρια των καλλιεργειών και τα τελικά προϊόντα συμβάλλουν σημαντικά στη γεύση και οσμή του γιαουρτιού. Οι λιπάσες των καλλιεργειών δρουν κυρίως στα τριγλυκερίδια μικρής αλύσου.
- **Διάφορες Αλλαγές:** Η οξύτητα στο γιαούρτι μπορεί να φτάσει τα 7,5meq/Kg του *L.delbrueckii subsp. bulgaricus* κυρίως ως αποτέλεσμα του μεταβολισμού. Επίσης έχουμε αύξηση στη νιασίνη και το φολικό οξύ κατά τη ζύμωση ενώ τα επίπεδα των βιταμινών B12 , θειαμίνης , ριβοφλαβίνης και παντοθενικού οξέος μειώνονται.

- **Στάδια Παραγωγής:** Γενικά τα στάδια παραγωγής του γιαουρτιού αποτελούνται από την προκαταρτική επεξεργασία του γάλακτος (τυποποίηση των λιπών και ενίσχυση των στερεών μη λιπών<SNF>), την ομογενοποίηση, τη θερμική επεξεργασία, τη ψύξη, τη ζύμωση, τη ψύξη ξανά, την προσθήκη φρούτων (σε γιαούρτια με φρούτα), συσκευασία και αποθήκευση σε κρύο περιβάλλον. Μετά την ψύξη του επεξεργασμένου γάλακτος στους 30 °C με 40 °C γίνεται εμβολιασμός με τις καλλιέργειες εκκίνησης για να ζυμώσουν το γάλα. Η ζύμωση γίνεται σε βιοαντιδραστήρες που αποτελούνται από μεγάλες δεξαμενές σε pH>5,7. Πριν όμως τον εμβολιασμό πρέπει να γίνει ο απαραίτητος έλεγχος των καλλιεργειών. Αυτό περιλαμβάνει την επώαση σε εκλεκτικά υλικά , απομόνωση και παρατήρηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών των αποικιών τους.

Επίσης γίνεται έλεγχος απουσίας επιμόλυνσης με τη δοκιμή της αντίδρασης της καταλάσης. Η παρουσία φυσαλίδων αερίου είναι ένδειξη επιμόλυνσης. Η εξέταση για επιμόλυνση αφορά τόσο την προστασία των καταναλωτών από παθογόνα είδη βακτηρίων όσο και την σιγουριά ότι τα υλικά δεν θα αλλοιωθούν κατά τη διάρκεια της προβλέψιμης ημερομηνίας ζωής .Αυτά τα ζητήματα είναι ζωτικής σημασίας για κάθε εταιρεία. Καθόλην την διάρκεια της ζύμωσης του γάλακτος το pH μειώνεται. Η εξίσωση που περιγράφει γενικά αυτήν την μεταβολή του pH συναρτήσει του χρόνου είναι η εξής:

$$y = y_0 + (y_0 - y_\infty) * \exp\left\{-\exp * \left[\frac{\mu * e}{y_0 - y_\infty} * (\lambda - t) * t\right]\right\}$$

Όπου y_0, y_∞ το pH έναρξης και λήξης της ζύμωσης αντίστοιχα, t η συνολική διάρκεια ζύμωσης και μ, λ ο μέγιστος ρυθμός μείωσης και η διάρκεια λανθάνουσας φάσης. [56]

1.10 Διατροφική Αξία του Γιαουρτιού

Η περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε θρεπτικά συστατικά εξαρτάται από τη σύσταση του γάλακτος από το οποίο προέρχεται, η οποία με τη σειρά της επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως οι γενετικές και οι ατομικές διαφορές των γαλακτοπαραγωγών ζώων, η διατροφή τους, η ηλικία, η περίοδος γαλουχίας και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Άλλοι παράγοντες που παίζουν ρόλο κατά την επεξεργασία του γάλακτος, περιλαμβάνοντας την θερμοκρασία και τον χρόνο έκθεσης στην θερμότητα, την έκθεση στο φως και τις συνθήκες αποθήκευσης, μπορούν επίσης να επηρεάσουν την θρεπτική αξία του τελικού προϊόντος.

Τέλος, η σύσταση του γιαουρτιού επηρεάζεται κατά τη διαδικασία της ζύμωσης και εξαρτάται από τα βακτηριακά στελέχη που θα επιλεγούν και τη θερμοκρασία και διάρκεια της ζύμωσης.

1.10.1 Βιταμίνες του συμπλέγματος Β

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνται γενικότερα πρωτεϊνών βιολογικής αξίας, ασβεστίου, καλίου, ως εξαιρετική πηγή μαγνησίου, φωσφόρου, ψευδάργυρου και των βιταμινών της ομάδας Β, ριβοφλαβίνης, νιασίνης, Β-6 και Β-12. Η απώλεια των βιταμινών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή των μετάλλων, λόγω της ευαισθησίας τους σε αλλαγές του περιβάλλοντος. Μερικοί παράγοντες που προκαλούν την απώλεια βιταμινών κατά τη διαδικασία παραγωγής του γιαουρτιού είναι η θερμοκρασία, η παστερίωση, η υπερδιήθηση και η ανάδευση. Επιπλέον, το περιεχόμενο του τελικού προϊόντος σε βιταμίνες επηρεάζεται και από τη δράση των βακτηριακών καλλιεργειών κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. ^[13]

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρειάζονται βιταμίνες του συμπλέγματος Β για την ανάπτυξή τους, ενώ υπάρχουν και στελέχη που μπορούν να παράγουν βιταμίνες, με καλύτερο παράδειγμα την σύνθεση φυλικού οξέος από βακτήρια που ανήκουν στα γένη *S. thermophilus* και *Bifidobacterium*. ^[57]

1.10.2 Λακτόζη

Πριν τη ζύμωση η περιεκτικότητα του γιαουρτιού σε λακτόζη είναι περίπου 6%. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης το 20-30% του δισακχαρίτη λακτόζη υδρολύεται στα συστατικά του, τους μονοσακχαρίτες γλυκόζη και γαλακτόζη. Αυτή η μείωση της συγκέντρωσης της λακτόζης εξηγεί γιατί το γιαούρτι είναι καλύτερα ανεκτό σε άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη. [56]

1.10.3 Πρωτεΐνες

Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του γιαουρτιού που κυκλοφορεί στο εμπόριο είναι γενικότερα μεγαλύτερη από αυτή του γάλακτος, εξαιτίας της προσθήκης σκόνης από άπαχο γάλα, η οποία αυξάνει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του τελικού προϊόντος.

Υποστηρίζεται ότι η πρωτεΐνη του γιαουρτιού είναι πιο εύπεπτη από αυτή του γάλακτος, καθώς έχει προηγηθεί μια υδρόλυση των πρωτεϊνών του γάλακτος από τα βακτήρια του γιαουρτιού.

Αυτό αποδεικνύεται από την ύπαρξη υψηλότερης περιεκτικότητας σε ελεύθερα αμινοξέα στο γιαούρτι, ειδικότερα προλίνης και γλυκίνης, από το γάλα. Κάποια βακτηριακά στελέχη έχουν δείξει ότι έχουν μεγαλύτερη πρωτεολυτική δραστηριότητα από άλλα, όπως για παράδειγμα το *L.bulgaricus* σε σχέση με το *S. thermophilus*. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, η θερμική επεξεργασία και η παραγωγή γαλακτικού οξέος, έχουν ως αποτέλεσμα τη λεπτότερη πήξη της καζεΐνης κάνοντάς την πιο εύπεπτη.

Η βιολογική αξία των πρωτεϊνών του γιαουρτιού είναι πολύ υψηλή, όπως του γάλακτος, γιατί δεν μεταβάλλονται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τόσο οι καζεΐνες, όσο και οι πρωτεΐνες ορού είναι πλούσιες πηγές όλων των απαραίτητων αμινοξέων, με μεγάλη εντερική διαθεσιμότητα του οργανικού αζώτου, που φτάνει το 93% . [13]

1.10.4 Λιπίδια

Το λίπος του γάλατος υφίσταται επίσης βιοχημικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και μικρές ποσότητες ελεύθερων λιπαρών οξέων ελευθερώνονται με τη δράση των λιπασών.

Ωστόσο, βρέθηκε ότι το γιαούρτι έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις συζευγμένου λινολενικού οξέος από το γάλα το οποίο φαίνεται ότι προσδίδει αντικαρκινικές ιδιότητες και ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα. [74]

1.10.5 Μέταλλα

Το γιαούρτι είναι πολύ καλή πηγή ασβεστίου και φωσφόρου. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το γάλα, το γιαούρτι και το τυρί, παρέχουν το μεγαλύτερο ποσοστό ασβεστίου υψηλής βιοδιαθεσιμότητας στη διατροφή δυτικού τύπου.

Οι φυτικές ίνες μειώνουν την απορρόφηση του ασβεστίου, όμως χάρη στο χαμηλό pH του γιαουρτιού ελαττώνεται η ανασταλτική δράση των φυτικών οξέων και αυξάνεται η βιοδιαθεσιμότητα του ασβεστίου. Επίσης, το χαμηλότερο pH του γιαουρτιού σε σχέση με το γάλα προκαλεί τον ιονισμό του ασβεστίου, το οποίο με τη μορφή ιόντων απορροφάται ευκολότερα από το έντερο. [13]

Κυρίαρχο ρυθμιστικό ρόλο στην απορρόφηση του ασβεστίου στο έντερο παίζει η βιταμίνη D.

1.11 Γιαούρτι και Εντερική Λειτουργία

Έχει προταθεί ότι το γιαούρτι και τα οξυγαλακτικά βακτήρια αυτού συμβάλλουν στη υγεία του γαστρεντερικού συστήματος. Συγκεκριμένα συμβάλλουν στη σύνθεση της γαστρεντερικής χλωρίδας, στην ανοσολογική απάντηση και στην χαλαρότητα του εντέρου.

1.11.1 Εντερική χλωρίδα

Οι λακτοβάκιλλοι ανήκουν στα συστατικά της εντερικής χλωρίδας στο λεπτό και το παχύ έντερο. Η ικανότητα της μη παθογόνου εντερικής μικροβιακής χλωρίδας, στην οποία ανήκουν τα οξυγαλακτικά βακτήρια, να δεσμεύεται στο εξωτερικό άκρο του εντερικού ιστού, εμποδίζει την πρόσβαση παθογόνων μικροβίων στο γαστρεντερικό βλεννογόνο. Έχει βρεθεί ότι ο *L. acidophilus* προκαλεί μια μέτρια αναστολή στην προσκόλληση των εντεροπαθογόνων *Escherichia coli* και *Salmonella typhimurium* στα εντεροκύτταρα CaCO_2 , καθώς επίσης και ότι αναστέλλει την εισαγωγή των *E. coli*, *S. typhimurium* και *Yersinia pseudotuberculosis* στα εντεροκύτταρα CaCO_2 . [1] Η επίδραση των οξυγαλακτικών βακτηρίων εξαρτάται από την ικανότητα επιβίωσής τους στον εντερικό σωλήνα, η οποία επηρεάζεται από το γαστρικό pH και την έκθεση σε πεπτικά ένζυμα και χολικά άλατα.

Η ικανότητα επιβίωσης στο γαστρεντερικό περιβάλλον διαφέρει ανάμεσα στα διαφορετικά είδη των οξυγαλακτικών βακτηρίων, για παράδειγμα το *Bifidobacterium longum* είναι πιο ανθεκτικό στο γαστρικό οξύ από ότι τα *B. Infantis* και *B. bifidus*.

1.11.2 Εντερική ανοσολογική απάντηση

Ο βλεννογόνος λεμφοειδής ιστός του γαστρεντερικού σωλήνα είναι η πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού στα παθογόνα μικρόβια που μεταφέρονται την τροφή. Η αλληλεπίδραση των οξυγαλακτικών βακτηρίων με το επιθήλιο του βλεννογόνου και τα λεμφοειδή κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα αποτελεί το σημαντικότερο μηχανισμό με τον οποίο τα οξυγαλακτικά βακτήρια ενισχύουν την ανοσολογική λειτουργία του εντέρου.

Αρκετοί παράγοντες έχουν αναγνωριστεί ότι συμβάλλουν στην ανοσολογική ρύθμιση και αντιμικροβιακή δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων, συμπεριλαμβάνοντας την παραγωγή χαμηλού pH, οργανικών οξέων, CO₂, υπεροξειδίου του υδρογόνου, βακτηριοσινών, αιθανόλης, διακετυλίου και τον ανταγωνισμό του διαθέσιμου ζωτικού χώρου.

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που περιέχονται σε ζυμωμένα προϊόντα γάλατος βρέθηκε ότι προκαλούν την αύξηση της σύνθεσης IgA και sIgA στο έντερο, καθώς και τον αριθμό των μακροφάγων και την φαγοκυτταρική δραστηριότητα.

1.12 Γιαούρτι και Υγεία

Οι άνθρωποι σε όλο τον κόσμο καταναλώνουν ζυμωμένα προϊόντα γάλακτος (ΖΠΓ) ως βασικό μέρος της διατροφής τους, εδώ και πολλά χρόνια. Η καταγραφή της κατανάλωσης των ΖΠΓ από τη Διεθνή Ομοσπονδία Γαλακτοκομικών (IDF), η οποία γίνεται συστηματικά από το 1966, καταδεικνύει μεγάλη αύξηση κατά τις τελευταίες δεκαετίες.

Ιδιαίτερα η κατανάλωση του γιαουρτιού, είναι σε ανοδική πορεία, πιθανόν λόγω των συζητούμενων στο ευρύ καταναλωτικό κοινό, σημαντικών ωφελειών στην υγεία.

Η παρουσία και η δράση των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος (LAB) στη ζύμωση του γιαουρτιού είναι ένας από τους βασικότερους λόγους που το γιαούρτι θεωρείται ωφέλιμο για την υγεία του καταναλωτή.

1.12.1 Κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και επίπεδα χοληστερόλης

Υπάρχει τις τελευταίες δεκαετίες η αυξανόμενη αντίληψη ότι η χοληστερόλη ορού και η υγεία συσχετίζονται. Υψηλή χοληστερόλη ορού έχει αποδειχθεί ότι έχει αυξήσει τον αριθμό θανάτων από αθηροσκληρωτικές ασθένειες της καρδιάς. Για τον λόγο αυτό έχουν διαμορφωθεί διατροφικά σχήματα με σκοπό τη μείωση της χοληστερόλης.

Τα αποτελέσματα από μελέτες σε ανθρώπους ως προς την κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και συγκέντρωσης της χοληστερόλης ορού είναι αντιφατικά. Η συσχέτιση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης ορού και της κατανάλωσης ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές. Μεγάλες ποσότητες κατανάλωσης ζυμωμένου γάλακτος αγελάδας (8 l/day) από πολεμιστές Massai, έχει συνδεθεί με χαμηλές τιμές χοληστερόλης ορού.

1.12.2 Κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και δυσανεξία στη λακτόζη

Οφέλη από τα LAB παρατηρήθηκαν και στη βελτίωση της δυσανεξίας στη λακτόζη. Η λακτόζη που είναι δισακχαρίτης του γάλακτος, υδρολύεται από τη λακτάση και κατόπιν απορροφάται στο λεπτό έντερο.

Σε μια μελέτη παρατηρήθηκε ότι το γιαούρτι και το ξινόγαλα είναι καλύτερα ανεκτά σε άτομα με δυσανεξία από το χαμηλών λιπαρών γάλα, όπως προέκυψε από τη μέτρηση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα.

Όμως το γιαούρτι και το ξινόγαλα (*acidophilus milk*) περιέχουν μόλις την μισή ποσότητα λακτόζης (2,4-2,6%) σε σχέση με το γάλα χαμηλών λιπαρών (5,0%).

Η αύξηση στην ανοχή της λακτόζης αποδόθηκε στα χαμηλά επίπεδα λακτόζης ή στην αυξημένη απορρόφησή της από το γαστρεντερικό σωλήνα μέσω των LAB.

Σε άλλη μελέτη χορηγήθηκαν σε δέκα άτομα με πρόβλημα δυσανεξίας στη λακτόζη, ίσες ποσότητες λακτόζης μέσω γάλακτος(400ml περιέχουν 18gr λακτόζης) ή γιαουρτιού(440ml περιέχουν 18gr λακτόζης).

Διάρροια και φούσκωμα αναφέρθηκαν στο 80% των ατόμων που κατανάλωσαν γάλα ενώ μόλις το 20% που κατανάλωσαν γιαούρτι ανέφεραν αυτά τα συμπτώματα. Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι το γιαούρτι ήταν καλύτερα ανεκτό σε σχέση με το γάλα. [7]

1.12.3 Κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και ανοσοποιητικό σύστημα

Πολλοί είναι εκείνοι οι οποίοι είναι ευαίσθητοι σε ασθένειες λόγω χαμηλής λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος. Έτσι είναι σημαντικό για αυτούς τους ανθρώπους να αποκατασταθεί ή να ενισχυθεί η άμυνα του οργανισμού τους. Έχει βρεθεί ότι τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ενισχύουν την αντίσταση του οργανισμού σε ξενιστές και ειδικά παθογόνους.

Η προστατευτική δράση των βακτηρίων του γένους *Lactobacillus* βασίζεται στην ικανότητά τους να ενεργοποιούν τα μακροφάγα κύτταρα του προσβαλλόμενου οργανισμού και έτσι να ενισχύουν το σχηματισμό των μονοκυττάρων του αίματος στο σημείο όπου υπάρχει η προσβολή από τον ξενιστή. [4]

1.12.4 Διαρροϊκές ασθένειες

Οι διάρροιες είναι ένα από τα συχνά προβλήματα των παιδιών παγκοσμίως. Από τις αρχές του 20ου αιώνα έχει προταθεί ότι ζωντανές βακτηριακές καλλιέργειες, όπως αυτές που χρησιμοποιούνται για τη ζύμωση των γαλακτικών προϊόντων, ίσως μπορούν να βοηθήσουν στην πρόληψη και αντιμετώπιση των διαρροϊκών ασθενειών.

Σε μια πρόσφατη ανάλυση από μελέτες με ομάδες ελέγχου βρέθηκε ότι η θεραπευτική αγωγή που χρησιμοποιούσε στελέχη λακτοβακίλλων πρόσφερε ασφαλή και αποτελεσματικό τρόπο αντιμετώπισης οξείων μολυσματικών διαρροιών, που προκλήθηκαν από ποικίλα παθογόνα μικρόβια. Τα αποτελέσματα μελέτης με βρέφη, που τους χορηγήθηκε συμπλήρωμα με *B. Bifidus* και *S. thermophilus*, έδειξαν ότι υπάρχει θεραπευτική επίδραση των γαλακτικών βακτηρίων στην αντιμετώπιση ήπιων διαρροιών. [19]

Άλλη έρευνα έδειξε την ικανότητα αρκετών προβιοτικών οξυγαλακτικών βακτηρίων στην πρόληψη διαρροιών προκαλούμενες από αντιβιοτικά. [13] Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα οξυγαλακτικά βακτήρια δρουν αποτελεσματικά ενάντια σε κάποιες μορφές διαρροϊκών ασθενειών δεν έχουν γίνει προς το παρόν γνωστοί.

Έχει προταθεί ότι η θεραπευτική δράση οφείλεται στην ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων να αποκαθιστούν την ισορροπία στην εντερική χλωρίδα, προσκόλληση και να αυξάνουν το εντερικό φορτίο ανταγωνιζόμενα τα παθογόνα βακτήρια στα εντεροκύτταρα ή αυξάνοντας την επιθηλιακή IgA ως απάντηση στα αντιγόνα των παθογόνων βακτηρίων.

1.12.5 Καρκίνος του παχέος εντέρου

Τα γιαούρτια που περιέχουν οξυγαλακτικά βακτήρια μπορούν να αναστείλουν την ανάπτυξη μεταστατικών ή χημικά προκαλούμενων όγκων, όπως φάνηκε σε μελέτες σε ζώα. Ωστόσο τα αποτελέσματα επιδημιολογικών ερευνών μεταξύ της κατανάλωσης ζυμωμένων προϊόντων γάλατος και της εμφάνισης καρκίνου στον άνθρωπο είναι αντιφατικά, γιατί αν και η υψηλή κατανάλωση ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων μπορεί να προστατεύσει στον καρκίνο του μαστού, φαίνεται ότι σχετίζεται με υψηλότερη εμφάνιση καρκίνου των ωοθηκών. [20] Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι η δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου από καρκίνο. Στους παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνονται γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες.

Έρευνες αναφέρουν ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαιτητικών παραγόντων, του επιθήλιου του παχέος εντέρου και της εντερικής χλωρίδας έχουν κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου. Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της εμφάνισης κάποιων μορφών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του παχέος εντέρου, και της πρόσληψης ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. [19] Τα ζυμωμένα προϊόντα γάλατος και τα βακτήρια που χρησιμοποιούνται για τη γαλακτική ζύμωση φαίνεται να έχουν επίδραση στον καρκίνο του παχέος εντέρου και σε άλλες μορφές όγκων σε μελέτες ζώων, ωστόσο, όπως φάνηκε, δεν έχουν όλα τα στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων την ικανότητα να εμποδίζουν την καρκινογένεση. [1]

Η αυξημένη δραστικότητα κάποιων βακτηριακών ενζύμων που ανιχνεύονται στα κόπρανα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου, και η δραστικότητα των ενζύμων αυτών επηρεάζεται από τη διατροφή ή και από την χρήση αντιβιοτικών.

Τα *L. Acidophilus* και *L. gasseri* φαίνεται να μειώνουν τη δραστικότητα αυτών των ενζύμων, και συγκεκριμένα της νιτρορεδοουκτάσης, της αζωρεδοουκτάσης και της β-γλυκορονιδάσης, στους ανθρώπους.

Σε έρευνα που έγινε σε βρέφη από τους Guerin-Danan (1998) βρέθηκε ότι τα βρέφη που κατανάλωναν γαλακτοκομικό προϊόν ζυμωμένο με *L. bulgaricus*, *S. Thermophilus* και *L. casei* εμφάνισαν χαμηλότερη δραστικότητα της β-γλυκορονιδάσης από τα βρέφη της ομάδας ελέγχου, που κατανάλωναν ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν χωρίς *L. casei*.

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα οξυγαλακτικά βακτήρια δρουν στον καρκίνο του παχέος εντέρου είναι προς το παρόν άγνωστος. Μερικοί πιθανοί μηχανισμοί που έχουν προταθεί αφορούν την καταστολή των επικίνδυνων εντερικών βακτηρίων, την απομόνωση των πιθανών μεταλλαξιογόνων, την σύνθεση αντιμεταλλαξιογόνων παραγόντων, τη μείωση του pH στο κόλον και την ενίσχυση της εντερικής ανοσολογικής απάντησης.

1.12.6 Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου, IBD

Στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου περιλαμβάνονται η νόσος του Crohn και η ελκώδης κολίτιδα, οι οποίες έχουν παρόμοια συμπτωματολογία αλλά επηρεάζουν το γαστρεντερικό σύστημα με διαφορετικό τρόπο. Η ελκώδης κολίτιδα προκαλεί φλεγμονή στο κόλον και το ορθό, ενώ η νόσος του Crohn προκαλεί φλεγμονή στην ανώτερη εντερική πεπτική οδό και μπορεί να οδηγήσει σε δυσαπορρόφηση των μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών.

Η αιτιολογία αυτών των ασθενειών είναι άγνωστη, αλλά μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι η εντερική χλωρίδα παίζει ένα σημαντικό παθογενετικό ρόλο. ^[1] Προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες και συγκεκριμένα η TNF-α, έχουν αναγνωριστεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της νόσου του Crohn, και πιστεύεται ότι η μείωση της παραγωγής ή της δραστηριότητας των TNF-α μπορεί να ωφελήσει ασθενείς με νόσο Crohn. Έρευνες έδειξαν ότι με την παρουσία *L. casei* και *L. bulgaricus* στην εντερική χλωρίδα η παραγωγή και απελευθέρωση TNF-α μειωνόταν. Ακόμα βρέθηκε πως όταν οι συγκεντρώσεις των λακτοβάκιλλων στον γαστρεντερικό σωλήνα επαναφερόταν σε φυσιολογικά επίπεδα, τα συμπτώματα της ελκώδους κολίτιδας μετριάζονταν.

Έχει αναφερθεί ότι οι ασθενείς με IBD έχουν μικρή τη βλεννογονική προστασία ως αποτέλεσμα των αλλαγών στη σύνθεση, το πάχος, τις γλυκό-πρωτεΐνες και του βλεννογόνου. ^[20] Αυτές οι αλλαγές στον εντερικό βλεννογόνο συνδέονται επίσης με τη μειωμένη εντερική δραστηριότητα IgA και την αυξανόμενη δραστηριότητα IgG, η οποία συμπίπτει με τη μειωμένη ικανότητα προστασίας και την εμφάνιση μιας προ-φλεγμονώδους κατάστασης.

Με τον αποδυναμωμένο βλεννογόνο ανίκανο να εμποδίσει την αυξανόμενη προσκόλληση των βακτηριακών παθογόνων πάνω του, η φλεγμονή παραμένει, και οδηγεί στην περαιτέρω ζημία στον εντερικό βλεννογόνο.

Αν και τα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει μια θετική επίδραση των οξυγαλακτικών βακτηρίων σε ασθενείς με νόσο του Crohn και ελκώδη κολίτιδα, ο ακριβής μηχανισμός δράσης δεν έχει πλήρως κατανοηθεί.

1.12.7 Helicobacter pylori

Η μόλυνση με *H. pylori* παίζει ρόλο στην εμφάνιση πεπτικού έλκους, χρόνιας γαστρίτιδας, γαστρικού αδενοκαρκινώματος και καρκίνου του δωδεκαδακτύλου. Αρκετές μελέτες σε ζώα έδειξαν μείωση στη διαθεσιμότητα του *H. pylori* και στη προσκόλληση των βακτηρίων στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα ύστερα από θεραπεία με διάφορα στελέχη λακτοβακίλλων. [20]

Επίσης βρέθηκε ότι 6 στελέχη του *L. acidophilus* και *L. casei* είχαν την ικανότητα να αναστείλουν την ανάπτυξη του *H. pylori*, ενώ τα *B. bifidus* και *L. bulgaricus* δεν παρουσίασαν αντίστοιχα αποτελέσματα. Η ανασταλτική δράση σχετίζεται με τις συγκεντρώσεις του γαλακτικού οξέος που παράγεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια.

Αν και υπάρχουν υποσχόμενα αποτελέσματα σχετικά με την αντιμετώπιση της μόλυνσης με *H. pylori* στους ανθρώπους, η δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων παραμένει αμφίβολη. Για παράδειγμα, αν και τα *L. acidophilus* και *L. gasseri* έδειξαν να μειώνουν τα επίπεδα μόλυνσης με *H. pylori* και της φλεγμονής του εντερικού επιθήλιου, οι γαστρικές βιοψίες δεν έδειξαν πλήρη απομάκρυνση του *H. pylori*.

1.12.8 Αλλεργικές αντιδράσεις

Η δράση του γιαουρτιού και των οξυγαλακτικών βακτηρίων στις αλλεργικές αντιδράσεις βρίσκεται υπό έρευνα. Έχει αναφερθεί ότι η καθυστερημένη ανάπτυξη των bifidobacterium και των λακτοβακίλλων στην εντερική χλωρίδα είναι ένα κοινό εύρημα σε παιδιά που παρουσιάζουν αλλεργικές αντιδράσεις. [1]

Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος έχει προταθεί ότι μειώνει την ικανότητα των πρωτεϊνών του γάλακτος να προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις, μετατρέποντάς το σε κατάλληλη πηγή πρωτεΐνης για άτομα ευαίσθητα στην πρωτεΐνη αγελάδος του γάλακτος. Ωστόσο βρέθηκε ότι στα άτομα που παρουσιάζουν αλλεργία στο αγελαδινό γάλα, η παρουσία ζωντανών γαλακτικών βακτηρίων μπορεί να προσφέρει περισσότερα οφέλη από τα θερμικώς επεξεργασμένα γάλατα. Επιπλέον, η ανοσοποιητική απάντηση στις εγγενείς πρωτεΐνες γάλακτος μπορεί να διαφέρει από αυτήν που προκαλείται από τις αλλοιωμένες με τη θερμότητα πρωτεΐνες γάλακτος. [4]

Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα γαλακτικά βακτήρια ασκούν προστατευτική δράση εναντίον των αλλεργιών παραμένουν άγνωστοι. Αποδεδειγμένες και υποθετικές επιδράσεις από τα ζυμωμένα γάλατα:

Αποδεδειγμένες επιδράσεις:

- Ανακούφιση δυσανεξίας στη λακτόζη
- Ανακούφιση δυσκοιλιότητας
- Ενίσχυση της φυσικής ανοσίας
- Μείωση των μεταλλάξεων των εντερικών βακτηρίων
- Μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας των εντερικών βακτηρίων
- Εξισορρόπηση της εντερικής χλωρίδας
- Θεραπευτική αγωγή της οξείας παιδικής διάρροιας και της διάρροιας ιώσεων

Θεωρητικές επιδράσεις:

- Βελτίωση γενικής κώνευσης των θρεπτικών ουσιών
- Βραδύτερος ρυθμός εκκένωσης της εντέρου
- Πρόληψη και ανακούφιση δυσκοιλιότητας
- Βελτιωμένη βιοδιαθεσιμότητα των ανόργανων στοιχείων
- Αυξημένη σύνθεση φολικού οξέος και βιταμινών Β
- Βελτιωμένη κώνευση λακτόζης
- Βελτιωμένη άμυνα ανοσοποιητικού συστήματος
- Αναχαίτιση αθηροσκλήρωσης

- Αντικαρκινικές ιδιότητες
- Πρόληψη διάρροιας παιδικής και ενηλίκων
- Διατήρηση ισορροπίας της εντερικής χλωρίδας
- Αποκατάσταση της εντερικής χλωρίδας [7]

Κεφάλαιο Δεύτερο: Προβιοτικά

2.1 Ορισμός και Ιστορική Αναδρομή της Χρήσης των Προβιοτικών

Ο όρος "προβιοτικά" προτάθηκε για πρώτη φορά το 1953 από τον Kollath ως αντίθετο του όρου "αντιβιοτικά". Το 1965, οι Lilley και Stillwell όρισαν τα προβιοτικά ως «μικροβιακές ουσίες που προωθούν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών». Μερικά χρόνια αργότερα, ο όρος "προβιοτικά" χρησιμοποιήθηκε στο πλαίσιο των ζωοτροφών ως «ζωντανά μικροβιακά συστατικά των τροφίμων που επιδρούν θετικά στο ζώο ξενιστή, βελτιώνοντας την εντερική του μικροβιακή ισορροπία». Ένας πιο σύγχρονος ορισμός που προτάθηκε το 1998 ορίζει τα προβιοτικά στην ανθρώπινη διατροφή ως «ζωντανά μικροβιακά συστατικά των τροφίμων που είναι ευεργετικά για την υγεία».

Πέντε χρόνια μετά, κυκλοφόρησε υπό την ονομασία "Yakult" ένα από τα πρώτα ροφήματα γάλακτος που ενίσχυαν την εντερική υγεία, το οποίο περιείχε το στέλεχος που αυτός είχε αναπτύξει. Τα προβιοτικά στην Ασία ήταν ήδη πολύ δημοφιλή για πολλά χρόνια, όταν τα πρώτα προβιοτικά γαλακτοκομικά προϊόντα κυκλοφόρησαν στην Ευρωπαϊκή αγορά κατά τη δεκαετία του 1980. [64] Σήμερα, τα προβιοτικά τρόφιμα καταναλώνονται από εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως. Που βρίσκουμε τα προβιοτικά: Σε αυτό το σημείο θέλω να τονίσω ότι τα προβιοτικά στελέχη δεν υπάρχουν υποχρεωτικά σε ζυμωμένα τρόφιμα, γιατί δεν αποτελούν μέλη της ζυμωτικής μικροχλωρίδας. Τα προβιοτικά στελέχη κατά κανόνα απομονώνονται από υγιείς ανθρώπους και ως «καθαρά» στελέχη προστίθενται σε διάφορα προϊόντα ή συμπληρώματα διατροφής.

Οι ζυμωτικοί μικροοργανισμοί μπορεί να προσδίδουν ευεργετικές ιδιότητες με την κατανάλωση ενός τροφίμου, αλλά δεν σημαίνει ότι έχουν και προβιοτικές ιδιότητες (π.χ. κεφίρ, «ζωντανό γιαούρτι» κτλ.).

2.2 Ταυτοποίηση Προβιοτικών

Πολλά από τα χαρακτηριστικά και τα οφέλη των προβιοτικών μικροοργανισμών είναι μοναδικά για το κάθε στέλεχος (στελεχοειδικά) και έτσι η ταυτοποίησή τους σε επίπεδο στελέχους είναι απαραίτητη.

Για την αξιόπιστη ταυτοποίηση των προβιοτικών στελεχών είναι απαραίτητος ο συνδυασμός φαινοτυπικών και γενοτυπικών μεθόδων. Οι κυριότερες μοριακές μέθοδοι που εφαρμόζονται (DNA-DNA υβριδισμός, ανάλυση γονιδίων ριβοσωμικού RNA, ανάλυση πολυμορφισμών μετά από πέψη με ένζυμα περιορισμού – RFLP ανάλυση, μελέτη των πολυμορφισμών σε τυχαία πολλαπλασιασμένες ακολουθίες –RAPD-PCR, ηλεκτροφόρηση σε πηκτική μεταβαλλόμενου πεδίου - PFGE) αφορούν την ανάλυση και σύγκριση συγκεκριμένων ειδικών ακολουθιών στο γονιδίωμα, ολόκληρων γονιδίων ή και ολόκληρου του γονιδιώματος. [48]

Από την πληθώρα των μοριακών μεθόδων που έχουν αναπτυχθεί και επιτρέπουν την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών σε επίπεδο είδους, η PFGE αποτελεί την πιο αξιόπιστη μέθοδο καθώς επιτρέπει τον χαρακτηρισμό προβιοτικών μικροοργανισμών ακόμα και σε επίπεδο στελέχους με υψηλή διακριτική ικανότητα και επαναληψιμότητα. [29]

2.3 Κριτήρια Επιλογής Προβιοτικών

Τα προβιοτικά γενικά δεν αποικίζουν μόνιμα το γαστρεντερικό σωλήνα αλλά θα πρέπει να διατηρούν τη βιωσιμότητα και τη μεταβολική τους ικανότητα κατά τη διέλευσή τους διαμέσου της γαστρεντερικής οδού. Για να μπορεί να χαρακτηριστεί ένας μικροοργανισμός ως προβιοτικός θα πρέπει να πληρεί συγκεκριμένα κριτήρια, τα οποία παρουσιάζονται παρακάτω.

Κριτήρια επιλογής προβιοτικών στελεχών:

- Να έχει γίνει ταυτοποίησή τους σε επίπεδο είδους (ή ακόμα και στελέχους).
- Να είναι ασφαλή για χρήση σε τρόφιμα και φαρμακευτικά σκευάσματα (έλεγχος αιμολυτικής και τοξικής δράσης, επιδημιολογικές μελέτες).
- Να επιβιώνουν και να διατηρούν τις ιδιότητές τους στο γαστρεντερικό σωλήνα (ανθεκτικότητα στο γαστρικό οξύ - χαμηλό pH και στα χολικά άλατα).
- Να έχουν ικανότητα προσκόλλησης ή και πολλαπλασιασμού σε επιφάνειες βλεννογόνου και ιδιαίτερα στον εντερικό βλεννογόνο.
- Να παρεμποδίζουν ή να μειώνουν την προσκόλληση παθογόνων μικροβίων στον εντερικό βλεννογόνο (ανταγωνιστική ή αντιμικροβιακή δράση).
- Να παρουσιάζουν ανοσοτροποποιητική δράση.
- Να είναι ανθεκτικά σε σπερμοκτόνες ουσίες (εφόσον προορίζονται για κολπική λήψη).
- Να παρουσιάζουν καλές τεχνολογικές ιδιότητες εφόσον χρησιμοποιηθούν σε λειτουργικά τρόφιμα (σταθερότητα, να έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής, να πολλαπλασιάζονται σε μεγάλη κλίμακα, να μην έχουν επίδραση στη γεύση του προϊόντος).
- Να έχει ευεργετικά αποτελέσματα τεκμηριωμένα από κλινικές έρευνες [9,30]

2.4 Παραδείγματα Προβιοτικών Μικροοργανισμών

Το μεγαλύτερο ιστορικό από αποδεδειγμένα οφέλη για την υγεία και ασφαλούς χρήσης προβιοτικών βακτηρίων στα τρόφιμα έχει καταγραφεί, πιθανότατα, για το στέλεχος "Shirota" του *Lactobacillus casei*, καθώς και για ορισμένα στελέχη της ομάδας του *Lactobacillus acidophilus*.

Εδώ και τουλάχιστον 40 χρόνια στην Ιαπωνία και περισσότερα από 30 χρόνια στη Δυτική Ευρώπη, χρησιμοποιούνται αποικίες βακτηρίων γαλακτικού οξέος ανθρώπινης προέλευσης για την παρασκευή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Βιώσιμα στελέχη ιδιαίτερα της ομάδας του *Lactobacillus acidophilus* και του *Bifidobacterium bifidum* χρησιμοποιήθηκαν κατά τα τέλη της δεκαετίας του 1960 στα γαλακτοκομικά προϊόντα εξαιτίας της αναμενόμενης προσαρμογής τους στο περιβάλλον του εντέρου, καθώς και των οργανοληπτικών πλεονεκτημάτων τους στην παραγωγή ελαφρώς οξινομένων γιαουρτιών. Στη Γερμανία, αυτά τα προϊόντα έγιναν γνωστά ως ήπια γιαούρτια ή "βιο-γιαούρτια", ενώ στις ΗΠΑ αναπτύχθηκε γάλα με *L. Acidophilus*.

Οι λειτουργικές ιδιότητες και η ασφάλεια συγκεκριμένων στελεχών των *L. casei/paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* και *L. johnsonii* έχουν μελετηθεί εκτενώς και είναι καταγεγραμμένες στη βιβλιογραφία. Στις μέρες μας, βιώσιμα προβιοτικά στελέχη με ευεργετικές λειτουργικές ιδιότητες μπορούν να βρεθούν σε ένα ευρύ και ποικίλο φάσμα από μικροβιακά είδη και γένη. Κυκλοφορούν στην αγορά είτε ως ζυμωμένα τρόφιμα (κυρίως με τη μορφή γιαουρτιού), είτε σε λυοφιλιωμένη μορφή, τόσο ως διατροφικά συμπληρώματα όσο και ως φαρμακευτικά σκευάσματα.

Τα περισσότερα από τα στελέχη που χρησιμοποιούνται σήμερα ως προβιοτικά στα τρόφιμα, στη διατροφή και στα φαρμακευτικά σκευάσματα ανήκουν στην οικογένεια των βακτηρίων του γαλακτικού οξέος. Ωστόσο, χρησιμοποιούνται και ορισμένα μη γαλακτικά στελέχη, όπως π.χ. *Bacillus cereus* ("toyoi"), *B. clausii*, *B. pumilis*, *Escherichia coli* (Nissle), *Propionibacterium freudenreichii*, *P. jensenii*, *P. acidopropionici*, *P. thoenii* και *Saccharomyces cerevisiae* ("boulardii"), κυρίως σε φαρμακευτικά σκευάσματα ή/και σε ζωοτροφές. ^[40]

Πίνακας 2.1
Πίνακας των ειδών βακτηρίων στο γάλα

| Είδη Lactobacillus | Είδη Bifidobacterium | Άλλα βακτήρια γαλακτικού οξέος | Μη γαλακτικά στελέχη^γ |
|--|---------------------------------------|---|---|
| <i>L. acidophilus</i> | <i>B. adolescentis</i> | <i>Ent. faecalis</i> | <i>Bacillus cereus</i> ("toyoi") ^{α,γ} |
| <i>L. amylovorus</i> | <i>B. animalis</i> | <i>Ent. faecium</i> | <i>Escherichia coli</i> (Nissle 1917) ^γ |
| (<i>L. casei</i>) | <i>B. bifidum</i> | <i>Sporolactobacillus inulinosa</i> | <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ^γ |
| <i>L. crispatus</i> | <i>B. breve</i> | | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ("boulardii") ^γ |
| <i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> ^γ | | <i>B. infantis</i> | |
| <i>L. gallinarum</i> | | <i>B. lactis</i> ^β | |
| <i>L. gasseri</i> | | <i>B. longum</i> | |
| <i>L. johnsonii</i> | | | |
| <i>L. paracasei</i> | | | |
| <i>L. plantarum</i> | | | |
| <i>L. reuteri</i> | | | |
| <i>L. rhamnosus</i> | | | |

α: Κυρίως για ζώα. β: Συνώνυμο του *B. animalis*.
γ: Κυρίως σε φαρμακευτικά σκευάσματα.

2.5 Λειτουργικές Ιδιότητες των Προβιοτικών

Παρά τη μεγάλη πρόοδο της έρευνας τα τελευταία χρόνια, οι γνώσεις των επιστημόνων για το οικοσύστημα του εντέρου είναι ακόμα αποσπασματικές και έτσι δυσκολεύεται η κατανόηση ενός φυσιολογικού ή ισορροπημένου μικροβιακού πληθυσμού. Επομένως, η επίδραση ενός λειτουργικού στελέχους στη σύσταση και τη λειτουργία του εντερικού πληθυσμού είναι ακόμη δύσκολο να εξακριβωθεί.

Ωστόσο, έχουν καταγραφεί πολλές ευεργετικές λειτουργίες των προβιοτικών βακτηρίων, όπως π.χ.:

❖ Θρεπτικά οφέλη:

- παραγωγή βιταμινών, διαθεσιμότητα μετάλλων και ιχνοστοιχείων
- παραγωγή σημαντικών πεπτικών ενζύμων (π.χ. β-γαλακτοζιδάση)
- παραγωγή β-γαλακτοζιδάσης για ανακούφιση της δυσανεξίας στη λακτόζη

❖ Δράσεις φραγμού, αποκατάστασης και ανταγωνιστικές δράσεις ενάντια:

- στη λοιμώδη διάρροια (διάρροια των ταξιδιωτών, οξεία ιογενής διάρροια των παιδιών)
- στη διάρροια που συνδέεται με τα αντιβιοτικά ή την ακτινοβολία

❖ Επιδράσεις για μείωση της χοληστερόλης μέσω:

- αφομοίωσης της χοληστερόλης
- τροποποίησης της δράσης των χολικών αλάτων της υδρολάσης
- αντιοξειδωτικής δράσης

❖ Διέγερση και βελτίωση του ανοσοποιητικού συστήματος, π.χ. μέσω:

- ενίσχυσης των μη ειδικών μηχανισμών άμυνας ενάντια στις μολύνσεις
- αύξησης της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας των λευκών αιμοσφαιρίων
- αύξησης της παραγωγής IgA
- ρύθμισης της ισορροπίας Th1/Th2, επαγωγής της σύνθεσης της κυτοκίνης

❖ Ενίσχυση της κινητικότητας του εντέρου, ανακούφιση από τη δυσκοιλιότητα

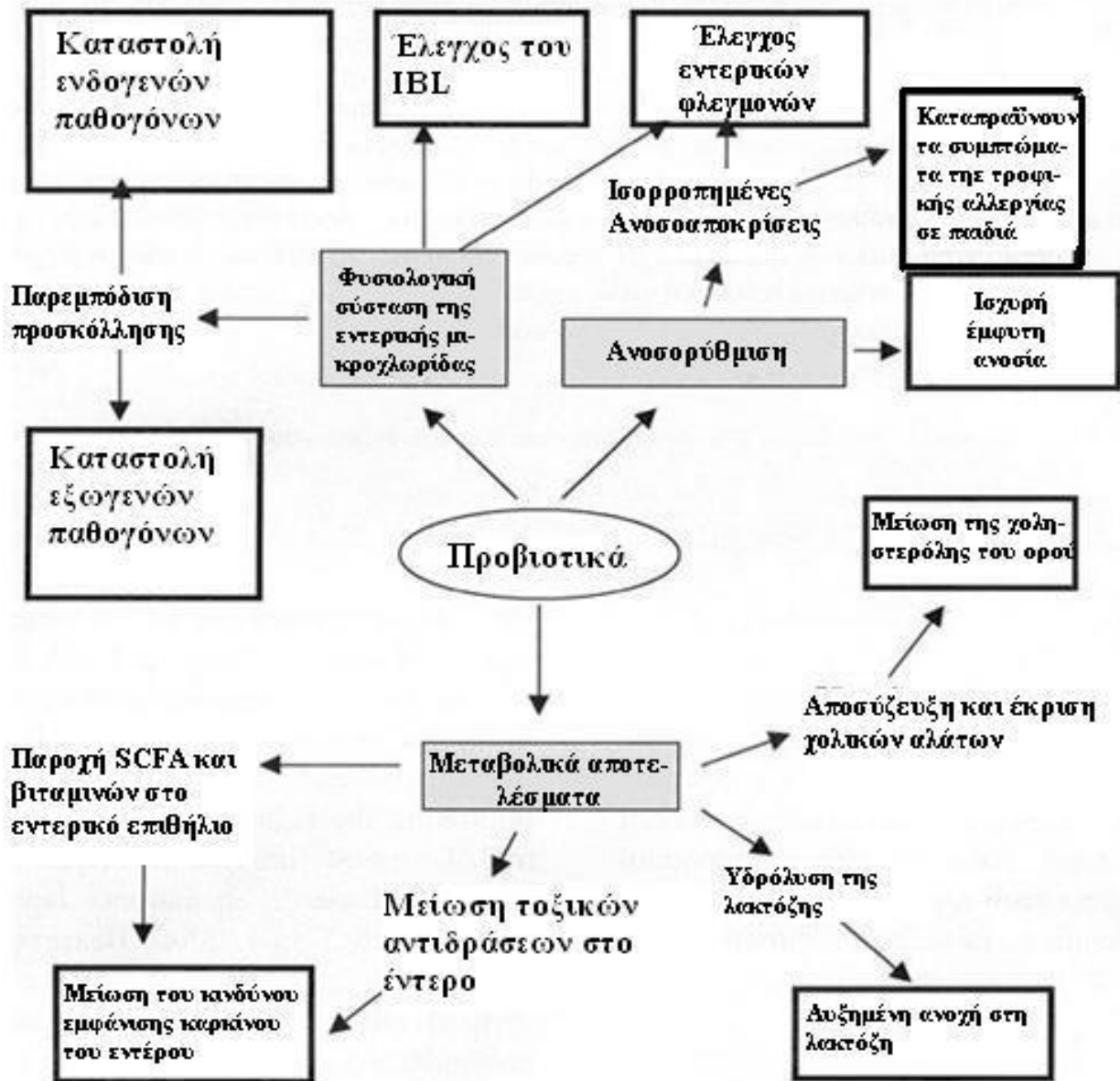
❖ Μείωση των φλεγμονωδών ή των αλλεργικών αντιδράσεων, μέσω:

- αποκατάστασης της ομοιόστασης του ανοσοποιητικού συστήματος
- ρύθμισης της σύνθεσης της κυτοκίνης
- ❖ Δράση εναντίον του καρκίνου του εντέρου μέσω:
 - δέσμευσης των μεταλλαξιογόνων
 - αδρανοποίησης των καρκινογόνων ή προκαρκινογόνων, ή παρεμπόδιση του σχηματισμού τους
 - διαφοροποίησης των μεταβολικών δραστηριοτήτων των μικροοργανισμών του εντέρου
 - ανοσολογικής απόκρισης
- ❖ Διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογόνου
- ❖ Αντιοξειδωτικές δράσεις [40,64]

Κάποιες δράσεις, όπως η μείωση του επιπέδου της χοληστερόλης στο αίμα, δεν έχουν ακόμα αποδειχθεί πλήρως από κλινικές δοκιμές. Από την άλλη, οι επιδράσεις συγκεκριμένων στελεχών προβιοτικών γαλακτικών πληθυσμών στο ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα και στη διάρροια είναι καλά τεκμηριωμένες. Η θεραπευτική χρήση των προβιοτικών θεωρείται, επίσης, επιτυχημένη στις περιπτώσεις της δυσανεξίας στη λακτόζη, του συνδρόμου του ευερέθιστου εντέρου, του καρκίνου του εντέρου και της μόλυνσης από *Helicobacter pylori*. [40]

Η κατανόηση των σύνθετων υποκείμενων μηχανισμών, όπως οι ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες των αποτελεσματικών στελεχών, αποτελεί μείζονα πρόκληση που πρέπει να λυθεί μέσα από την εντατική έρευνα.

Σχήμα 2.1
 Διαγραμματική αναπαράσταση των μηχανισμών των προβιοτικών



2.6 Μηχανισμοί Δράσης των Προβιοτικών

Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα προβιοτικά επηρεάζουν την υγεία του ανθρώπου περιλαμβάνουν την ενίσχυση του εντερικού φραγμού, την τροποποίηση των ανοσοβιολογικών αποκρίσεων και την αντιμικροβιακή δράση ενάντια σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Τα τελευταία χρόνια έχουν αρχίσει να αποκαλύπτονται οι μοριακοί μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών με την ανακάλυψη συγκεκριμένων γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την αντοχή στο χαμηλό pH, στα χολικά άλατα, την προσκόλληση στο βλεννογόνο και την ικανότητα τροποποίησης των ανοσοαποκρίσεων. [46]

Μεταβολικοί ή εκκρινόμενοι παράγοντες όπως επίσης και δομικά ή άλλα κυτταρικά συστατικά διαμεσολαβούν στις ειδικές (ευεργετικές) δράσεις των προβιοτικών.

Τα ευεργετικά αποτελέσματα των προβιοτικών παρατηρούνται κυρίως μετά από χορήγηση των προβιοτικών απευθείας στις βλεννογόνες επιφάνειες αν και πρόσφατα αναφέρθηκαν παρόμοια αποτελέσματα μετά από συστηματική χορήγηση προβιοτικών στελεχών. [31,68]

2.6.1 Ενίσχυση του εντερικού φραγμού

Οι ευεργετικές επιδράσεις των προβιοτικών στον εντερικό φραγμό γίνεται μέσω της αναγνώρισής τους από τους TLRs των επιθηλιακών κυττάρων. Διάφοροι προβιοτικοί μικροοργανισμοί αλλά και πρωτεΐνες από τις καλλιέργειες ανάπτυξής τους έχει βρεθεί ότι συμμετέχουν στην πρόληψη και επιδιόρθωση βλαβών στον εντερικό βλεννογόνο. Οι βλάβες αυτές προκαλούνται από αντιγόνα στην τροφή ή και φαρμακευτικές ουσίες και είναι δυνατόν να επάγουν την παραγωγή βλεννινών.

Επιπλέον, αναστέλλουν τις βλάβες στις στενές συνδέσεις μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων και προάγουν την επιδιόρθωση του εντερικού βλεννογόνου ενισχύοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την κυτταρική επιβίωση. Επίσης, αποτρέπουν τη μετακίνηση παθογόνων μικροοργανισμών διαμέσου του επιθηλίου. [3,49]

2.6.2 Αντιμικροβιακή δράση

Η ανταγωνιστική δράση των προβιοτικών περιλαμβάνει τη μείωση του pH στον εντερικό σωλήνα, την έκκριση αντιμικροβιακών παραγόντων και την αναστολή της προσκόλλησης στον εντερικό βλεννογόνο. Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες περιλαμβάνουν τις βακτηριοσίνες (bacteriocins), το γαλακτικό οξύ και τοξικούς οξυγονούχους μεταβολίτες. [42] Επίσης, επάγουν την παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών από τα επιθηλιακά κύτταρα, όπως κρυπτιδίνες (cryptidins) από τα κύτταρα Paneth και βλεννίνες (mucins) από τα κύτταρα Goblet. Διάφορα προβιοτικά στελέχη είναι ικανά να αποτρέπουν την προσκόλληση και μετακίνηση των παθογόνων μικροοργανισμών στο εντερικό επιθήλιο ανταγωνιζόμενα για τις ίδιες θέσεις σύνδεσης ή/και για θρεπτικά συστατικά (ανταγωνιστικός αποκλεισμός).

Έχει παρατηρηθεί ακόμα η παραγωγή διαλυτών παραγόντων από προβιοτικούς μικροοργανισμούς που συνδέονται στους υποδοχείς των παθογόνων στα επιθηλιακά κύτταρα αποτρέποντας τη σύνδεσή τους. [3,49] Εκτός όμως από την ανταγωνιστική δράση και την αναστολή της προσκόλλησης, έχει αναφερθεί και η ικανότητα (αν και σε μικρότερο βαθμό) προβιοτικών στελεχών του γένους *Lactobacillus* να εκτοπίζουν *in vitro* παθογόνους μικροοργανισμούς που βρίσκονται προσκολλημένοι σε εντεροκύτταρα. [45]

Τέλος, στην αντιμικροβιακή προβιοτική δράση είναι πιθανόν να συμμετέχουν και ανοσοβιολογικοί μηχανισμοί, όπως παραγωγή προ-φλεγμονωδών (IL-6) και ρυθμιστικών κυτοκινών (TGF-β) που διατηρούν την άμυνα του οργανισμού σε κατάσταση ετοιμότητας για να αντιμετωπίσει άμεσα και αποτελεσματικά την εισβολή κάποιου ξένου παράγοντα. [3,34,49]

2.6.3 Ανοσοτροποποιητική δράση

Έχει βρεθεί ότι τα προβιοτικά συμμετέχουν στην ενίσχυση και τροποποίηση των μηχανισμών της έμφυτης και επίκτητης ανοσίας και στη ρύθμιση των Th1, Th2 και Treg ανοσοβιολογικών αποκρίσεων τόσο τοπικά στους βλεννογόνους του γαστρεντερικού, αναπνευστικού και ουρογεννητικού συστήματος όσο και συστηματικά. [10,11,48,55,67]

Τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου βρίσκονται σε άμεση επαφή με τους μικροοργανισμούς στον εντερικό σωλήνα και αποτελούν την επιφάνεια διαχωρισμού με το ανοσοβιολογικό σύστημα. Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί μπορούν να συνδέονται σε ειδικούς υποδοχείς (PRRs) στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων, κυριότεροι από τους οποίους είναι οι TLRs, και να προκαλούν την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (IL-6) και χημειοκινών (IL-8) καθώς και την παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB που συμμετέχει στα σηματοδοτικά μονοπάτια πολλών προ-φλεγμονωδών κυτοκινών. [49]

Τα διάφορα προβιοτικά στελέχη επηρεάζουν επίσης κύτταρα με γενικότερες ανοσοβιολογικές λειτουργίες όπως τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα NK κύτταρα. [3,20,33,37,58]

Έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγησή τους προκαλεί την αύξηση των επιπέδων του διεγερτικού παράγοντα αποικιών μακροφάγων (M-CSF), ο οποίος διεγείρει την παραγωγή ή/και τη χημειόταξη των μακροφάγων.

Ακόμα, διεγείρουν τα μακροφάγα να εκφράζουν αυξημένα επίπεδα μονοξειδίου του αζώτου (NO), λυτικών ενζύμων και προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (ιντερφερόνες, TNF- α , IL-1 και IL-6) ενισχύοντας την φαγοκυτταρική και μικροβιοκτόνο δράση τους. Η χορήγηση συγκεκριμένων προβιοτικών στελεχών έχει βρεθεί ότι προκαλεί αύξηση της κυτταροτοξικής δράσης των NK κυττάρων. ^[3,33] Τα προβιοτικά μπορούν να ρυθμίζουν και τη λειτουργία των δενδριτικών κυττάρων είτε έμμεσα μέσω κυτοκινών από τα επιθηλιακά κύτταρα είτε άμεσα με τη μεσολάβηση των υποδοχέων Toll-like (TLR2, TLR4 και TLR9).

Συγκεκριμένα προβιοτικά στελέχη βρέθηκε ότι έχουν την ικανότητα να διεγείρουν την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων σε ανοχικά δενδριτικά κύτταρα που προάγουν την διαφοροποίηση των Treg κυττάρων. ^[32] Τα προβιοτικά διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της Th1, Th2, ή Treg ανοσοβιολογικής απόκρισης, καθώς διεγείρουν την παραγωγή από τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα κυτοκινών όπως TNF- α , IL-6, IFN- γ , IL-12, IL-10 και TGF- β αλλά και IgA αντισωμάτων από τα B-λεμφοκύτταρα. Ακόμα, μπορούν να εμποδίζουν την παραγωγή αλλεργιογόνων IgE αντισωμάτων και να ενεργοποιούν αποπτωτικούς μηχανισμούς. ^[33]

Γενικότερα, η χορήγηση προβιοτικών μικροοργανισμών ενισχύει την άμυνα του γαστρεντερικού βλεννογόνου και ενεργοποιεί ρυθμιστικούς μηχανισμούς που μειώνουν την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών και μετριαζουν τις βλαβερές συνέπειες της φλεγμονής.

2.6.4 Επιδράσεις στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου

Τα προβιοτικά αλληλεπιδρούν με τους TLRs των επιθηλιακών κυττάρων και προκαλούν την έκκριση προστατευτικών κυτοκινών που προάγουν την αναγέννηση των επιθηλιακών κυττάρων και παρεμποδίζουν την απόπτωσή τους. Σε επίπεδο σηματοδότησης, τα προβιοτικά ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση με την παρεμπόδιση της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF- κ B, που συμμετέχει στα σηματοδοτικά μονοπάτια πολλών προ-φλεγμονωδών κυτοκινών.

2.6.5 Επιδράσεις στα δενδριτικά κύτταρα

Στο έντερο, τα δενδριτικά κύτταρα επιτελούν ειδικές λειτουργίες, καθώς συμβάλλουν στην ανοσοανοχή με την επαγωγή ρυθμιστικών T-κυττάρων και B-λεμφοκυττάρων που παράγουν IgA. Προβιοτικά στελέχη έχουν την ικανότητα να αυξάνουν την παραγωγή της IL-10 (αντιφλεγμονώδης κυτοκίνη) από τα δενδριτικά κύτταρα. Επιπλέον, τα προβιοτικά διεγείρουν τα δενδριτικά κύτταρα για την επαγωγή Treg κυττάρων, τα οποία εκκρίνουν υψηλά επίπεδα IL-10. Ωστόσο, εκτός από τα αντιφλεγμονώδη στελέχη, υπάρχουν και προβιοτικά που παρουσιάζουν προφλεγμονώδη δράση. Αυτά προάγουν την ενεργοποίηση και ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων και την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών. Επομένως, με την επίδρασή τους στο πρότυπο των κυτοκινών, τα προβιοτικά μπορούν να ρυθμίσουν την ισορροπία ανάμεσα στις Th1/Th2 αποκρίσεις και την ανοσοανοχή.

2.6.6 Επίδραση σε μονοκύτταρα και μακροφάγα

Τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα δρουν ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα σε T-κύτταρα μνήμης. Έχει βρεθεί ότι προβιοτικά επάγουν τη σύνθεση κυτοκινών από τα μακροφάγα και διεγείρουν τη δράση τους.

2.6.7 Επιδράσεις σε λεμφοκύτταρα

Τα προβιοτικά επιδρούν στα λεμφοκύτταρα είτε άμεσα, είτε έμμεσα μέσω επίδρασης στα δενδριτικά κύτταρα και τα μακροφάγα. Όσον αφορά τα B-λεμφοκύτταρα, προβιοτικά στελέχη προάγουν την παραγωγή αντισωμάτων των τάξεων IgA, IgG και IgM, διεγείροντας τη χυμική απόκριση. Τα προβιοτικά επιδρούν επίσης στα NK κύτταρα, αυξάνοντας τη δρασικότητά τους, καθώς και στα T-λεμφοκύτταρα.

Τα προβιοτικά α) εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση με την έκκριση αντιμικροβιακών παραγόντων, την παρεμπόδιση της προσκόλλησης των παθογόνων στο επιθήλιο και τη μείωση του pH τοπικά, β) ενισχύουν τον εντερικό φραγμό μειώνοντας τη διαπερατότητά του και σταθεροποιώντας τους στενοσυνδέσμους, γ) επιδρούν σε πολλά στοιχεία του εντερικού ανοσοποιητικού συστήματος, όπως (i) επιθηλιακά κύτταρα, ii) δενδριτικά κύτταρα, iii) μακροφάγα και μονοκύτταρα, iv) λεμφοκύτταρα και ρυθμίζουν την ισορροπία μεταξύ των Th1/Th2/Treg αποκρίσεων.

2.7 Κλινικές Εφαρμογές Προβιοτικών

Κάποια από τα στελέχη προβιοτικών έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε νοσολογικές οντότητες. Παρά τις θετικές ενδείξεις όμως, δεν υπάρχουν μελέτες που να συσχετίζουν την κλινική βελτίωση με την τροποποίηση της μικροβιακής χλωρίδας που προκαλείται από τα προβιοτικά. Ενδεικτικά φαίνονται οι κλινικές εφαρμογές πιο σημαντικές τους.

Διαρροϊκά σύνδρομα: Η χορήγηση στελεχών *Lactobacillus* έχει βρεθεί ότι ελαττώνει τη διάρκεια και τη σοβαρότητα των επεισοδίων οξείας διάρροιας από ροταιό . Τα προβιοτικά έχουν επίσης αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα στη θεραπεία της διάρροιας από αντιβιοτικά και στην πρόληψη της διάρροιας των ταξιδιωτών.

Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου (IBD): Στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου περιλαμβάνονται η νόσος του Crohn (CD) και η ελκώδης κολίτιδα (UC). Σύμφωνα με μετανάλυση του 2007 τόσο η αποτελεσματικότητα των προβιοτικών όσο και η ασφάλειά τους στην ελκώδη κολίτιδα δε διαφέρουν σημαντικά από την αγωγή με αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Σε μία συστηματική ανασκόπηση που διενεργήθηκε το 2011, το συμπέρασμα ήταν ότι δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των προβιοτικών για τις συγκεκριμένη πάθηση.

Αναφορικά με τη νόσο του Crohn περιορισμένος αριθμός μελετών έχουν ερευνήσει την επίδραση των προβιοτικών στην κλινική ύφεση, την διατήρησή της και την πρόληψη μετεγχειρητικών υποτροπών . Σε εκτεταμένη κλινική δοκιμή που διενεργήθηκε το 2005 δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην αποτελεσματικότητα των προβιοτικών σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο.

Σύνδρομο Ευερέθιστου Εντέρου (IBS): Πολλές κλινικές μελέτες έχουν διερευνήσει τη χορήγηση προβιοτικών στο σύνδρομο αυτό, αλλά τα στοιχεία δεν είναι ακόμη επαρκή λόγω του μικρού αριθμού ασθενών, της μεταβλητότητας στο σχεδιασμό των μελετών, της ετερογένειας στα προβιοτικά στελέχη, τη δόση και τη διάρκεια της θεραπείας, καθώς και των διαφορετικών χαρακτηριστικών των ασθενών.

Νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEC): Η Αμερικανική Ακαδημία Παιδιατρικής, παρότι αναγνωρίζει ότι υπάρχουν στοιχεία ότι τα προβιοτικά προλαμβάνουν τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα σε νεογνά πολύ χαμηλού βάρους γέννησης, θεωρεί ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες ώστε να αποσαφηνιστεί η αποτελεσματική δοσολογία και τα δραστικά προβιοτικά στελέχη πριν συντάξει κλινικές οδηγίες.

Κοινές λοιμώδεις παθήσεις: Φαίνεται ότι τα προβιοτικά μπορεί έχουν θετική επίδραση τόσο στην πρόληψη όσο και στην ελάττωση της διάρκειας νόσησης από λοιμώξεις του γαστρεντερικού και του αναπνευστικού συστήματος. Πριν όμως εκδοθεί οποιαδήποτε επίσημη οδηγία, πρέπει να ταυτοποιηθεί το είδος των μικροοργανισμών και να καθοριστεί τόσο η απαιτούμενη δοσολογία όσο και η ευαισθησία των διαφόρων πληθυσμιακών ομάδων στη θεραπεία.

2.8 Εφαρμογή των Προβιοτικών Πληθυσμών στα Τρόφιμα

Τα προβιοτικά βακτήρια βρίσκουν εφαρμογή σε πολλά διαφορετικά προϊόντα παγκοσμίως. Εκτός από τα τρόφιμα, οι προβιοτικοί πληθυσμοί χρησιμοποιούνται, επίσης, σε φαρμακευτικά προϊόντα και ζωοτροφές. Όπως έχει αναφερθεί, οι περισσότεροι ορισμοί για τα προβιοτικά αναφέρονται σε ζωντανά βακτήρια τα οποία παρέχουν ένα όφελος στην υγεία του καταναλωτή.

Επομένως, είναι ιδιαίτερα σημαντικό τα προβιοτικά προϊόντα να περιέχουν έναν αποτελεσματικό αριθμό ζωντανών κυττάρων σε όλη τη διάρκεια διατήρησής τους. Ωστόσο, για ορισμένα οφέλη στην υγεία, η επιβίωση των μικροοργανισμών δεν φαίνεται να είναι απαραίτητη.

Για παράδειγμα, σε ορισμένα φαρμακευτικά προϊόντα και τρόφιμα χρησιμοποιούνται μη βιώσιμα βακτήρια. Ακόμα, η επιλεκτική απαρίθμηση των προβιοτικών ειδών σε ένα προϊόν που έχει υποστεί ζύμωση είναι μερικές φορές αδύνατη εξαιτίας της υπόλοιπης χλωρίδας του προϊόντος. Τέλος, η επιλογή του μέσου μπορεί να έχει πολύ σημαντική επίδραση στην επιβίωση των κυττάρων.

2.8.1 Γαλακτοκομικά προϊόντα

Τα προβιοτικά βακτήρια εφαρμόζονται στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα εδώ και πολλά χρόνια. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση είναι μονοκαλλιέργειες προβιοτικών βακτηρίων, αλλά συνήθως χρησιμοποιούνται και πληθυσμοί υποστήριξης για την επιτάχυνση της διαδικασίας της οξίνισης και για την παροχή της επιθυμητής υφής και γεύσης. Πολλά προβιοτικά βακτήρια επιβιώνουν στα γαλακτοκομικά προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση για 4 έως 8 εβδομάδες.

Υπάρχουν πολλές παράμετροι που μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των προβιοτικών, όπως π.χ. η αρχική καλλιέργεια, η θερμοκρασία ζύμωσης, το pH, το περιεχόμενο σε σάκχαρα, η παρουσία οξυγόνου, το υλικό συσκευασίας, τα παρασκευάσματα φρούτων και άλλα συστατικά. Επομένως, η επιβίωση της προβιοτικής καλλιέργειας πρέπει να επαναβεβαιώνεται στη σύνθεση του τελικού προϊόντος.

Τέλος, τα προβιοτικά μπορούν να εφαρμόζονται και σε γαλακτοκομικά προϊόντα που δεν έχουν υποστεί ζύμωση, όπως γλυκά που βασίζονται στο γάλα ή οξινισμένα ροφήματα και παγωτά.

2.8.2 Άλλα τρόφιμα

Η δυνατότητα εφαρμογής των προβιοτικών στα τρόφιμα γενικά εξαρτάται από παράγοντες όπως η ενεργότητα νερού, η θερμοκρασία επεξεργασίας και αποθήκευσης, η διάρκεια διατήρησης, το περιεχόμενο σε οξυγόνο, το pH, η μηχανική καταπόνηση, η περιεκτικότητα σε άλατα και η περιεκτικότητα άλλων βλαβερών ή απαραίτητων συστατικών. Σε πολλά προϊόντα, η υψηλή ενεργότητα νερού είναι μία κρίσιμη παράμετρος που αυξάνει το βαθμό θνησιμότητας των βακτηρίων. Προϊόντα με δυσμενή ενεργότητα νερού είναι, για παράδειγμα, τα δημητριακά, η σοκολάτα, οι μαρμελάδες, το μέλι και οι καραμέλες. Αυτά τα προϊόντα είναι πολύ "ξηρά" για την εφαρμογή ζωντανών βακτηρίων και πολύ "υγρά" για την εφαρμογή λυοφιλιωμένων βακτηρίων.

Λυοφιλιωμένα βακτήρια θα μπορούσαν να εφαρμοστούν σε αυτά τα προϊόντα μόνο αν θα μπορούσαν να προστατευτούν πλήρως από την υγρασία, καθώς ακόμα και μικρές ποσότητες υγρασίας μπορούν να είναι ιδιαίτερα επιβλαβείς για την προβιοτική καλλιέργεια. Εκτός από τα γαλακτοκομικά προϊόντα, και οι χυμοί των φρούτων θεωρούνται κατάλληλοι φορείς προβιοτικών.

Ο περιοριστικός παράγοντας για πολλά προβιοτικά στελέχη είναι το χαμηλό pH των χυμών. Τέλος, παρουσιάζεται αυξανόμενο ενδιαφέρον για την εφαρμογή προβιοτικών στα προϊόντα κρέατος. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος χρησιμοποιούνται στη ζύμωση των προϊόντων κρέατος εδώ και πολλά χρόνια, ενώ πλέον ορισμένα στελέχη χρησιμοποιούνται και ως προστατευτικές καλλιέργειες.

Τα προβιοτικά ενδέχεται να είναι το μέσο για να αλλάξει η αντίληψη για τα προϊόντα κρέατος προς το υγιεινότερο. [40,64]

2.9 Ασφάλεια και Παρενέργειες των Προβιοτικών

Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί όπως τα γαλακτοβακτήρια, bifidobacteria και η ζύμη *S. cerevisiae* χρησιμοποιούνται από αρχαιοτάτων χρόνων σε ζυμώσεις και τρόφιμα και για αυτό θεωρούνται ως ασφαλείς. [49] Παρόλα αυτά, προβιοτικοί μικροοργανισμοί μπορεί να εμφανίζουν δυνητική παθογένεια ενώ έχουν καταγραφεί και παρενέργειες ή ακόμα και θνησιμότητα από τη χορήγηση προβιοτικών ιδιαίτερα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς στους οποίους έχουν τοποθετηθεί καθετήρες. [39,41] Για αυτό το λόγο δεν ενδείκνυται η χορήγηση προβιοτικών μικροοργανισμών σε βρέφη και σε ασθενείς που βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή, που τους έχουν τοποθετηθεί καθετήρες, που τους χορηγούνται ισχυρά αντιβιοτικά ή που παρουσιάζουν παθολογική διαταραχή του εντερικού φραγμού. Επιπλέον, η χορήγηση των προβιοτικών θα πρέπει να γίνεται με προσεκτική επιλογή των στελεχών ανάλογα με την περίπτωση.

Λοιμώξεις: Ο μεγαλύτερος κίνδυνος τη χρήσης προβιοτικών στην κλινική πράξη είναι η σήψη. Πρέπει πάντως να αναφερθεί ότι όλες οι περιπτώσεις βακτηριαιμίας ή μυκηταιμίας από προβιοτικά έχουν συμβεί σε ασθενείς με έκπτωση της ανοσιακής απόκρισης λόγω υποκείμενης παθολογίας.

Ανοσιακές μεταβολές: Η χρήση προβιοτικών από έγκυες γυναίκες μπορεί να διαταράξει τις αναγκαίες ανοσιακές μεταβολές που συμβαίνουν στην κύηση και να θέσει σε κίνδυνο τη βιωσιμότητα του εμβρύου, αν και ο κίνδυνος αυτός είναι μόνο θεωρητικός.

Βιωσιμότητα μικροοργανισμών: Η αναπόφευκτη παρουσία νεκρών μικροβίων στα προβιοτικά προϊόντα, που εξαρτάται από τις συνθήκες συντήρησής τους, έχει συνδεθεί με γαστρεντερικά συμπτώματα όπως διάρροιες, μετεωρισμός κα.

Μη αναγραφόμενοι μικροοργανισμοί-αλλεργιογόνα: Τα προβιοτικά περιέχονται σε τρόφιμα ή συμπληρώματα διατροφής και όχι σε φαρμακευτικά προϊόντα επομένως η εμπορική διάθεσή τους απαιτεί λιγότερο αυστηρούς ελέγχους ποιότητας. Έτσι ενδέχεται η περιεκτικότητα των προβιοτικών που αναγράφεται στις συσκευασίες να διαφέρει από την πραγματική.

Επίσης από μικροβιολογικές αναλύσεις προέκυψε ότι πολλά προϊόντα περιείχαν μικροοργανισμούς που δεν αναγράφονταν στις ετικέτες ενώ έχουν αναφερθεί περιπτώσεις αναφυλαξίας σε μη αναγραφόμενα συστατικά. Απαιτείται προσοχή από τους καταναλωτές και ιδιαίτερα από εκείνους με ιστορικό σοβαρών αλλεργικών εκδηλώσεων (πχ αλλεργία σε πρωτεΐνες γάλακτος ή αβγού).

Για να θεωρηθεί ένα προβιοτικό προϊόν κλινικά αποτελεσματικό θα πρέπει να καθοριστούν με ακρίβεια τα στελέχη που περιέχονται, η βιωσιμότητά τους στο τελικό προϊόν και στο έντερο του ξενιστή, η ακριβής δοσολογία καθώς και η μέθοδος χορήγησης. Επίσης, η κλινική αποτελεσματικότητα ενός προϊόντος δε μπορεί να γενικευτεί στο σύνολο των προβιοτικών.

Το πεδίο εφαρμογής των προβιοτικών είναι ευρύτατο και η χρήση τους στο μέλλον ίσως να υποκαταστήσει κάποιες από τις κλασσικές θεραπευτικές μεθόδους σε ποικίλες παθολογικές καταστάσεις και λειτουργικές διαταραχές που αφορούν μεγάλο μέρος του πληθυσμού.

Μέχρι όμως να προκύψουν αδιάσειστα στοιχεία από ικανό αριθμό σωστά σχεδιασμένων μελετών, οι αρμόδιοι οργανισμοί οφείλουν να αντιμετωπίζουν οποιοδήποτε ισχυρισμό υγείας με σκεπτικισμό και να εκδίδουν οδηγίες με γνώμονα την υγεία του καταναλωτή και την προστασία του από αμφίβολης αποτελεσματικότητας παρεμβάσεις.

Κεφάλαιο Τρίτο: Εγκλεισμός

3.1 Γενικά για τον Εγκλεισμό

Ο εγκλεισμός μπορεί να οριστεί ως η διαδικασία με την οποία είναι δυνατός ο εγκλεισμός υγρών σταγονιδίων, στερεών μορίων και αέριων συστατικών σε ένα φορέα εγκλεισμού, ο οποίος μπορεί να απελευθερώνει το περιεχόμενό του με ελεγχόμενο ρυθμό υπό καθορισμένες συνθήκες. [25,66]

Η εγκλεισμένη ουσία καλείται, επίσης, και πυρήνας, συμπλήρωμα, ενεργή ή εσωτερική φάση, καθώς και φάση ωφέλιμου φορτίου, ενώ ο παράγοντας εγκλεισμού καλείται επένδυση, μεμβράνη, κέλυφος, εξωτερικό κάλυμμα, κάψουλα, υλικό μεταφοράς, εξωτερική φάση ή μήτρα. [51]

Ο πυρήνας της κάψουλας περιέχει την ενεργή ουσία, ενώ το εξωτερικό κάλυμμα προστατεύει την ενεργή ουσία μόνιμα ή παροδικά από την εξωτερική ατμόσφαιρα. Με άλλα λόγια, το εξωτερικό κάλυμμα αποτελεί ένα φυσικό εμπόδιο ανάμεσα στην ενθυλακωμένη ουσία και των άλλων συστατικών του προϊόντος. Το υλικό του πυρήνα μπορεί να αποτελείται από ένα ή περισσότερα συστατικά και το εξωτερικό κάλυμμα μπορεί να έχει ένα ή δύο στρώματα. [36] Η απελευθέρωση του περιεχομένου της κάψουλας με συγκεκριμένο ρυθμό μπορεί να επιτευχθεί με διάτμηση του μορίου, θέρμανση, αλλαγή του pH, διαλυτοποίηση ή ενζυμική δράση. [52]

Περιγραφικά, η διαδικασία του εγκλεισμού περιλαμβάνει:

- τον σχηματισμό του εξωτερικού καλύμματος γύρω από το πυρηνικό υλικό
- τη διατήρηση του πυρηνικού υλικού εντός της κάψουλας, ώστε να μην διαφύγουν και να μην εισέλθουν ανεπιθύμητα συστατικά
- την απελευθέρωση του πυρηνικού υλικού τον σωστό χρόνο και με προκαθορισμένο ρυθμό απελευθέρωσης. [66]

Ο εγκλεισμός βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων για λόγους, οι οποίοι αναφέρονται περιληπτικά παρακάτω:

- Προστασία του πυρηνικού υλικού από την εξωτερική ατμόσφαιρα και συγκεκριμένα από την υγρασία, το φως και το οξυγόνο, αυξάνοντας το χρόνο ζωής του προϊόντος
- Μείωση του ρυθμού εξάτμισης του πυρηνικού υλικού και γενικά μείωση του ρυθμού μεταφοράς του υλικού στο εξωτερικό περιβάλλον
- Προώθηση της ευκολότερης διαχείρισης του πυρηνικού υλικού μέσω της αποτροπής της συσσώρευσης (σβόλιασμα), της μετατροπής ενός υγρού υλικού σε στερεό και της εύκολης ανάμιξης του πυρηνικού υλικού με άλλα συστατικά του προϊόντος
- Αποτελεσματικότερος έλεγχος της απελευθέρωσης του πυρηνικού υλικού επιτυγχάνοντας τη κατάλληλη καθυστέρηση μέχρι το κατάλληλο ερέθισμα, βελτίωση της αποτελεσματικότητας των προσθέτων των τροφίμων και βελτίωση της σχέσης κόστους - αποτελεσματικότητας
- Κάλυψη της δυσάρεστης οσμής και γεύσης του πυρηνικού υλικού
- Επίτευξη της διάλυσης του πυρηνικού υλικού, όταν αυτό χρησιμοποιείται σε πολύ μικρές ποσότητες και ,παράλληλα, επίτευξη ομοιόμορφης κατανομής
- Παρεμπόδιση της αντίδρασης του πυρηνικού υλικού με τα άλλα συστατικά του συστήματος του τροφίμου
- Μεταφορά συστατικών με αντιμικροβιακές ιδιότητες σε τρόφιμα
- Αύξηση της διαλυτότητας συστατικών σε συγκεκριμένο μέσο
- Βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας έπειτα από του στόματος χορήγηση

- Αποφυγή της απώλειας συστατικών όπως οι βιταμίνες, οι πρωτεΐνες, τα ένζυμα και τα ιχνοστοιχεία κατά την επεξεργασία και αποθήκευση των τροφίμων. [3,35,38,61,62,65]

Ο εγκλεισμός αναπτύχθηκε πρωτίστως και εκτενώς από τη βιομηχανία φαρμάκων ως μέσο για τον έλεγχο και την τροποποίηση της απελευθέρωσης των δραστικών ουσιών των φαρμάκων. Πιο αναλυτικά, ο εγκλεισμός χρησιμοποιείται από τις φαρμακοβιομηχανίες για να βελτιώσει τη βιοδιαθεσιμότητα των φαρμακευτικών ουσιών, να ελέγξει την απελευθέρωση των ουσιών, να ελαχιστοποιήσει τις παρενέργειες των φαρμάκων (π.χ. τον γαστρικό ερεθισμό από τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα) και να καλύψει την πικρή γεύση κάποιων φαρμακευτικών ουσιών. [11]

Η μέθοδος του εγκλεισμού χρησιμοποιείται εδώ και 60 σχεδόν χρόνια στη βιομηχανία τροφίμων και αποκτά όλο και περισσότερους υποστηρικτές, με κύρια πεδία ενδιαφέροντος τα αρώματα, τις χρωστικές, τα αντιοξειδωτικά, τους σταθεροποιητές, τα προβιοτικά, τα μέταλλα και τις βιταμίνες. [25] Η αύξηση της «δημοτικότητας» του εγκλεισμού στη βιομηχανία τροφίμων έγκειται στην επιθυμία των βιομηχανιών να ενσωματώσουν συστατικά με λειτουργικές ιδιότητες στα παραγόμενα τρόφιμα. Συνήθως, τα συστατικά που χρησιμοποιούνται αφορούν τον έλεγχο του αρώματος, του χρώματος, της υφής και των ιδιοτήτων συντήρησης. Ωστόσο, ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η στροφή των βιομηχανιών τροφίμων στη χρήση βιοδραστικών μορίων με πιθανές ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία. [11,16] Τα βιοδραστικά στοιχεία είναι συστατικά των τροφίμων και των συμπληρωμάτων διατροφής, ζωικής ή φυτικής προέλευσης, τα οποία κατέχουν σημαντικό ρόλο στην υγεία, πέρα της βασικής θρεπτικής αξίας. Η ενσωμάτωση βιοδραστικών συστατικών στα τρόφιμα αποτελεί έναν δύσκολο στόχο για τους επιστήμονες των τροφίμων, καθώς μερικά από τα εμπόδια που καλούνται να ξεπεράσουν αφορούν την ευαισθησία των συστατικών αυτών σε διάφορες συνθήκες υποβάθμισης (π.χ. οξείδωση) και τη διατήρηση της βιοδιαθεσιμότητάς τους.

Η προσθήκη των βιοδραστικών μορίων σε τρόφιμα και κυρίως σε τρόφιμα που καταναλώνονται ως βασικό κομμάτι της διατροφής στοχευμένων πληθυσμιακών ομάδων, προσφέρει την ευκαιρία για βελτίωση της υγείας των καταναλωτών.

Το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων για την ανάπτυξη τέτοιων λειτουργικών τροφίμων έχει οδηγήσει στην παραγωγή μιας νέας γενιάς προϊόντων διατροφής με βελτιωμένο επίπεδο συστατικών με πιθανά οφέλη για την υγεία. [3]

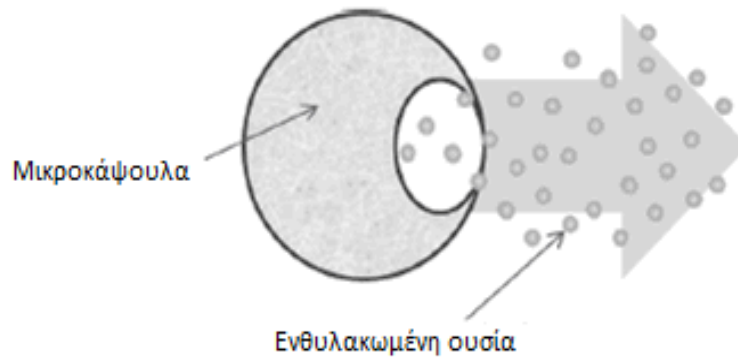
Η παραγωγή αυτών των νέων προϊόντων διατροφής συχνά αποτελεί μία πρόκληση για τη βιομηχανία. Τα ήδη υπάρχοντα και τα νέα συστατικά πρέπει να συνυπάρξουν στα τρόφιμα, μέσα στα οποία σιγά σιγά υποβαθμίζονται και χάνουν τη δραστικότητά τους, ή γίνονται πιο επικίνδυνα λόγω της οξείδωσης που υφίστανται. Τα προστιθέμενα συστατικά μπορούν, επίσης, να αλληλεπιδράσουν με τα συστατικά του συστήματος του τροφίμου, χάνοντας τη βιοδιαθεσιμότητά τους, ή αλλάζοντας το χρώμα και τη γεύση του τελικού προϊόντος.

Επιπρόσθετα, ο εγκλεισμός προσφέρει προστασία στο πυρηνικό υλικό από τις χημικές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στον γαστρεντερικό αυλό κατά τη διάρκεια της πέψης. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο εγκλεισμός των προβιοτικών, ο οποίος θεωρείται ιδιαίτερα χρήσιμος για τη διατήρηση των ευεργετικών ιδιοτήτων των προβιοτικών. Ο εγκλεισμός φαίνεται όχι μόνο να σταθεροποιεί τα κύτταρα, αλλά βελτιώνει τη ζωτικότητα των μικροοργανισμών και παράλληλα οδηγεί σε πιο εύκολη διαχείριση των προβιοτικών σε βιομηχανική κλίμακα.

Τέλος, η στοχευμένη απελευθέρωση του πυρηνικού υλικού στα διάφορα μέρη του γαστρεντερικού σωλήνα επιτυγχάνεται με σχεδιασμό της μηχανικής αντοχής της μικροκάψουλας στις περισταλτικές κινήσεις του στομάχου και του εντέρου, με χρήση ευαίσθητων στο pH πολυμερή στο εξωτερικό κάλυμμα, ώστε να αντέχουν στο pH του στομάχου, αλλά να διαλύονται στο pH του εντέρου και με εκμετάλλευση της τοπικής δράσης των ενζύμων της εντερικής μικροχλωρίδας. [22]

Σχήμα 3.1

Σχηματική απεικόνιση της απελευθέρωσης της εγκλεισμένης ουσίας από μία μικροκάψουλα (Martins I.M. (2013))



Η επιλογή του εξωτερικού καλύμματος είναι ιδιαίτερα σημαντική για την αποτελεσματικότητα του εγκλεισμού και τη σταθερότητα του συμπλόκου εγκλεισμού. Τα κριτήρια για την επιλογή του κατάλληλου υλικού αφορούν την ασφάλειά του, τις φυσικοχημικές ιδιότητες του πυρηνικού υλικού (π.χ. διαλυτότητα, πορώδες) και του εξωτερικού καλύμματος (π.χ. ιξώδες, μηχανικές ιδιότητες), καθώς και τη συμβατότητα ανάμεσα στα δύο υλικά (π.χ. να μην πραγματοποιείται χημική αντίδραση).

Επιπρόσθετα, το τελικό μέγεθος του προϊόντος του εγκλεισμού, αλλά και βιομηχανικοί - οικονομικοί παράγοντες αποτελούν σημαντικές παραμέτρους της επιλογής του εξωτερικού καλύμματος.

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων χρόνων, ο αριθμός των συστατικών των τροφίμων που εγκλείονται ή/και υπόκεινται σε ελεγχόμενη απελευθέρωση αυξάνεται. Μερικά συστατικά που φαίνεται να κυριαρχούν στη βιομηχανία τροφίμων και υποβάλλονται συχνά σε εγκλεισμό είναι οι αρωματικές ύλες, οι χρωστικές ουσίες, οι σταθεροποιητές, τα αντιοξειδωτικά, τα ένζυμα, τα προβιοτικά, τα λιποειδή, τα μέταλλα και οι βιταμίνες. [25]

3.2 Πλεονεκτήματα Εγκλεισμού Διατροφοδραστικών Συστατικών

Τα πλεονεκτήματα εγκλεισμού διατροφοδραστικών συστατικών είναι:

- Αύξηση της διαλυτότητας των ουσιών στο εκάστοτε μέσο εγκλεισμού
- Προστασία από επιμολύνσεις προερχόμενες από παθογόνους και μη μικροοργανισμούς
- Αύξηση του χρόνου ημίσειας ζωής των εγκλεισμένων συστατικών και κατ'επέκταση του χρόνου αποθήκευσης
- Μείωση ή/και εξάλειψη δυσάρεστης γεύσης και οσμής
- Ο διαχωρισμός των συστατικών καθώς και η μείωση των αλληλεπιδράσεων των συστατικών
- Διατήρηση του αρώματος κατά το χρονικό διάστημα αποθήκευσης
- Η μετατροπή ουσιών που βρίσκονται σε υγρή μορφή σε σκόνη, γεγονός που καθιστά ευκολότερο το χειρισμό τους και συνάμα μειώνει το κόστος αποθήκευσης και επεξεργασίας
- Προστασία των ενθυλακωμένων συστατικών από αντιδράσεις επαγόμενες από τη θερμότητα και την ηλιακή ακτινοβολία
- Καθυστέρηση της οξείδωσης και κατ'επέκταση μείωση των παραγόμενων τοξικών προϊόντων
- Η ελεγχόμενη απελευθέρωση των δραστικών συστατικών που εξαρτάται από το εκάστοτε μέσο εγκλεισμού και τις επικρατούσες συνθήκες.
- Η προστασία υγροσκοπικών ουσιών από την υγρασία [25]

Η βιομηχανία τροφίμων είναι ένα καλό παράδειγμα σε ότι αφορά την εφαρμογή των τεχνικών εγκλεισμού και των θεωρήσεων περί κόστους και οικονομικής αποδοτικότητας. Σε αντίθεση με τη βιομηχανία φαρμάκων και καλλυντικών, η εφαρμογή του εγκλεισμού είναι περισσότερο δύσκολη, και το ισοζύγιο κόστους παραγωγής - τιμής τελικού προϊόντος και αποδοτικότητας πρέπει να λαμβάνεται υπόψη αυστηρώς.

Σε οικονομικό επίπεδο, το προϊόν με το εγκλεισμένο συστατικό μπορεί να είναι ελαφρώς πιο ακριβό, σε σχέση με το ίδιο προϊόν χωρίς το εγκλεισμένο συστατικό, με την προϋπόθεση ότι το εγκλεισμένο συστατικό προσφέρει επιπρόσθετες σημαντικές ιδιότητες στο τρόφιμο. [38]

3.3 Τεχνικές Εγκλεισμού

Ποικίλες τεχνικές εγκλεισμού έχουν αναφερθεί, ωστόσο η κατάλληλη επιλογή τεχνικής εξαρτάται από το μέγεθος, τη βιοσυμβατότητα, την επιθυμητή ικανότητα βιοαποικοδόμησης του τελικού προϊόντος, τις φυσικοχημικές ιδιότητες του πυρηνικού υλικού και του εξωτερικού καλύμματος, τον τρόπο εφαρμογής των καψουλών, τον τρόπο απελευθέρωσης του πυρηνικού υλικού και το κόστος της παραγωγής. [52]

Οι συνήθεις τεχνικές που περιγράφονται στη διεθνή βιβλιογραφία και βρίσκουν εφαρμογή είναι:

- ξήρανση με ψεκασμό (spray drying)
- λυοφιλίωση ή ξήρανση με κατάψυξη (freeze drying)
- ψύξη με ψεκασμό (spray cooling/chilling)
- εξώθηση ή εκβολή (extrusion)
- επικάλυψη σε ρευστοποιημένη κλίνη (fluidized bed coating)
- συγκρυστάλλωση (cocrystallization)
- εγκλεισμός σε λιποσώματα (liposome entrapment)
- ενθυλάκωση σε ζύμες (yeast encapsulation)
- σχηματισμός συμπλόκων εγκλεισμού (inclusion complexation)
- γαλακτωματοποίηση (emulsion)
- περιστρεφόμενος δίσκος (spinning disk)
- διαχωρισμός φάσεων (coacervation) [11]

3.3.1 Ξήρανση με ψεκασμό

Ο εγκλεισμός με την τεχνική της ξήρανσης με ψεκασμό χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων, από τα τέλη της δεκαετίας του 1950, για τον εγκλεισμό αρωματικών ελαίων παρέχοντας προστασία έναντι της οξείδωσης/υποβάθμισης, καθώς και για τη μετατροπή υγρών ουσιών σε στερεή μορφή.

Η ξήρανση με ψεκασμό είναι οικονομική, ευέλικτη, συνεχούς λειτουργίας τεχνική που παράγει σωματίδια καλής ποιότητας. Επίσης, είναι εύκολα αναπαραγώγιμη και μπορεί να εφαρμοστεί σε πιο ευρεία κλίμακα στις συνθήκες της βιομηχανίας τροφίμων.

Τα χαρακτηριστικά αυτά καθιστούν τη μέθοδο αυτή, την πιο πλέον διαδεδομένη τεχνική εγκλεισμού στο χώρο της βιομηχανίας τροφίμων. [11,65]

Η ξήρανση με ψεκασμό είναι μία διαδικασία κατά την οποία ένα υγρό προϊόν ψεκάζεται σε ένα ρεύμα ζεστού αέρα, ώστε να προκύψει, στιγμιαίως, μία σκόνη. ^[35] Η βασική αρχή της μεθόδου περιλαμβάνει τη διάλυση του πυρηνικού υλικού και του επιλεγμένου εξωτερικού καλύμματος προς τη δημιουργία ενός εναιωρήματος, γαλακτώματος ή διαλύματος.

Το παρασκεύασμα αυτό, ακολούθως, ψεκάζεται υπό συνθήκες θερμού αέρα, επιτείνοντας την ταχεία απομάκρυνση του διαλύτη. Οι θερμοκρασίες που συνήθως χρησιμοποιούνται στην τεχνική αυτή κυμαίνονται από 135 έως 220°C, ενώ στη συνέχεια η θερμοκρασία πέφτει στους 50 – 80°C. Τα σωματίδια που προκύπτουν είναι σε μορφή σκόνης. Πιο αναλυτικά, για τους σκοπούς της ενθυλάκωσης, τροποποιημένο άμυλο, μαλτοδεξτρίνες, κόμμεα ή άλλες ουσίες διαλύονται, σε πρώτο βήμα, σε νερό, ώστε να χρησιμοποιηθούν ως υλικά του εξωτερικού καλύμματος. Στη συνέχεια, το πυρηνικό υλικό ομογενοποιείται με το υλικό του εξωτερικού καλύμματος.

Το μίγμα παροχετεύεται στη συσκευή της ξήρασης με ψεκάσμο και ψεκάζεται από τον εκνεφωτή ή τον περιστρεφόμενο δίσκο της συσκευής. Οι υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούν επισπεύδουν την εξάτμιση του νερού, και οι κάψουλες εναποτίθενται στον πυθμένα του ξηραντήρα, από όπου και παραλαμβάνονται στο τέλος της διαδικασίας. Το τυπικό σχήμα των παραγόμενων σωματιδίων είναι σφαιρικό, και το μέσο μέγεθος κυμαίνεται από 10 nm έως 100 nm. [65]

Σημειώνεται ότι το πυρηνικό υλικό και το υλικό του εξωτερικού καλύμματος θα πρέπει να βρίσκονται σε αναλογία 1:4. [11] Επιπλέον, η ταχεία εξάτμιση του νερού από το υλικό του καλύμματος διατηρεί τη θερμοκρασία του πυρήνα χαμηλότερη από τους 100°C, παρά τις υψηλές θερμοκρασίες (135 - 220°C) που επικρατούν στη μέθοδο αυτή, ενώ η έκθεση του μορίου στις θερμοκρασίες αυτές διαρκεί λίγα δευτερόλεπτα. Έτσι, η ξήραση με ψεκάσμο θεωρείται ιδανική για τη διαχείριση μορίων, ασταθή σε υψηλές θερμοκρασίες.

Η αφαίρεση του νερού με τη μέθοδο της ξήρασης με ψεκάσμο είναι συνήθως βιομηχανική πρακτική. Μειώνοντας το περιεχόμενο νερό και την ενεργότητα νερού, η ξήραση με ψεκάσμο χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων για να διασφαλίσει τη μικροβιολογική σταθερότητα των προϊόντων, να ελαττώσει τον κίνδυνο για χημική και βιολογική υποβάθμιση, να μειώσει το κόστος αποθήκευσης και μεταφοράς και να αποκτήσει το τελικό προϊόν κάποιες επιθυμητές ιδιότητες, όπως η αυξημένη διαλυτότητα. [25] Από την άλλη πλευρά, ένας περιορισμός της μεθόδου είναι η αναγκαία προϋπόθεση το υλικό του εξωτερικού καλύμματος να είναι υδατοδιαλυτό σε αποδεκτά όρια. Ως αποτέλεσμα, υπάρχει ένας περιορισμός στα υλικά καλύμματος που μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

Άλλος ένας περιορισμός, κυρίως στον εγκλεισμό προβιοτικών, είναι πως οι υψηλές θερμοκρασίες (>60°C) μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την επιβίωση των μικροοργανισμών. [22]

Το εξωτερικό κάλυμμα είναι σχεδιασμένο για να προστατεύει το πυρηνικό υλικό από ποικίλους παράγοντες που μπορούν να το υποβαθμίσουν, να εμποδίζει την αλληλεπίδραση του πυρηνικού υλικού με άλλα συστατικά του τροφίμου, να περιορίζει την απώλεια λόγω πτητικότητας και να επιτρέπει την ελεγχόμενη απελευθέρωση του πυρηνικού υλικού υπό καθορισμένες συνθήκες. Βάσει των ιδιοτήτων του πυρηνικού υλικού, αλλά και των επιδιωκόμενων χαρακτηριστικών του τελικού προϊόντος, το εξωτερικό κάλυμμα θα πρέπει να πληροί κάποια κριτήρια. Αναφορικά οι φυσικοχημικές ιδιότητες που λαμβάνονται υπόψη είναι η διαλυτότητα σε νερό σε αποδεκτά όρια, το μοριακό βάρος, η υαλώδης μετάπτωση, η κρυσταλλικότητα, η ικανότητα διάχυσης, η ικανότητα γαλακτωματοποίησης, η μηχανική αντοχή, η συμβατότητα με το τρόφιμο και το κατάλληλο μέγεθος των παραγόμενων καψουλών. Τέλος, το κόστος παίζει πάντοτε σημαντικό ρόλο στην επιλογή του κατάλληλου υλικού. [35]

3.3.2 Λυοφιλίωση

Η λυοφιλίωση, ή αλλιώς ξήρανση με κατάψυξη, είναι μια διαδικασία ξήρανσης που χρησιμοποιείται συχνά, κυρίως για θερμο-ευαίσθητα συστατικά. Η ξήρανση με κατάψυξη είναι μια πολύ-επίπεδη διαδικασία για τη σταθεροποίηση των συστατικών. Η διαδικασία αυτή έχει τέσσερα στάδια: την ψύξη, την εξάχνωση (πρώτο στάδιο ξήρανσης), το στάδιο της εκρόφησης (δεύτερο στάδιο ξήρανσης) και την αποθήκευση. Τα προϊόντα της λυοφιλίωσης είναι υψηλής ποιότητας, ανασυντίθενται εύκολα και έχουν μεγάλο χρόνο ζωής. [26]

Η λυοφιλίωση περιλαμβάνει αρχικά την ψύξη των υλικών, έπειτα τη μείωση της πίεσης και τέλος την παροχή θερμότητας από το εξωτερικό περιβάλλον. Η διαδικασία αυτή επιτρέπει τη διαφυγή του νερού από τη στερεή φάση κατευθείαν στην αέρια. [11]

Για τη μείωση της πίεσης, αλλά και την απομάκρυνση των ήδη υπάρχοντων αερίων στο θάλαμο της λυοφιλίωσης, τίθεται σε λειτουργία μία αντλία κενού. Επίσης, όταν ο πάγος αρχίζει να εξαχνώνεται, οι υδρατμοί διοχετεύονται σε ένα ψυγείο-συμπυκνωτή, εμποδίζοντας έτσι, την επιστροφή των υδρατμών στο θάλαμο της λυοφιλίωσης. Επιπλέον, μειώνεται ο τελικός όγκος των αερίων όπου η αντλία κενού πρέπει να απομακρύνει.

Το υγρό στοιχείο που συνήθως εξαχνώνεται είναι το νερό. Μιας και η πίεση ατμών του πάγου είναι πολύ χαμηλή, η ύπαρξη πολύ χαμηλής πίεσης ή υψηλού κενού είναι απαραίτητη για την επίτευξη της ξήρανσης με κατάψυξη. Στις περισσότερες περιπτώσεις λυοφιλίωσης, οι θερμοκρασίες που επικρατούν είναι χαμηλότερες από τους -10°C και η πίεση χαμηλότερη από τα 2 mmHg. ^[26] Για την πραγματοποίηση της ξήρανσης με κατάψυξη απαιτείται:

- 1) τα προϊόντα να είναι κατεψυγμένα κατά προτίμηση σε θερμοκρασία μικρότερη των -40°C για επίτευξη καλής ποιότητας αποξηραμένων προϊόντων
- 2) να υπάρχει αντλία υψηλού κενού, ώστε να επιτυγχάνεται πίεση χαμηλότερη τουλάχιστον από την πίεση του τριπλού σημείου (6,104 mbar ή 4,58 mm Hg) και συνήθως $<0,2-0,5$ mm Hg (200-500 mTorr) και
- 3) να παρέχεται στο προϊόν μεγάλο ποσό ενέργειας για την πραγματοποίηση της εξάχνωσης.

Εξαιτίας της απουσίας του νερού και των χαμηλών θερμοκρασιών που απαιτούνται για την διεργασία, η μικροβιολογική δραστηριότητα και οι περισσότερες αντιδράσεις υποβάθμισης έχουν σταματήσει, με αποτέλεσμα το τελικό λυοφιλιωμένο προϊόν να είναι υψηλής ποιότητας.

Οι παγοκρύσταλλοι που σχηματίζονται κατά την κατάψυξη και που απομακρύνονται κατά την ξήρανση προστατεύουν την πρωταρχική δομή και το σχήμα των προϊόντων προκαλώντας τελικά μικρή μείωση του όγκου τους.

Τα προϊόντα της λυοφιλίωσης είναι ξηρά, ελαφρά, πορώδη και διατηρούν σχεδόν εξ ολοκλήρου το αρχικό τους σχήμα και δομή. Τα κατάλληλα συσκευασμένα αποξηραμένα προϊόντα μπορούν να διατηρηθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς να χάσουν τις φυσικοχημικές, βιολογικές και οργανοληπτικές ιδιότητες που είχαν πριν την ξήρανση. Επίσης, οι χαμηλές θερμοκρασίες που επικρατούν στη μέθοδο αυτή, ελαχιστοποιούν τις αντιδράσεις υποβάθμισης που παρατηρούνται συχνά στις υπόλοιπες τεχνικές ξήρανσης.

Το προφανές πλεονέκτημα της μεθόδου είναι πως η δομή κρυστάλλου κατά την κατάψυξη ελαχιστοποιεί τη συρρίκνωση του προϊόντος και έτσι, καθιστά εφικτή τη γρήγορη και ολοκληρωμένη επανυδάτωση του προϊόντος. Οι καλές ανοικοδομητικές ιδιότητές του παραγόμενου αποξηραμένου προϊόντος επιτρέπουν την επανάκτηση της αρχικής μορφής και δομής, παρουσιάζοντας χαρακτηριστικά παρόμοια με το αρχικό νωπό προϊόν. Επιπλέον, η λυοφιλίωση οδηγεί στο σχηματισμό προϊόντων πάρα πολύ καλής ποιότητας, τα οποία μάλιστα αποκτούν μεγαλύτερο χρόνο ζωής κατά την αποθήκευσή τους.

Από την άλλη πλευρά, μειονέκτημα της μεθόδου είναι ο μεγάλος χρόνος αναμονής και το υψηλό ενεργειακό - οικονομικό κόστος μέχρι την ολοκλήρωσή της, μιας και η βαθιά κατάψυξη των προϊόντων και η δημιουργία κενού απαιτούν υψηλή παροχή ενέργειας. [26]

Η λυοφιλίωση είναι περίπου 4-8 φορές πιο ακριβή από την τεχνική ξήρανσης με ζεστό αέρα με ψεκασμό και καταναλώνει 2-5 φορές περισσότερη ενέργεια. Επιπλέον, αφού είναι ασυνεχής μέθοδος (γίνεται σε στάδια) απαιτεί πολλούς χειρισμούς. Οι χρόνοι που απαιτούνται για την ξήρανση είναι σημαντικά μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους χρόνους των άλλων μεθόδων.

Η βιομηχανία τροφίμων διερευνά πώς θα αυξήσει τον αριθμό των εφαρμογών της λυοφιλίωσης με αποτελεσματικό τρόπο. Για παράδειγμα, έχει αναπτυχθεί μια προσέγγιση που καλείται ενεργή λυοφιλίωση, η οποία μειώνει τον χρόνο των χειρισμών και της ξήρανσης.

Υπάρχουν, επίσης, εξελίξεις όσον αφορά τη λυοφιλίωση σε συνθήκες ατμόσφαιρας αντί αντλίας κενού, που οδηγούν σε εξοικονόμηση ενέργειας.

Μια άλλη κατεύθυνση επικεντρώνεται στον συνδυασμό της συμβατικής προ-ξήρανσης, ακολουθούμενη από τη λυοφιλίωση για το τελικό βήμα της ξήρανσης. Αυτό μειώνει τον χρόνο ξήρανσης και την ενέργεια όπου απαιτείται.

3.3.3 Εξώθηση

Η διαδικασία της εξώθησης περιλαμβάνει την εφαρμογή πίεσης σε μία άμορφη μάζα, ώστε να ρεύσει διαμέσου ενός στομίου ή καλουπιού υπό ελεγχόμενες συνθήκες. Η συσκευή της εξώθησης για την ενθυλάκωση αποτελείται από μια συσκευή παραγωγής και σκλήρυνσης σταγονιδίων. Η ενθυλάκωση με εξώθηση λαμβάνει χώρα σε υψηλές θερμοκρασίες, και περιλαμβάνει εκβολή ενός γαλακτώματος του πυρηνικού υλικού και του εξωτερικού καλύμματος μέσω ενός στομίου υπό υψηλή πίεση. Επίσης, χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά για την ενθυλάκωση πτητικών και ασταθών αρωματικών συστατικών σε υδατάνθρακες που βρίσκονται στην υαλώδη κατάσταση.

Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η μεγάλη διάρκεια ζωής των παραγόμενων προϊόντων σε μόρια που είναι επιρρεπή στην οξείδωση. Από την άλλη πλευρά, ένα σημαντικό μειονέκτημα είναι ο σχηματισμός αρκετά μεγάλων σωματιδίων μεγέθους 500 - 1000 μm, ο οποίος περιορίζει τη χρήση των εξωθημένων αρωματικών συστατικών σε εφαρμογές όπου το mouthfilling είναι σημαντικό χαρακτηριστικό του τροφίμου. Επιπλέον, υπάρχει περιορισμένος αριθμός υλικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εξωτερικά καλύμματα για μικροενθυλάκωση με εξώθηση. ^[38]

3.3.4 Γαλακτωματοποίηση

Γαλακτωματοποίηση είναι η διαδικασία της διασποράς ενός υγρού σε ένα άλλο μη αναμειγνυόμενο με το πρώτο. Τα γαλακτώματα είναι κολλοειδή συστήματα διασποράς, τα οποία προκύπτουν από την ανάμιξη δύο μη αλληλοδιαλυόμενων (αναμιξιμων) υγρών από τα οποία το ένα βρίσκεται διεσπαρμένο σε μορφή μικρότατων σφαιριδίων (σταγονιδίων) (ασυνεχής φάση) στη μάζα του άλλου υγρού (συνεχής φάση).

Έτσι εάν έλαιο και νερό αναμειχθούν και αναταραχθούν ισχυρά, τα δύο υγρά διασπείρονται το ένα στη μάζα του άλλου, με αποτέλεσμα τη δημιουργία γαλακτώματος. Ένα τέτοιο γαλάκτωμα δεν είναι σταθερό, γιατί τα σταγονίδια της ασυνεχούς φάσης τείνουν να συσσωματωθούν, με αποτέλεσμα την καταστροφή του γαλακτώματος και το διαχωρισμό των δύο φάσεων. Τα γαλακτώματα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το ρόλο που έχουν το έλαιο και το νερό.

Έτσι, ένα σύστημα που αποτελείται από σταγονίδια ελαίου διεσπαρμένα σε υδατική φάση ονομάζεται γαλάκτωμα ελαίου σε νερό (o/w), ενώ ένα σύστημα που αποτελείται από διεσπαρμένα σταγονίδια νερού σε συνεχή φάση ελαίου ονομάζεται γαλάκτωμα νερού σε έλαιο (w/o).

Εκτός από τα συμβατικού τύπου γαλακτώματα o/w ή w/o, είναι δυνατή επίσης η παρασκευή διαφόρων τύπων πολλαπλών γαλακτωμάτων, όπως για παράδειγμα γαλακτώματα ελαίου σε νερό και σε έλαιο (o/w/o) ή νερού σε έλαιο και σε νερό (w/o/w). Για να πραγματοποιηθεί η γαλακτωματοποίηση χρησιμοποιούνται ειδικές ουσίες, οι γαλακτωματοποιητές. Είναι πολλές και διαφορετικής φύσεως ουσίες που διευκολύνουν και σταθεροποιούν τη διασπορά των γαλακτωμάτων. Γαλακτωματοποιητές είναι οι ουσίες εκείνες που σταθεροποιούν τα γαλακτώματα βοηθώντας την ανάμιξη και τη διασπορά της ελαιώδους και της υδατικής φάσης. [23]

Κατηγορίες γαλακτωματοποιητών

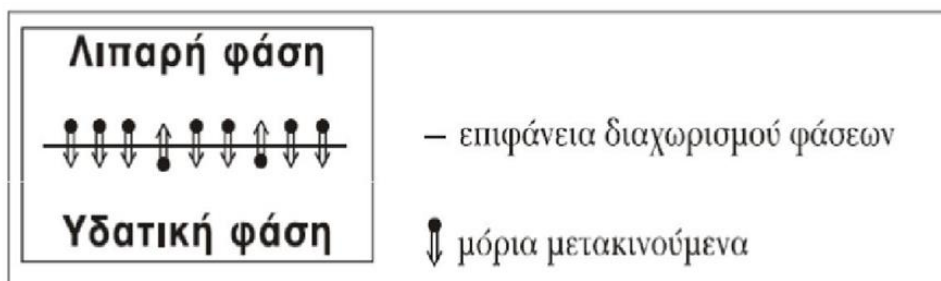
1. Οι επιφανειοδραστικές ουσίες
2. Τα υδρόφιλα κολλοειδή διαλύματα
3. Τα λεπτά διαμελισμένα σωματίδια στερεών ουσιών

Επιφανειοδραστικές ουσίες

Επιφανειοδραστικές ή τασιενεργές ονομάζουμε τις ουσίες που όταν διαλύονται σε ένα υγρό ή σε ένα σύστημα δύο φάσεων προσροφώνται στην επιφάνεια διαχωρισμού των δύο φάσεων, με αποτέλεσμα να μειώνεται η επιφανειακή τάση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων ουσιών αποτελούν, όπως είδαμε σε προηγούμενο κεφάλαιο τα σαπούνια (RCOO^-Na^+) και τα απορρυπαντικά. Το μόριο των επιφανειοδραστικών ουσιών είναι αμφίφιλο και αποτελείται από δύο τμήματα εκ των οποίων το ένα είναι λιπόφιλο και το άλλο υδρόφιλο. Το λιπόφιλο τμήμα (μη πολικό) συνήθως αποτελείται από αλυσίδες υδρογονανθράκων ή από αρωματικούς δακτυλίους. Το υδρόφιλο τμήμα (πολικό) μπορεί να αποτελείται από διάφορες ομάδες όπως: υδροξύλια, καρβοξύλια, σουλφονικές, αμινοομάδες κ.λπ. Το μόριο που προκύπτει από τη συνένωση μιας λιπόφιλης και μιας υδρόφιλης ομάδας παρουσιάζει μια μοναδική συμπεριφορά: το ένα τμήμα του θα διαλύεται στο νερό και το άλλο στο λάδι. Στην ενδοεπιφάνεια μεταξύ ενός υδρόφιλου και ενός λιποφιλού τα μόρια του επιφανειοδραστικού διευθετούνται κατά τέτοιο τρόπο, ώστε καθίστανται εκλεκτικά προσανατολισμένα, με το υδρόφιλο μέρος τους να ενυδατώνεται από το νερό και με το λιπόφιλο να διυγραινεται από το λάδι. Ο υμένας του επιφανειοδραστικού που σχηματίζεται κατά μήκος της επιφάνειας διαχωρισμού των δύο υγρών έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ενδοεπιφανειακής τάσης και την ευκολότερη διασπορά του ενός υγρού στο άλλο. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένα μονομοριακό φιλμ στην επιφάνεια διαχωρισμού του συστήματος που εμποδίζει, όταν το σύστημα ηρεμήσει να συνενωθούν τα σταγονίδια και να γίνει διαχωρισμός των φάσεων.

Σχήμα 3.2

Σχεδιαγραμματική αναπαράσταση μεταξύ λιπαρής και υδατικής φάσης



Οι επιφανειοδραστικοί γαλακτωματοποιητές υποδιαιρούνται στις παρακάτω κατηγορίες:

A' ΙΟΝΙΚΟΙ

A₁ ΑΝΙΟΝΙΚΟΙ που η επιφανειακή δράση τους οφείλεται στα αρνητικά φορτισμένα ιόντα τους. Διακρίνονται σε:

- Αλκαλικούς σάπωνες (σαπούνια αλκαλίων και Ca)
- Μεταλλικούς σάπωνες (σαπούνια Zn και Al)
- Οργανικούς σάπωνες (άλατα αμινών)
- Θεικοί εστέρες λιπαρών αλκοολών (ROSO₃Na)

A₂ ΚΑΤΙΟΝΙΚΟΙ που η επιφανειακή δράση τους οφείλεται στα θετικά φορτισμένα ιόντα τους (άλατα του τεταρτοταγούς αμμωνίου). Τα άλατα αυτά χρησιμοποιούνται ως βακτηριοστατικά και λιγότερο ως γαλακτωματοποιητές.

A₃ ΑΜΦΟΛΥΤΙΚΟΙ Οι αμφολύτες ανάλογα με το pH δρουν ως ανιονικοί ή κατιονικοί.

B' ΜΗ ΙΟΝΙΚΟΙ

Το υδρόφιλο τμήμα τους αποτελείται από ένα αριθμό μικρών μη φορτισμένων πολικών ομάδων και το λιπόφιλο από μεγάλες ανθρακούχες ρίζες.

A₁ ΜΗ ΙΟΝΙΚΟΙ ΛΙΠΟΦΙΛΟΙ Διακρίνονται σε:

- Αλειφατικές αλκοόλες (κετυλική αλκοόλη, στεατική αλκοόλη)
- Εστέρες λιπαρών οξέων με πολυαλκοόλες (π.χ. Μονοστεατική γλυκερίνη (GMS), εστέρες με σορβιτάνη (SPAN))

A₂ ΜΗ ΙΟΝΙΚΟΙ ΥΔΡΟΦΙΛΟΙ

Εστέρες λιπαρών οξέων με γλυκόλες και TWEENS

3.4 Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για εγκλεισμό Προβιοτικών Κυττάρων

3.4.1 Αλγινικό

Αλγινικό είναι ένας φυσικά προερχόμενος πολυσακχαρίτης που εκχυλίζεται από διάφορα είδη φυκών και αποτελείται από ΒD-μαννουρονικό και α- L - γουλουρονικό οξύ. Η σύνθεση της αλυσίδας του πολυμερούς ποικίλει σε ποσότητα και σε διαδοχική διανομή ανάλογα με την πηγή του αλγινικού και αυτό επηρεάζει τις λειτουργικές ιδιότητες του αλγινικού ως υποστηρικτικό υλικό .

Το αλγινικό νάτριο προτιμάται για τον εγκλεισμό προβιοτικών λόγω της απλότητάς του , μη - τοξικότητας, βιοσυμβατότητας και χαμηλού κόστους. ^[43] Ωστόσο, ορισμένα μειονεκτήματα αποδίδονται στη χρήση του αλγινικού. Για παράδειγμα, τα σφαιρίδια αλγινικού είναι ευαίσθητα στο όξινο περιβάλλον, ^[50] το οποίο δεν είναι συμβατό για την αντίσταση των σωματιδίων στις συνθήκες του στομάχου. Επιπλέον, τα σωματίδια που λαμβάνονται είναι πολύ πορώδη το οποίο είναι ένα μειονέκτημα όταν ο στόχος είναι να προστατεύσει τα κύτταρα από το περιβάλλον.

Παρ'όλα αυτά, τα ελαττώματα μπορούν να αντισταθμιστούν με την ανάμιξη των αλγινικών με άλλες πολυμερείς ενώσεις, επικάλυψη των καψουλών από άλλη ένωση ή την εφαρμογή των διαρθρωτικών τροποποιήσεων του αλγινικού με τη χρήση διαφόρων προσθέτων. [43]

3.4.2 Κ - καραγενάνη

Η κ - καραγενάνη είναι ένα φυσικό πολυμερές το οποίο χρησιμοποιείται συνήθως στη βιομηχανία τροφίμων . Η τεχνολογία που χρησιμοποιεί την ένωση απαιτεί θερμοκρασία που περιλαμβάνεται μεταξύ 40 και 50°C κατά την οποία τα κύτταρα προστίθενται στο διάλυμα του πολυμερούς. Με την ψύξη του μίγματος σε θερμοκρασία δωματίου , η πηκτωματοποίηση συμβαίνει και στη συνέχεια , τα μικροσωματίδια σταθεροποιούνται με την προσθήκη ιόντων καλίου. [43] Ο εγκλεισμός των προβιοτικών κυττάρων σε κ- καραγεννάνη σφαιρίδια κρατά τα βακτήρια σε μία βιώσιμη κατάσταση, αλλά τα παραγόμενα τζελ είναι εύθραυστα και δεν είναι σε θέση να αντέχουν σε υψηλές τάσεις. [18]

3.4.3 Χιτοζάνη

Η χιτοζάνη είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης που αποτελείται από μονάδες γλυκοζαμίνης οι οποίες μπορούν να πολυμερίζονται με τη βοήθεια ενός σχηματισμού διασταυρούμενης σύνδεσης με την παρουσία ανιόντων και πολυανιόντων .

Αυτό το στοιχείο δεν φαίνεται να έχει μια καλή απόδοση για την αύξηση της βιωσιμότητας των εγκλεισμένων κυττάρων και κατά προτίμηση χρησιμοποιείται ως επικάλυψη, αλλά όχι ως μια κάψουλα. Στην πραγματικότητα, ενθυλάκωση των προβιοτικών βακτηρίων με αλγινικό και χιτοζάνη παρέχει προστασία σε προσομοιωμένες GI συνθήκες. [50]

3.4.4 Κυκλοδεξτρίνη

Οι κυκλοδεξτρίνες είναι κυκλικοί ολιγοσακχαρίτες οι οποίοι έχουν ως δομική μονάδα την α-D-γλυκοπυρανόζη σε διαμόρφωση ανάκλιντρου, ενώ οι α-(1-4) γλυκοζιτικοί δεσμοί συνδέουν τα μονομερή. Οι κυκλοδεξτρίνες ανάλογα με τον αριθμό των μορίων γλυκοπυρανόζης διακρίνονται σε α-κυκλοδεξτρίνη (α-CD) με 6 δομικές μονάδες γλυκοπυρανόζης, σε β-κυκλοδεξτρίνη (β-CD) με 7 δομικές μονάδες γλυκοπυρανόζης και σε γ-κυκλοδεξτρίνη (γ-CD) με 8 δομικές μονάδες γλυκοπυρανόζης.

Οι κυκλοδεξτρίνες αναφέρονται επίσης ως κυκλοαμυλόζες, κυκλομαλιόζες και δεξτρίνες Schardinger. [2]

Στις μέρες μας, οι κυκλοδεξτρίνες παράγονται σε βιομηχανική κλίμακα, με πρώτη ύλη το άμυλο, το οποίο μεταβολίζεται από ένζυμα μικροοργανισμών, όπως ο *Bacillus macerans*. Η πορεία παραγωγής των κυκλοδεξτρινών συνοψίζεται σε 4 στάδια: 1) καλλιέργεια του μικροοργανισμού το οποίο παράγει το ένζυμο γλυκοζυλο-τρανσφεράση της κυκλοδεξτρίνης (CGT-ase), 2) απομόνωση, συγκέντρωση και καθαρισμός του ενζύμου από το υλικό της καλλιέργειας, 3) ενζυμική μετατροπή του αμύλου σε μίγμα κυκλικών και μη κυκλικών δεξτρινών και 4) απομόνωση, καθαρισμός και κρυστάλλωση των κυκλοδεξτρινών.

Κατά την ενζυμική επεξεργασία, η CGT-ase αποικοδομεί το άμυλο και παράγει ενδομοριακές αντιδράσεις χωρίς τη συμμετοχή μορίων νερού. Με αυτή τη διαδικασία, παράγονται κυκλικές και μη κυκλικές δεξτρίνες μεσαίου μεγέθους.

Οι κυκλοδεξτρίνες προκύπτουν από τη σύνδεση των μονάδων γλυκοπυρανόζης, οι οποίες απαρτίζουν τις δεξτρίνες. Οι συνδέσεις των μονομερών γίνονται με α-(1-4) γλυκοζιτικούς δεσμούς.

Τα τελευταία χρόνια οι φυσικοχημικές ιδιότητες, άρα και η ικανότητα εγκλεισμού μορίων των κυκλοδεξτρινών, έχει βελτιωθεί με χημική τροποποίηση των ομάδων υδροξυλίων. Οι κυκλοδεξτρίνες χρησιμοποιούνται τόσο στη φαρμακοβιομηχανία όσο και στη βιομηχανία τροφίμων με στόχο τη βελτίωση της διαλυτότητας δυσδιάλυτων ουσιών, της σταθερότητας και της βιοδιαθεσιμότητας των βιοδραστικών μορίων. Επιπλέον, οι κυκλοδεξτρίνες προστατεύουν τα βιοδραστικά μόρια από τις αρνητικές επιπτώσεις των περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως η θερμοκρασία, το φως και το pH, επιμηκύνοντας το χρόνο ζωής του προϊόντος.

Τέλος, ο εγκλεισμός των μορίων στην κοιλότητα των κυκλοδεξτρινών έχει ως αποτέλεσμα τον έλεγχο της πηκτικότητας των εγκλειόμενων μορίων, την κάλυψη δυσάρεστων γεύσεων και οσμών και την ελεγχόμενη απελευθέρωση των βιοδραστικών μορίων. [12]

3.5 Μέθοδοι Μελέτης Εγκλεισμού

Η αξιολόγηση του σχηματισμού των συμπλόκων εγκλεισμού και ο πλήρης χαρακτηρισμός τους είναι ιδιαίτερα δύσκολο εγχείρημα. Διάφορες μέθοδοι και τεχνικές έχουν αναπτυχθεί προς αυτή την κατεύθυνση, με σημαντικότερες τις φασματοσκοπικές τεχνικές (π.χ. φασματομετρία UV-VIS, φασματομετρία φθορισμού, φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού), τις ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές (π.χ. πολαρογραφία, βολταμετρικές τεχνικές, ποτενσιομετρία, αγωγιμεία) και τις αναλυτικές τεχνικές (π.χ. HPLC, ηλεκτροφόρηση υγρής φάσης). [63]

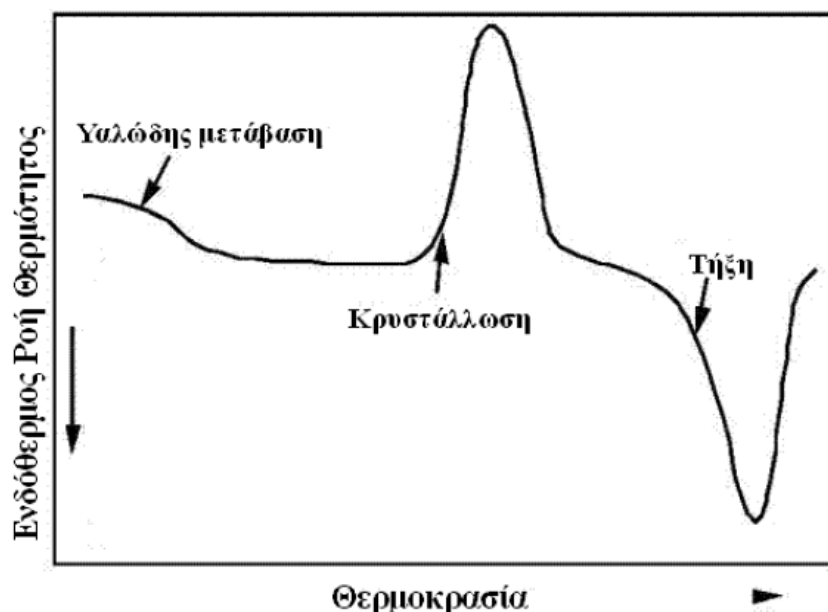
Μια ιδιαίτερα δημοφιλής και ευρέως διαδεδομένη μέθοδος μελέτης των συμπλόκων εγκλεισμού είναι η Διαφορική Θερμιδομετρία Σάρωσης (Differential Calorimetry Scanning, DSC). Η μέθοδος DSC είναι εργαλείο πρώτης επιλογής για τον φυσικοχημικό χαρακτηρισμό των συμπλόκων εγκλεισμού, όταν αυτά βρίσκονται στη στερεή τους κατάσταση και χρησιμοποιείται ως μέθοδος ρουτίνας για τη γρήγορη πρωταρχική ποιοτική διερεύνησή τους.

Πιο συγκεκριμένα, η μέθοδος DSC έχει τη δυνατότητα να μελετά τις μεταβολές της ενθαλπίας που πραγματοποιούνται στο υπό εξέταση δείγμα, όταν αυτό θερμαίνεται ή ψύχεται με προκαθορισμένο θερμοκρασιακό πρόγραμμα. Επιπλέον, δίνει τη δυνατότητα μελέτης εξώθερμων ή ενδόθερμων φαινομένων, όπως η τήξη, η κρυστάλλωση, η εξάχνωση, η υαλώδης μετάπτωση κ.ά..

Μια τυπική καμπύλη της DSC απεικονίζει τη διαφορική ροή της θερμότητας στο υπό εξέταση δείγμα (dH/dt ή mJ/s ή $mcal/s$) ως προς τη θερμοκρασία (T) ή τον χρόνο (t).

Στο σχήμα παρουσιάζονται οι κύριες μεταβολές που μπορούν να μελετηθούν με τη μέθοδο DSC. [63]

Σχήμα 3.3
Κύριες παρατηρηθείσες μεταβολές με τη χρήση της Διαφορικής
Θερμιδομετρίας Σάρωσης



3.6 Εφαρμογές του Εγκλεισμού στη Βιομηχανία Τροφίμων

Το φλέγον ζήτημα της σίτισης του συνεχώς αυξανόμενου παγκόσμιου πληθυσμού έχει δημιουργήσει την ανάγκη για ενίσχυση της παραγωγής τροφίμων, συνδυάζοντας το ελάχιστο δυνατό κόστος με τη βέλτιστη δυνατή ποιότητα.

Η βέλτιστη γεύση, εμφάνιση, υφή και η μικροβιολογική ασφάλεια θεωρούνται πλέον προαπαιτούμενα για ένα νέο προϊόν ενώ όλα τα παραπάνω οφείλουν να συνδυάζονται και με αυξημένη διάρκεια ζωής στο ράφι.

Για την εξυπηρέτηση του σκοπού αυτού, περισσότερα από 2500 πρόσθετα βρίσκονται σήμερα στη διάθεση της βιομηχανίας τροφίμων. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια στροφή των καταναλωτών προς τα φυσικά προϊόντα. Αρχικά, οι καταναλωτές, όντας πιο ενημερωμένοι και ευαίσθητοποιημένοι ως προς το ζήτημα, δεν δέχονται πλέον αβίαστα χημικά προϊόντα, καθώς ανησυχούν για τοξικότητα αλλά και μακροχρόνιες αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Τα μη επεξεργασμένα τρόφιμα προτιμώνται των επεξεργασμένων και όταν δεν υπάρχει επιλογή το αγοραστικό κοινό φαίνεται να διαλέγει αυτά με τα λιγότερα πρόσθετα ή/και αυτά που περιέχουν φυσικά πρόσθετα. Τα φυσικά πρόσθετα θεωρούνται από την κοινή γνώμη ως πιο υγιεινά ενώ ταυτόχρονα πιστεύεται ότι παρέχουν προστιθέμενη αξία σε ένα τρόφιμο.

[15]

Σε αυτά τα πλαίσια, η τεχνολογία της ενθυλάκωσης μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμο εργαλείο για τη βιομηχανία τροφίμων. Σε αυτή την παράγραφο, γίνεται μια απόπειρα διασαφήνισης του ρόλου που δύναται να διαδραματίσει στην ανάπτυξη καινοτομικών τροφίμων αλλά και τη βελτίωση των συμβατικών τροφίμων της αγοράς.

Αρχικά, αναφορικά με τα βελτιωτικά γεύσης όπως έλαια εσπεριδοειδών και μπαχαρικά, η ενθυλάκωσή τους φαίνεται να αυξάνει τη σταθερότητα τους σε συνθήκες υψηλών θερμοκρασιών για σύντομα χρονικά διαστήματα.

Εγκλεισμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης και για κάλυψη ανεπιθύμητων γεύσεων κατά την προσθήκη φυσικών βιοενεργών συστατικών. Ενδεικτικά, η George Weston Foods προέβη σε νανοεγκλεισμό ελαίου τόνου με σκοπό τον εμπλουτισμό ψωμιού με $\omega 3$ λιπαρά οξέα. Οι νανοκάψουλες σχεδιάστηκαν με σκοπό να διαρρηγνύονται όταν φτάνουν στο στομάχι, ώστε η γεύση και η οσμή του ελαίου να μη γίνονται αντιληπτές.

Μια άλλη κατηγορία ενώσεων που εμφανίζει αστάθεια ως προς την απόδοση είναι και οι φυσικές χρωστικές. Ουσίες όπως το β -καροτένιο και ο κουρκουμάς εμφανίζουν χαμηλή διαλυτότητας και μπορεί να προκαλέσουν φαινόμενα θρόμβωσης στο υλικό που προστίθενται.

Ο εγκλεισμός των ουσιών αυτών μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του χρόνου ζωής τους έως και 18 μήνες και να βελτιώσει τη διαλυτότητα και τη σταθερότητά τους προάγοντας έτσι τη χρήση φυσικών ουσιών για την επίτευξη επιθυμητού χρώματος στα τρόφιμα. Επιπλέον, ευεργετική φαίνεται να είναι η συνεισφορά του εγκλεισμού και για τα γλυκαντικά, καθώς οι ενώσεις αυτές συχνά υποβαθμίζονται τόσο από τη θέρμανση όσο και από την παρουσία υγρασίας. Τόσο η ζάχαρη όσο και η ασπαρτάμη εγκλείονται για την παραγωγή τσίχλας, με σκοπό να διατηρεί τη γλυκύτητά της για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Επιπρόσθετα, ο εγκλεισμός επιτρέπει στην ασπαρτάμη να χρησιμοποιηθεί και σε προϊόντα αρτοποιίας, πράγμα που ειδάλλως θα ήταν ανέφικτο καθώς παρατεταμένη θέρμανση οδηγεί στην αποικοδόμησή της. ^[11]

Εγκλεισμός έχει πραγματοποιηθεί και για την προσθήκη αντιμικροβιακών παραγόντων. Για παράδειγμα υποσχόμενος φαίνεται να είναι ο εγκλεισμός βακτηριοσινών σε λιποσώματα καθώς ενδέχεται να προσφέρει προστασία από πρωτεολυτικά ένζυμα στα αντιμικροβιακά πεπτίδια με αποτέλεσμα να μην υποβαθμίζονται και να αυξάνεται η απόδοσή τους. ^[23] Γίνεται επομένως σαφές, ότι η ενθυλάκωση μπορεί να «ανοίξει το δρόμο» για τη χρήση φυσικών αντιμικροβιακών στα τρόφιμα αντικαθιστώντας τα χημικά.

Τέλος, σημαντική κρίνεται η επίδραση του εγκλεισμού στην απόδοση διογκωτικών παραγόντων όπως το όξινο ανθρακικό νάτριο, καθώς η ένωση προστατεύεται από επαφή με οξέα ή νερό, κάτι που συνεπάγεται εξασφάλιση της ακεραιότητάς της και της ομοιόμορφης δράσης της. ^[11]

Εκτός όμως από τον εγκλεισμό προσθέτων με σκοπό τη επίτευξη της μέγιστης απόδοσής τους στη μικρότερη δυνατή δόση αλλά και την ενίσχυση φυσικών ουσιών στο ρόλο αυτό, η μέθοδος συμβάλλει και στην παραγωγή μιας νέας γενιάς καινοτομικών τροφίμων. Χαρακτηριστικά, νανοκάψουλες έχουν χρησιμοποιηθεί για τη χορήγηση προβιοτικών μικροοργανισμών με σκοπό την προαγωγή της καλής εντερικής λειτουργίας. Να σημειωθεί ότι, τα προβιοτικά αποτελούν σήμερα το δημοφιλέστερο συστατικό λειτουργικών τροφίμων. Ωστόσο, σημαντική πρόκληση για την αξιοποίησή τους αποτελεί η διατήρηση της βιωσιμότητας των μικροοργανισμών κατά τα στάδια παρασκευής και επεξεργασίας των λειτουργικών τροφίμων, αλλά και κατά τη διαδικασία της πέψης. Ακόμα, ενώσεις όπως τα ένζυμα, μέσω της εισαγωγής τους σε κάψουλες, προστατεύονται από επαφή με ιόντα, πρωτόνια, ελεύθερες ρίζες και αναστολές και διατηρούν τη λειτουργικότητά τους έως να φτάσουν το επιθυμητό σημείο δράσης.

Επιπλέον, γαλακτώματα έχουν χρησιμοποιηθεί με στόχο τη μείωση του λίπους σε τρόφιμα με ή βελτίωση της σύστασης των λιποειδών, επιδρώντας σημαντικά στη διατροφική ποιότητα του τελικού προϊόντος, με παράλληλες προσπάθειες για διατήρηση της υφής, λόγω των συγγενικών ιδιοτήτων που διαθέτουν.

Ολοκληρώνοντας, η δράση των αντιοξειδωτικών μπορεί να ευεργετηθεί από τον εγκλεισμό. Τα αντιοξειδωτικά, είναι γνωστό ότι μπορούν υπό συγκεκριμένες συνθήκες να δράσουν και ως προ-οξειδωτικά. Ο εγκλεισμός τους αποτρέπει την επαφή με περιβαλλοντικές συνθήκες και κατά συνέπεια τον σχηματισμό τοξικών ενώσεων. [23]

3.7 Εφαρμογή του Εγκλεισμού στα Προβιοτικά Βακτήρια και Παραγωγή Προβιοτικού Γιαουρτιού

Προκειμένου να αυξηθεί το ποσοστό επιβίωσης των προβιοτικών, έχει αναπτυχθεί και εφαρμόζεται η τεχνική του εγκλεισμού. Με την τεχνική αυτή τα βακτηριακά κύτταρα εγκλείονται σε σφαιρίδια με σκοπό την προφύλαξη τους από κάθε είδους τραυματισμό. Επίσης, τα προβιοτικά που εμπεριέχονται σε ένα προϊόν μπορούν να επιβιώσουν κατά την διάρκεια της αποθήκευσης τους. [74] Όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό λοιπόν, ο εγκλεισμός μπορεί να αυξήσει την λειτουργικότητα των προβιοτικών τροφίμων και ιδιαίτερα του προβιοτικού γιαουρτιού. Υπάρχουν πολλές έρευνες που αφορούν στον εγκλεισμό των προβιοτικών βακτηρίων και στην μετέπειτα χρήση τους στο γιαούρτι. Τα προβιοτικά στελέχη στα οποία έχει εφαρμοστεί η τεχνολογία του εγκλεισμού και τα οποία, εν συνεχεία, χρησιμοποιούνται στο γιαούρτι ποικίλουν.

Μεγάλη είναι επίσης και η ποικιλία των εγκλειστικών μέσων που έχουν χρησιμοποιηθεί. Μερικά παραδείγματα ερευνών που αφορούν στην μελέτη του εγκλεισμού προβιοτικών που έχουν χρησιμοποιηθεί στο γιαούρτι παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 3.1

| Προβιοτικό στέλεχος | Τεχνική εγκλεισμού | Μέσα εγκλεισμού | Βιβλιογραφία |
|---|---------------------------|------------------------|-------------------------|
| <i>B. infantis</i> | Εξώθηση | Ξανθάνη/τζελάνη | Sun and Griffiths, 2000 |
| <i>L. rhamnosus</i> | Ξήρανση με ψεκασμό | Κολλοειδή | Avila- Rejes, 2013 |
| <i>L. acidophilus</i> <i>Bifidobacterium</i> spp. | Γαλακτωματοποίηση | Αλγινικό νάτριο | Sultana et al. 2000 |
| <i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> και <i>L. casei</i> | Εξώθηση | Αλγινικό νάτριο | Krasaekoopt et al, 2003 |

Το εγκλειστικό μείγμα ξανθάνης/τζελάνης μπορεί να αυξήσει την βιωσιμότητα των προβιοτικών σε όξινα περιβάλλοντα. Από την άλλη το στέλεχος *B. infantis* ATCC 15697 θεωρείται ως το πιο ανθεκτικό σε όξινες συνθήκες. Γι' αυτό επιχειρήθηκε ο εγκλεισμός του με μείγμα ξανθάνης/τζελάνης με την μέθοδο της εξώθησης. Η βιωσιμότητα των εγκλεισμένων μικροοργανισμών ελέγχθηκε τόσο στο γιαούρτι όσο και σε συνθήκες παρόμοιες με εκείνες του γαστρεντερικού συστήματος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επιβίωση των εγκλεισμένων προβιοτικών δεν είχε μεγάλες διαφορές σε σχέση με την επιβίωση των μη εγκλεισμένων κατά την αποθήκευση των γιαουρτιών στους 4°C, για 6 εβδομάδες. Αντίθετα, τα ποσοστά επιβίωσης των εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων ήταν σημαντικά υψηλότερα των μη εγκλεισμένων, σε συνθήκες προσομοίωσης του γαστρεντερικού περιβάλλοντος. [71] Το στέλεχος *L. rhamnosus* B442 εγκλείστηκε με την μέθοδο της ξήρανσης με ψεκασμό.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, που αφορούσαν στην επιβίωση των προβιοτικών βακτηρίων, έδειξαν ότι τα εγκλεισμένα βακτήρια είχαν μεγαλύτερη αντοχή όταν εκτίθεντο σε τεχνητό γαστρικό υγρό, εν συγκρίσει με τα μη εγκλεισμένα τα οποία δεν κατάφεραν να επιβιώσουν.

[61] Τα στελέχη *L. acidophilus* και *Bifidobacterium* spp. εγκλείστηκαν με την μέθοδο της γαλακτωματοποίησης.

Για την εκτέλεση των πειραμάτων παρασκευάστηκε μίγμα το οποίο περιείχε 4%w/v αλγινικό νάτριο και 0,1% καλλιέργειας. Το μίγμα αναμίχθηκε με λάδι (3:1v/v), που περιείχε Tween 80 0,02%w/v. Στη συνέχεια, το μίγμα αναδεύεται έντονα μέχρι που γαλακτωματοποιείται. Με την προσθήκη υδατικού διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ που προστίθεται γρήγορα κατά μήκος της πλευράς του δοχείου πραγματοποιείται ο διαχωρισμός των φάσεων του γαλακτώματος ελαίου/ύδατος. Το μίγμα αφέθηκε προς αποκατάσταση της ισορροπίας για 30 min ώστε τα σφαιρίδια ασβεστίου-αλγινικού να διαχωριστούν και να εγκατασταθούν στον πυθμένα της στιβάδας του χλωριούχου ασβεστίου. Ακολούθησε διήθηση της ελαιώδους στιβάδας και συλλέχθηκαν σφαιρίδια τα οποία ξεπλήθηκαν με αλατούχο διάλυμα 0,9%w/v που περιείχε 5%v/v γλυκερόλη. Τα σφαιρίδια αποθηκεύτηκαν στους 4°C. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων, που αφορούσαν στην επιβίωση των προβιοτικών βακτηρίων, έδειξαν ότι τα εγκλεισμένα βακτήρια είχαν μεγαλύτερη αντοχή όταν εκτίθεντο σε τεχνητό γαστρικό υγρό, εν συγκρίσει με τα μη εγκλεισμένα τα οποία δεν κατάφεραν να επιβιώσουν. [70] Τέλος, η βιωσιμότητα των εγκλεισμένων προβιοτικών στελεχών *L. acidophilus* 547, *B. Bifidum* ATCC 1994 και *L. casei* 01, τα οποία προστέθηκαν σε γιαούρτια, μελετήθηκε σε μία άλλη έρευνα. Τα προβιοτικά στελέχη εγκλειστήκαν με την μέθοδο της εξώθησης χρησιμοποιώντας ως μέσον εγκλεισμού αλγινικό νάτριο. Τα δείγματα προβιοτικού γιαουρτιού αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 4°C για 4 εβδομάδες. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ότι η επιβίωση των εγκλεισμένων προβιοτικών ήταν αρκετά υψηλότερη σε σχέση με αυτήν των μη εγκλεισμένων. Επίσης ο αριθμός των ζωντανών μικροοργανισμών ήταν μεγαλύτερος. Η βιωσιμότητα των στελεχών φαίνεται ότι δεν επηρεάστηκε από το είδος του γάλακτος. [43]

Κεφάλαιο Τέταρτο: Πειραματικό Μέρος

4.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η ποιοτική μελέτη της κινητικής της οξυγαλακτικής ζύμωσης του γάλακτος με ενσωμάτωση εγκλεισμένης προβιοτικής καλλιέργειας προκειμένου να προσδιοριστεί ο φορέας εγκλεισμού που εξασφαλίζει τη βέλτιστη δυνατή ποιότητα προϊόντος σε σχέση με το τυφλό καθώς και την επιβίωση των βακτηρίων. Για το σκοπό αυτό, παρακολουθήθηκε η μεταβολή των φυσικοχημικών και μικροβιολογικών χαρακτηριστικών των προϊόντων.

4.2 Υλικά και Μέθοδοι

4.2.1 Πρώτες Ύλες - Υλικά, Αντιδραστήρια και Εξοπλισμός

Για την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά:

- Λυοφιλωμένη προβιοτική καλλιέργεια που περιλαμβάνει το στέλεχος *Bifidobacterium bifidus subsp. Lactis*
- Πλήρες γάλα αγελάδος το οποίο είναι ομογενοποιημένο και θερμικά επεξεργασμένο με την μέθοδο υπερ-υψηλής θέρμανσης (UltraHighTemperature - UHT)
- Αλγινικό νάτριο
- Χιτοζάνη
- Ξανθάνη
- Κ-καραγεννάνη
- Κυκλοδεξτρίνη
- Λάδι
- Tween 80
- Υδατικό διάλυμα κλωριούχου ασβεστίου 0,1mol/ L.
- Αλατούχο υδατικό διάλυμα 0,9%w/v
- 5%v/v υδατικό διάλυμα γλυκερόλη.

- Υπόστρωμα de Man-Rogosa-Sharpe (MRS, MerkVM978860-812)
- Διάλυμα Maximum Recovery Diluentfor microbiology (Ringer, Oxoid CM0733)
- Απιονισμένο νερό
- *L*-κυστεΐνη·HCl

Επίσης, κατά την παρασκευή των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω όργανα:

- Ηλεκτρονικός Ζυγός (620C της PrecisaInstruments)
- Υαλικά σκεύη (Ποτήρια ζέσεως, Κωνικές φιάλες, Ογκομετρικοί κύλινδροι, Σιφόνια)
- Spray dryer
- Freeze dryer
- Αναλυτής υφής TA-XT2 (StableMicroSystems) με το στέλεχος TA-4
- Ηλεκτρονικό pH-μετρο
- Ηλεκτρικός Αποστειρωτήρας Ατμού (αυτόκλειστο της Webeco)
- Υδατόλουτρο (Kotterman)
- Συσκευή Ομογενοποίησης (Stomacher)
- Καμινέτο γκαζιού
- Ψεκαστήρας με οινόπνευμα
- Τρυβλία για μικροβιολογικές αναλύσεις
- Ειδικές αποστειρωμένες σακούλες για ομογενοποίηση
- Αποστειρωμένα σωληνάκια των 10 ml με αντίστοιχο στατό
- Πουάρ
- 2 Πιπέτες σε 1000μL και 100μL με τα αντίστοιχα tips
- Αλουμινόχαρτο

4.2.2 Πειραματική Διαδικασία

Μικροβιολογική Ανάλυση στη Μαγιά (Ξηρή Bifidobacterium)

Για την μικροβιολογική ανάλυση παραλαμβάνονται 0,6g ξηρού δείγματος, αραιώνονται σε 6mL αποστειρωμένου υδατικού διαλύματος αλάτων (Ringer) σε θερμοκρασία 22°C και ομογενοποιείται σε ένα Stomacher για 5 min. Οι πληθυσμός των κυττάρων απαριθμούνται έπειτα από την καλλιέργειά τους σε MRS άγαρ εμπλουτισμένο με 0,5 g/L *L*-κυστεΐνη·HCl. Το δείγμα επωάζεται για 48 h στους 37°C.

Γαλακτωματοποίηση

Όλα τα γυάλινα σκεύη και τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στα πρωτόκολλα ήταν αποστειρωμένα στους 121°C για 15 min. Για την εκτέλεση των πειραμάτων παρασκευάστηκε μίγμα το οποίο περιείχε 4% w/v αλγινικό νάτριο και 0,1% καλλιέργειας. Το μίγμα αναμίχθηκε με λάδι (3:1v/v), που περιείχε Tween 80 0,02%w/v. Στη συνέχεια, το μίγμα αναδεύεται έντονα μέχρι που γαλακτωματοποιείται. Με την προσθήκη υδατικού διαλύμα κλωριούχου ασβεστίου 0,1mol/L που προστίθεται γρήγορα κατά μήκος της πλευράς του δοχείου πραγματοποιείται ο διαχωρισμός των φάσεων του γαλακτώματος ελαίου/ύδατος. Το μίγμα αφέθηκε προς αποκατάσταση της ισορροπίας για 30 min ώστε τα σφαιρίδια ασβεστίου-αλγινικού να διαχωριστούν και να εγκατασταθούν στον πυθμένα της στιβάδας του κλωριούχου ασβεστίου. Ακολούθησε διήθηση της ελαιώδους στιβάδας και συλλέχθηκαν σφαιρίδια τα οποία ξεπλήθηκαν με αλατούχο διάλυμα 0,9%w/v που περιείχε 5%v/v γλυκερόλη. Τα σφαιρίδια αποθηκεύτηκαν στους 4°C.

Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για τους υπόλοιπους διάφορους φορείς εγκλεισμού (χιτοζάνη, κ-καραγεννάνη, ξανθάνη, κυκλοδεξτρίνη).

Spray drying

Όλα τα γυάλινα σκεύη και τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές πορείες ήταν αποστειρωμένα στους 121°C για 15 min. Αρχικά παρασκευάστηκε μίγμα με 10%w/v ολικών στερεών (5,7g φορέας εγκλεισμού, 4,3g καλλιέργεια). Το μίγμα αναδεύτηκε για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Στην συνέχεια το μίγμα ξηράνθηκε με ψεκασμό (Tinlet= 145°C, Toutlet=75-80°C, Pump=40-50%, Aspirator=80).

Freeze drying

Όλα τα γυάλινα σκεύη και τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές πορείες ήταν αποστειρωμένα στους 121°C για 15 min. Αρχικά παρασκευάστηκε μίγμα που περιείχε 2%w/v αλγινικό και 3g καλλιέργεια. Το μίγμα αναμίχθηκε με 500mL χλωριούχου ασβεστίου συγκέντρωσης 0,1mol/L και αφέθηκε προς αποκατάσταση της ισορροπίας για 30 min ώστε να σχηματιστούν σφαιρίδια. Τα σφαιρίδια καταψύχθηκαν στους -40°C για 24h.

Στην συνέχεια το μίγμα τοποθετήθηκε προς ξήρανση με κατάψυξη. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τους άλλους φορείς εγκλεισμού (χιτοζάνη, κ-καραγεννάνη, ξανθάνη, κυκλοδεξτρίνη).

Μικροβιολογική Ανάλυση στα Εγκλεισμένα Βακτήρια

Όλα τα γυάλινα σκεύη καθώς και τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στα πρωτόκολλα αποστειρώνονταν στους 120°C για 20 min. Για τον προσδιορισμό των βιώσιμων ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: 1g δείγματος εγκλεισμένων βακτηρίων απελευθερώθηκαν και αραιώνεται σε 9mL Ringer. Ακολούθησε ομογενοποίηση σε ένα stomacher για 5 min.

Ο πληθυσμός των κυττάρων απαριθμήθηκαν έπειτα από την καλλιέργειά τους σε MRS άγαρ εμπλουτισμένο με 0,5g/L *L*-κυστεΐνη·HCl. Το δείγμα επώαστηκε για 48 h στους 37°C.

Παραγωγή Γιαουριού

Για την παρασκευή γιαουριού χρησιμοποιήθηκε ομογενοποιημένο πλήρες γάλα. Αρχικά θερμάνθηκε στους 80-85°C για 20 min. Στη συνέχεια ακολούθησε ψύξη στους 45°C και εμβολιάστηκε με την προβιοτική καλλιέργεια η οποία προστέθηκε είτε ως ελεύθερη ή εγκλεισμένη.

Το pH της ζύμωσης καταγράφεται ανά 10min για 4,5h. Τα κύπελλα γιαουριού (100mL) αποθηκεύτηκαν στους 5°C προς περαιτέρω αναλύσεις (μικροβιολογικές, υφή, ιξώδες).

Μικροβιολογική Ανάλυση Γιαουριού

Ακολουθήθηκε η διαδικασία της μικροβιολογικής ανάλυσης στα εγκλεισμένα βακτήρια όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο εδάφιο.

4.2.3 Αναλύσεις – Μετρήσεις

Ανάλυση Υφής

Για τον προσδιορισμό της σκληρότητας των γιαουριών χρησιμοποιήθηκε ο αναλυτής υφής TA-XT2, με προσαρμοσμένη, για τις ανάγκες των μετρήσεων, λεπίδα κοπής (βλ. Σχήμα 4.1).

Σχήμα 4.1

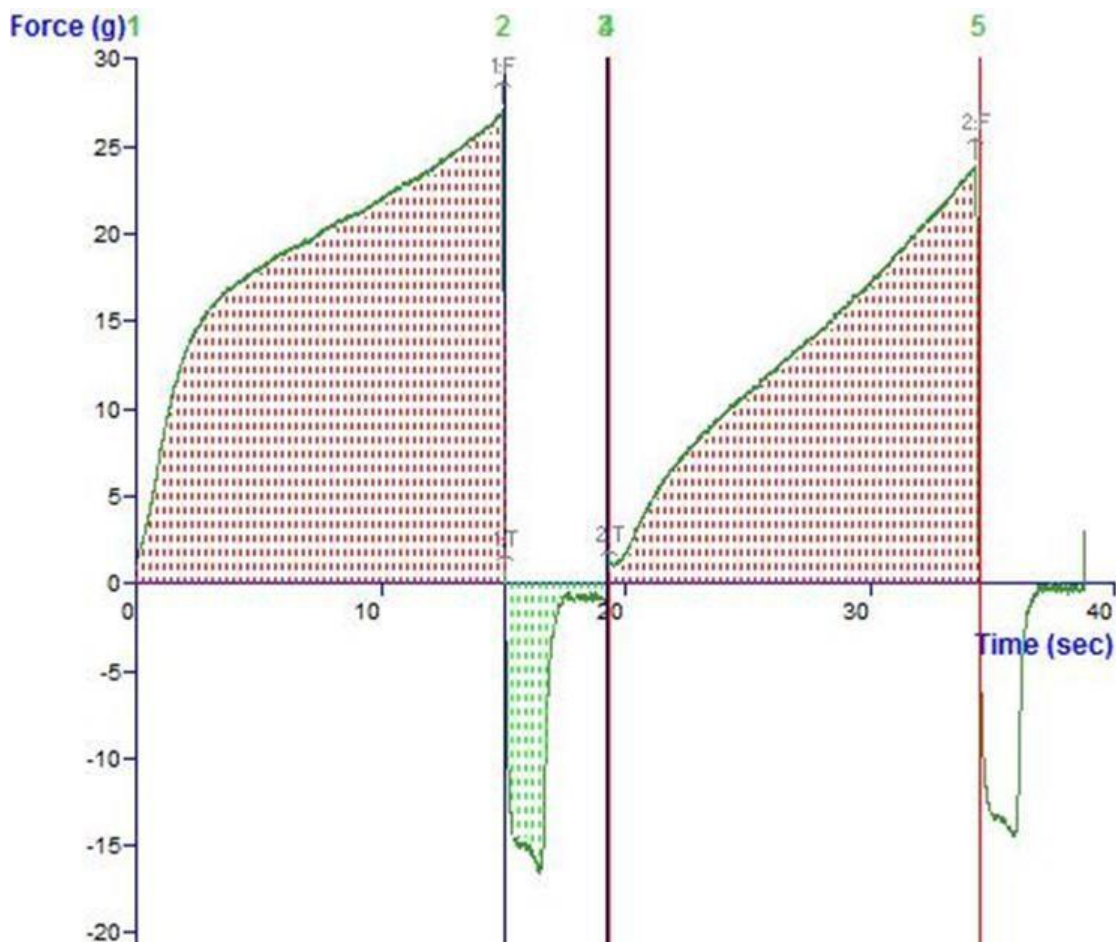
Αναλυτής υφής TA-XT2 με προσαρμοσμένη λεπίδα κοπής



Οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της αντικειμενικής υφής είναι:

- Σκληρότητα: Η απαιτούμενη δύναμη για να συμπιεστεί ένα τρόφιμο μεταξύ των γομφίων του στόματος. Στο διάγραμμα αντιστοιχεί στη μέγιστη κορυφή που παρουσιάζεται κατά την πρώτη διείσδυση του στελέχους στο τρόφιμο.
- Συνεκτικότητα: Η δύναμη των δεσμών που συγκροτούν ένα τρόφιμο. Εκφράζεται ως ο λόγος του έργου της δεύτερης συμπίεσης προς το έργο της πρώτης συμπίεσης. Στο διάγραμμα αντιστοιχεί στο λόγο των εμβαδών $E3 E1$.
- Προσκολλησιμότητα: Η ενέργεια που απαιτείται για να αποκολληθεί ένα τρόφιμο από μία επιφάνεια. Στο διάγραμμα αντιστοιχεί στο εμβαδόν $E2$.
- Κομμιώδες : αποτελεί το γινόμενο της συνεκτικότητας επί την σκληρότητα

Διάγραμμα 4.1: Τυπικό διάγραμμα ανάλυσης υφής σε γιαούρτι



Μέτρηση και καταγραφή τιμών pH

Κατά την διάρκεια της ζύμωσης του γάλακτος προς γιαούρτι καταγραφόταν οι τιμές pH του δείγματος με ηλεκτρονική συσκευή καταγραφής pH.

Μέτρηση Ιξώδους

Το ιξώδες του γιαουρτιού μετράται με ιξωδόμετρο Brookfield την ίδια μέρα της ζύμωσης του καθώς και έπειτα από την παραμονή του γιαουρτιού στους 4°C για 24 h.

Μικροβιολογικά

Οι μικροβιολογικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε ειδικό πάγκο εργασίας με τη μέθοδο της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε τρυβλία με θρεπτικό υλικό και την τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων.

- *Προετοιμασία του ειδικού πάγκου εργασίας*

Για την πραγματοποίηση αξιόπιστων μικροβιολογικών αναλύσεων σε οποιοδήποτε τρόφιμο είναι απαραίτητη η επίτευξη ασηπτικών συνθηκών τόσο στον ειδικό πάγκο εργασίας, όσο και στον περιβάλλοντα χώρο γύρω από αυτόν. Για τον σκοπό αυτό ο πάγκος εργασίας ήταν κλειστός με απαγωγό αερίων και αποστειρώνόταν με οινόπνευμα ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Ειδικότερα, πριν την έναρξη των πειραματικών εργασιών ο πάγκος αποστειρώνόταν πάντα με διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης περιεκτικότητας 93 % v/v, ενώ κατά τη διάρκεια των μικροβιολογικών αναλύσεων χρησιμοποιούνταν φλόγα από μικρό καμινέτο γκαζιού για τη συντήρηση των ασηπτικών συνθηκών εντός του πάγκου.

- *Παρασκευή και αποστείρωση του υποστρώματος*

Τα υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για μικροβιολογικές αναλύσεις περιείχαν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροοργανισμών.

Συγκεκριμένα, στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν μετρήθηκαν τα οξυγαλακτικά βακτήρια με το επιλεκτικό υπόστρωμα de Man-Rogosa-Sharpe (MRS, Merk VM978860-812). Κατά τη δειγματοληψία και στην τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων χρησιμοποιήθηκε ως μέσο αραιώσης ο ορός Maximum Recovery Diluent for microbiology (Ringer, Oxoid CM0733). Αφού παρασκευασθούν τα παραπάνω διαλύματα, μεταφέρθηκαν σε κωνικές φιάλες και αναδεύτηκαν ελαφρά προς ομογενοποίηση.

Στη συνέχεια, οι κωνικές φιάλες προετοιμάστηκαν (πωματισμός με βαμβάκι και επικάλυψη με αλουμινόχαρτο) και τοποθετήθηκαν στον αποστειρωτή ατμού μαζί με το σιφώνιο ακριβείας διαβαθμισμένου όγκου των 10mL και τα tips (τα οποία έχουν επίσης επικαλυφθεί με αλουμινόχαρτο). Η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε στους 120°C για 20min.

Μετά το πέρας της αποστείρωσης το υπόστρωμα τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο και αφέθηκε ώστε η θερμοκρασία να είναι περίπου 60 °C ενώ ο ορός Ringer ψύχθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατόπιν, στους αποστειρωμένους δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετήθηκαν 9mL διαλύματος Ringer με αποστειρωμένο σιφωνίου διαβαθμισμένου όγκου. Οι εργασίες αυτές διεκπαιρεύθηκαν στον ειδικό πάγκο εργασίας και όσο το δυνατόν πιο κοντά στη φλόγα.

- *Δειγματοληψία*

Στον πάγκο εργασίας τοποθετήθηκε ο ηλεκτρονικός ζυγός, αφού έχει απολυμανθεί με διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης 93 % v/v. Στον ηλεκτρονικό ζυγό τοποθετήθηκε ποτήρι ζέσεως των 500mL και μέσα σε αυτό μια ειδική αποστειρωμένη σακούλα, η οποία έχει ανοιχθεί ελαφρά με προσοχή έχοντας έρθει σε επαφή μόνο με την εξωτερική της επιφάνεια προς αποφυγή μόλυνσης του εσωτερικού της. Η διαδικασία της δειγματοληψίας περιελάμβανε απολύμανση των χεριών με οινόπνευμα, της σπαθίδας με οινόπνευμα και ανάφλεξη.

Στη συνέχεια, το δείγμα ανοίχθηκε προσεκτικά και όσο το δυνατόν πιο κοντά στη φλόγα. Με τη βοήθεια της σπαθίδας τοποθετούνταν ποσότητα 1 g του δείγματος στο εσωτερικό της σακούλας. Ακολουθούσε η προσθήκη 9mL διαλύματος Ringer και ομογενοποίηση για 5 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

- *Τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων*

Δοκιμαστικοί σωλήνες που περιείχαν 9mL Ringer τοποθετούνταν στο ειδικό στατό στη σειρά. Από το ομογενοποιημένο δείγμα λαμβάνονταν 1mL διαλύματος με τη βοήθεια πιπέτας ακριβείας και τοποθετούνταν στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα. Στη συνέχεια, λαμβάνονταν 1mL από το διάλυμα του δοκιμαστικού σωλήνα και μεταφέρονταν στον επόμενο. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για τέτοιο (ικανό) αριθμό αραιώσεων, ανάλογα με την αλλοίωση που αναμένεται να έχει το αρχικό δείγμα.

- *Ανάπτυξη μικροοργανισμών στο επιλεκτικό υπόστρωμα MRS*

Από το διάλυμα του πρώτου δοκιμαστικού σωλήνα λαμβάνονταν 1 mL ομογενοποιημένου διαλύματος και μεταφέρονταν σε άδειο αποστειρωμένο τρυβλίο. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για όλες τις διαδοχικές αραιώσεις και πραγματοποιούνταν πάντα κοντά στην φλόγα. Στη συνέχεια, το υπόστρωμα MRS ψύχεται ελαφρώς και διανέμεται μέρος του στα τρυβλία (τοποθετείται ποσότητα ικανή να καλύψει την επιφάνεια του τρυβλίου και να δημιουργήσει λεπτή στοιβάδα). Τα τρυβλία κλείστηκαν με τα καπάκια τους και ανακινήθηκαν προσεκτικά, ώστε να ισοκατανεμηθεί στον όγκο του υποστρώματος. Το υπόλοιπο υπόστρωμα επανατοποθετήθηκε στο υδατόλουτρο και τα τρυβλία αφήνονται προς στερεοποίηση.

Μετά την στερεοποίηση ακολούθησε και δεύτερη επίστρωση όπως προηγουμένως, ώστε κατά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών των τρυβλίων αυτών να επικρατούν αναερόβιες συνθήκες. Τα τρυβλία αφήθηκαν ξανά να στερεοποιηθούν και στη συνέχεια κλείστηκαν με τα καπάκια τους, αναστράφηκαν και τοποθετήθηκαν σε σακούλες. Τέλος τοποθετήθηκαν σε επωαστήρα σε Θερμοκρασία 35 °C για 48h.

4.3 Στατιστική Επεξεργασία

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων γίνεται με τη βοήθεια του προγράμματος STATISTICA 12.0 (StatSoft, Inc.).

Για την εύρεση των παραγόντων με σημαντική επίδραση σε κάθε ένα από τα παραπάνω εξεταζόμενα χαρακτηριστικά ποιότητας των γιαουρτιών πραγματοποιούνται, σε κάθε φύλλο χωριστά, αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA). Σε κάθε χαρακτηριστικό εξετάζεται η επίδραση των παραγόντων, το είδος εγκλειστικού και ο τύπος (ή είδος) εμβολιασμού. Τέλος, σε κάθε φύλλο γίνεται ανάλυση του πειράματος στις κύριες συνιστώσες (PCA) για τον προσδιορισμό των παραμέτρων με τη μεγαλύτερη επίδραση στο πείραμα, αλλά και τον έλεγχο για ύπαρξη θετικών ή αρνητικών συσχετίσεων μεταξύ τους.

Κεφάλαιο Πέμπτο: Αποτελέσματα - Συζήτηση

Για κάθε ένα από τα εξεταζόμενα χαρακτηριστικά ποιότητας των γιαουρτιών (υφή, pH, ιξώδες, μικροβιολογικά χαρακτηριστικά) παρουσιάζονται διαγράμματα που δείχνουν τη μεταβολή του ανά σειρά δειγμάτων συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45 °C και σχολιάζονται σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας των μετρήσεων (ANOVA). Ακολουθεί η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA), καθώς και τα αντίστοιχα συμπεράσματα.

Σημείωση: Τα λεπτομερή αποτελέσματα των αναλύσεων διακύμανσης (ANOVA) που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, παρουσιάζονται σε πίνακες στο Παράρτημα.

5.1 Μικροβιολογικά

Στον παρακάτω πίνακα παραθέτονται τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών μετρήσεων για τα εγκλεισμένα δείγματα.

Πίνακας 5.1
Μικροβιολογική ανάλυση δειγμάτων

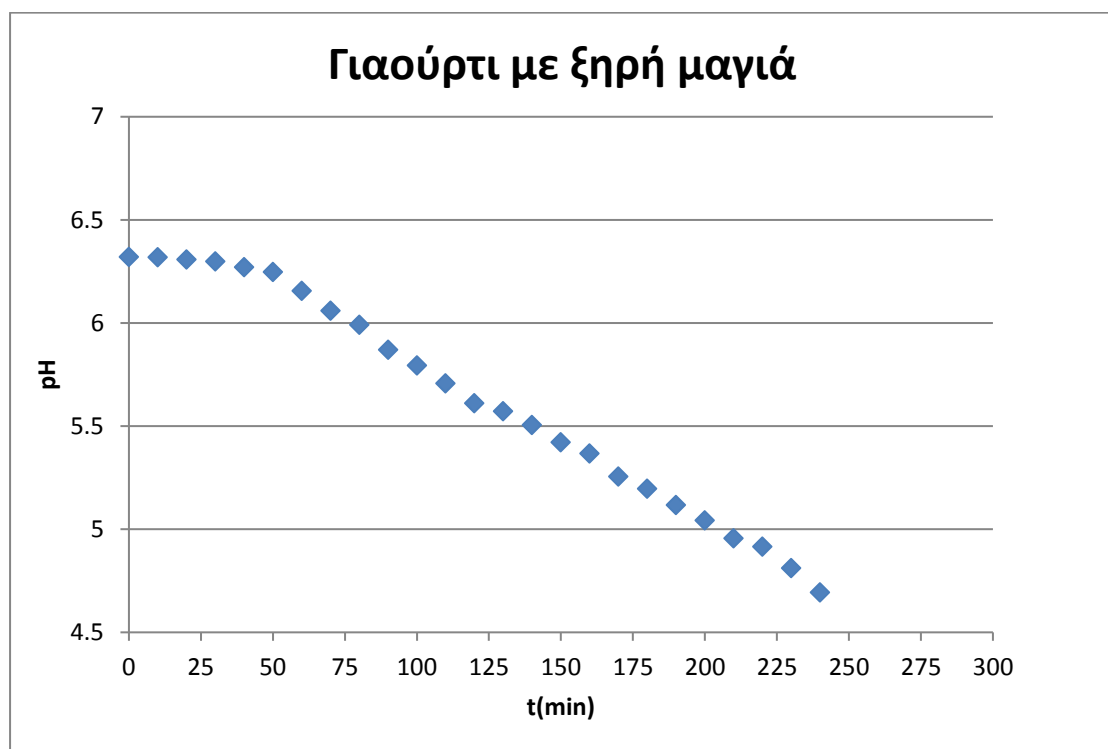
| Δείγματα | Εγκλεισμένα προϊόντα (cfu/g) |
|---------------------------|---|
| Ξηρή μαγιά | $6 \cdot 10^6$ |
| Γ Αλγινικό νάτριο | 10^6 |
| Γ Χιτοζάνη | $2 \cdot 10^6$ |
| Γ Ξανθάνη | 10^6 |
| Γ Κ-καραγεννάνη | $3 \cdot 10^6$ |
| Γ Κυκλοδεξτρίνη | $4 \cdot 10^6$ |
| Fr Αλγινικό νάτριο | $2 \cdot 10^6$ |
| Fr Χιτοζάνη | 10^6 |
| Fr Ξανθάνη | $3 \cdot 10^6$ |
| Fr Κ-Καραγεννάνη | $4 \cdot 10^6$ |
| Fr Κυκλοδεξτρίνη | $5 \cdot 10^6$ |
| Sp Αλγινικό νάτριο | $2 \cdot 10^5$ |
| Sp Χιτοζάνη | $5 \cdot 10^5$ |
| Sp Ξανθάνη | $4 \cdot 10^5$ |
| Sp Κ-καραγεννάνη | $5 \cdot 10^5$ |
| Sp Κυκλοδεξτρίνη | $8 \cdot 10^5$ |

5.2 Μετρήσεις τιμών pH

5.2.1 Ξηρή μαγιά

Από το διάγραμμα 5.1 παρατηρούμε ότι η τιμή του pH του γιαουρτιού μειώνεται σταδιακά με μικρή κλίση στα πρώτα 50 min. Στην συνέχεια και μετά τα 60 min ο ρυθμός μείωσης της τιμής pH είναι μεγαλύτερος. Αυτό εξηγείται με βάση την εξέλιξη παρασκευής του γιαουρτιού και την επίδραση της καλλιέργειας. Για τα πρώτα 50 min η κλίση της ευθείας που διαγράφουν τα αντίστοιχα σημεία είναι $-0,0015$. Για τον υπόλοιπο χρόνο της ζύμωσης του γιαουρτιού η κλίση της ευθείας των υπολοίπων σημείων διαμορφώνεται σε τιμή $-0,0078$ όπου ο συντελεστής συσχέτισης της γραμμής παλινδρόμησης έχει τιμή $0,9975$.

Διάγραμμα 5.1
Μεταβολή της τιμής pH του γιαουρτιού με ξηρή μαγιά συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης σε θερμοκρασία 45°C



5.3 Γαλακτωματοποίηση

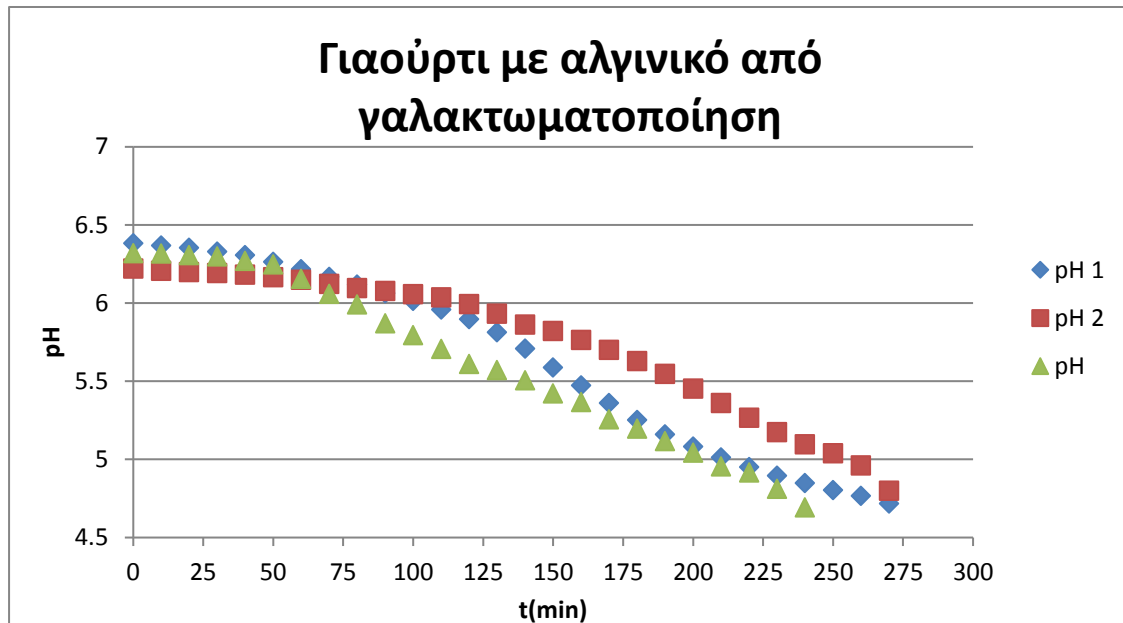
5.3.1 Αλγινικό νάτριο

Το pH 1 αντιστοιχεί σε δείγμα γιαουρτιού που έχει προστεθεί ποσότητα ίση με 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουν προστεθεί τόσα g εγκλεισμένης καλλιέργειας όσα απαιτούνταν ώστε το δείγμα να αποκτήσει ίδιο λόγο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Στο διάγραμμα 5.2 παρατηρείται η μείωση της κλίσης της ευθείας που ενώνει τις τιμές pH για τα πρώτα 125 min της διαδικασίας παρασκευής του γιαουρτιού, όταν η ποσότητα του αλγινικού νατρίου είναι τόση όση απαιτείται ώστε να επιτευχθεί λόγος cfu/γίδιος με το γιαούρτι ξηρής μαγιάς. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και με την προσθήκη 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας. Το αλγινικό νάτριο επιβραδύνει τον ρυθμό μείωσης του pH στο δείγμα στα πρώτα 125 min χωρίς όμως να είναι ικανό να εξισορροπήσει πλήρως την τιμή του pH σε μια πιο υψηλή.

Αυτό οφείλεται στην μοριακή δομή του αλγινικού άλατος. Το μετά νατρίου αλλάς της καρβονική ομάδα του αλγινικού συμπεριφέρεται ως μια ασθενής βάση που δρα ως ρυθμιστικός παράγοντας του pH. Η τελική τιμή pH του γιαουρτιού στην περίπτωση ξηρής μαγιάς αλλά και με την προσθήκη αλγινικού νατρίου δεν επηρεάστηκε. Η μείωση της τιμής του pH στο δείγμα με 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας γίνεται απότομα όταν παρέλθουν τουλάχιστον 150 min.

Διάγραμμα 5.2

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο από γαλακτωματοποίηση συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Πίνακας 5.2

Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο από γαλακτωματοποίηση

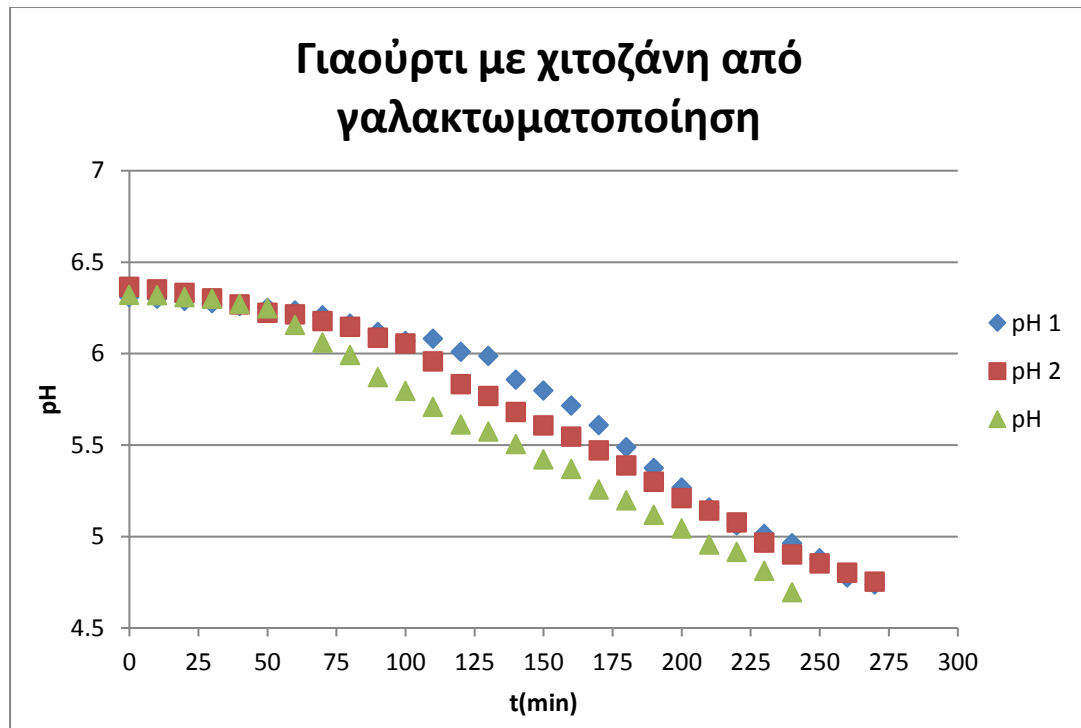
| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,04133 | -0,03644 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 201,2099 | 285,6928 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 662 | 670 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 691 | 699 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,233 | -0,245 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,613 | 0,688 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,652 | 0,968 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,399 | 0,463 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 5 | 6 |

5.3.2 Χιτοζάνη

Το pH 1 αντιστοιχεί σε δείγμα γιαουρτιού που έχει προστεθεί ποσότητα ίση με 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουν προστεθεί τόσα g εγκλεισμένης καλλιέργειας όσα απαιτούνταν ώστε το δείγμα να αποκτήσει ίδιο λόγο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Η συμπεριφορά του δείγματος στην καταγραφή των τιμών pH εξαρτάται από την μοριακή δομή της χιτοζάνης. Η συμπεριφορά είναι παρόμοια με αυτή του αλγινικού νατρίου με την μόνη διαφορά ότι ως ρυθμιστικός παράγοντας έχει μεγαλύτερη χωρητικότητα. Η τελική τιμή pH του γιαουρτιού στην περίπτωση ξηρής μαγιάς αλλά και με την προσθήκη αλγινικού νατρίου δεν επηρεάστηκε.

Διάγραμμα 5.3

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με χιτοζάνη από γαλακτωματοποίηση συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Πίνακας 5.3

Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με χιτοζάνη από γαλακτωματοποίηση

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,04225 | -0,0348 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 224,279 | 228,6548 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 672 | 678 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 701 | 710 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,154 | -0,186 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,813 | 0,775 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,468 | 0,512 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,381 | 0,352 |
| Μικροβιολογικά(cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 4 | 5 |

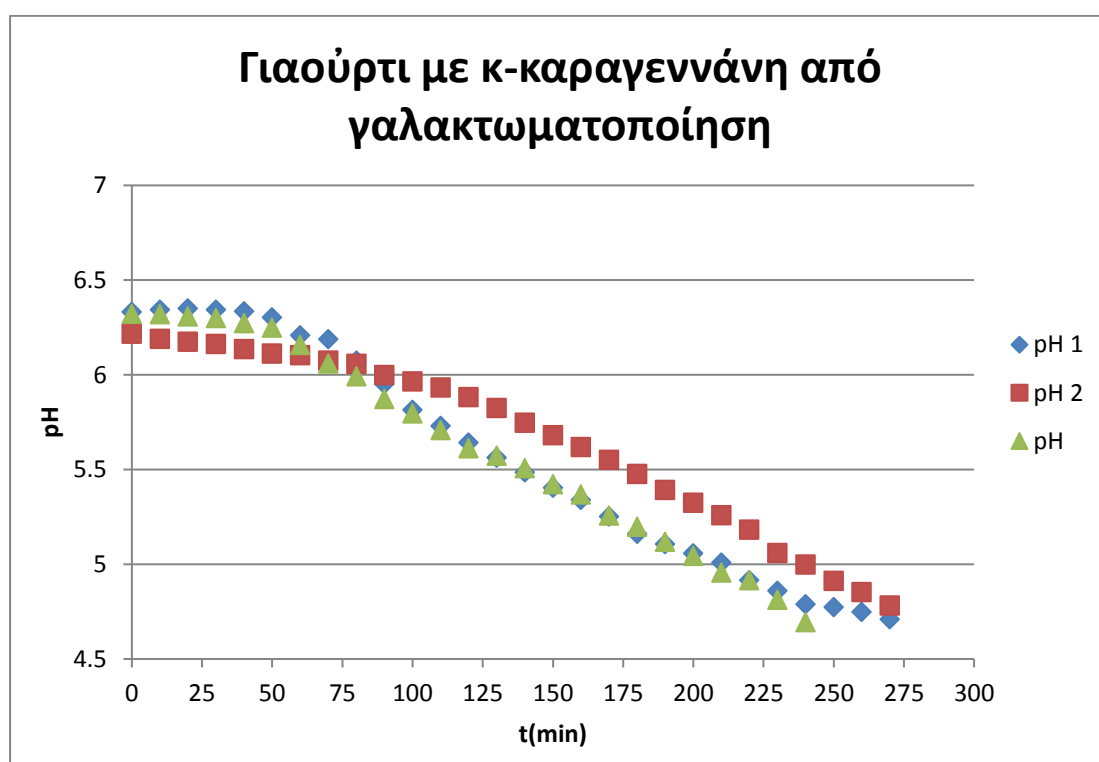
5.3.3 Κ-καραγεννάνη

Στο διάγραμμα 5.4 εμφανίζεται η μεταβολή στην τιμή του pH συναρτήσει του χρόνου γαλακτωματοποίησης. Το pH 1 αντιστοιχεί σε δείγμα γιαουρτιού που έχει προστεθεί ποσότητα ίση με 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουν προστεθεί τόσα g εγκλεισμένης καλλιέργειας όσα απαιτούνταν ώστε το δείγμα να αποκτήσει ίδιο λόγο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά.

Η μείωση της τιμής του pH στην περίπτωση της καραγεννάνης είναι πιο απότομη και συμβαίνει απότομα σε μικρότερο χρόνο αφού η κ-καραγεννάνη περιέχει σουφλωνικές ομάδες που συμπεριφέρονται ως όξινες ομάδες δίκως μεγάλη ρυθμιστική ικανότητα. Έτσι το pH του δείγματος και συγκεκριμένα για την περίπτωση pH 1 και αφού παρέλθει χρόνος περίπου 50 min μειώνεται με μεγαλύτερο ρυθμό.

Διάγραμμα 5.4

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη από γαλακτωματοποίηση συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Πίνακας 5.4
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη από
γαλακτωματοποίηση

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,03938 | -0,03264 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 174,1545 | 275,0669 |
| Ιξώδες (cP) μετά την ζύμωση | 730 | 658 | 665 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 671 | 680 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,148 | -0,196 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,774 | 0,801 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,440 | 0,452 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,340 | 0,371 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 4 | 6 |

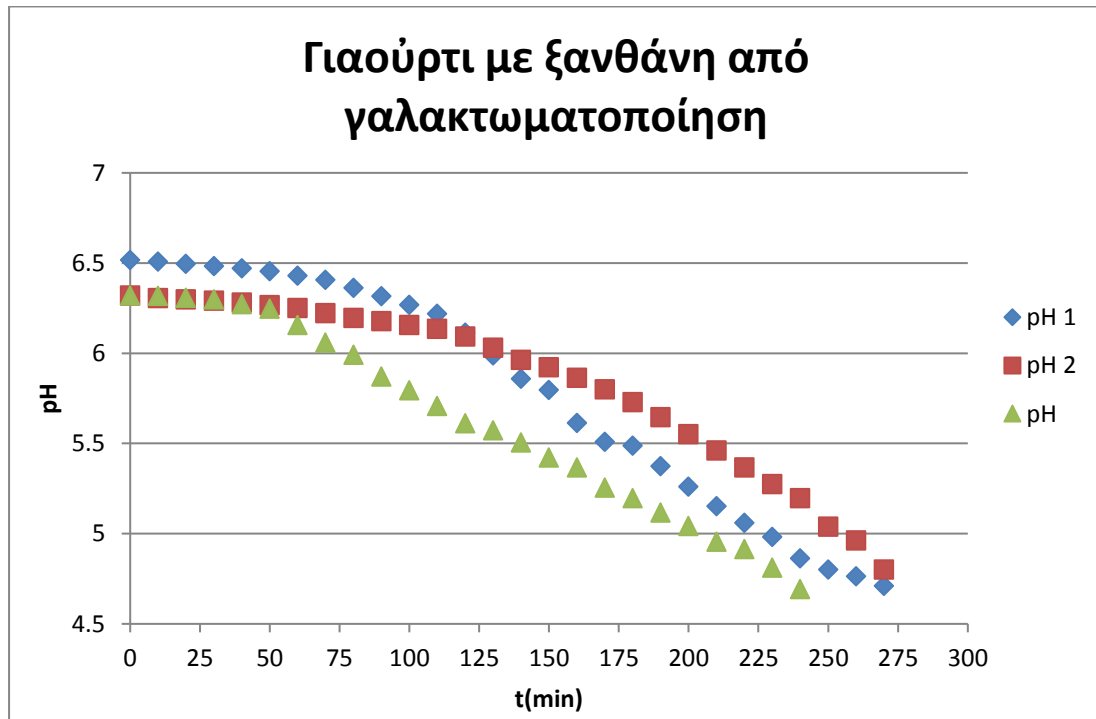
5.3.4 Ξανθάνη

Στο διάγραμμα 5.5 εμφανίζεται η μεταβολή στην τιμή του Ph συναρτήσει του χρόνου γαλακτωματοποίησης. Το pH 1 αντιστοιχεί σε δείγμα γιαουρτιού που έχει προστεθεί ποσότητα ίση με 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουν προστεθεί τόσα g εγκλεισμένης καλλιέργειας όσα απαιτούνταν ώστε το δείγμα να αποκτήσει ίδιο λόγο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά.

Η μείωση της τιμής του pH στην περίπτωση της ξανθάνης είναι πιο ομαλή και συμβαίνει απότομα περίπου μετά τα 120 min και για τα δύο δείγματα.

Διάγραμμα 5.5

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με ξανθάνη από γαλακτωματοποίηση συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



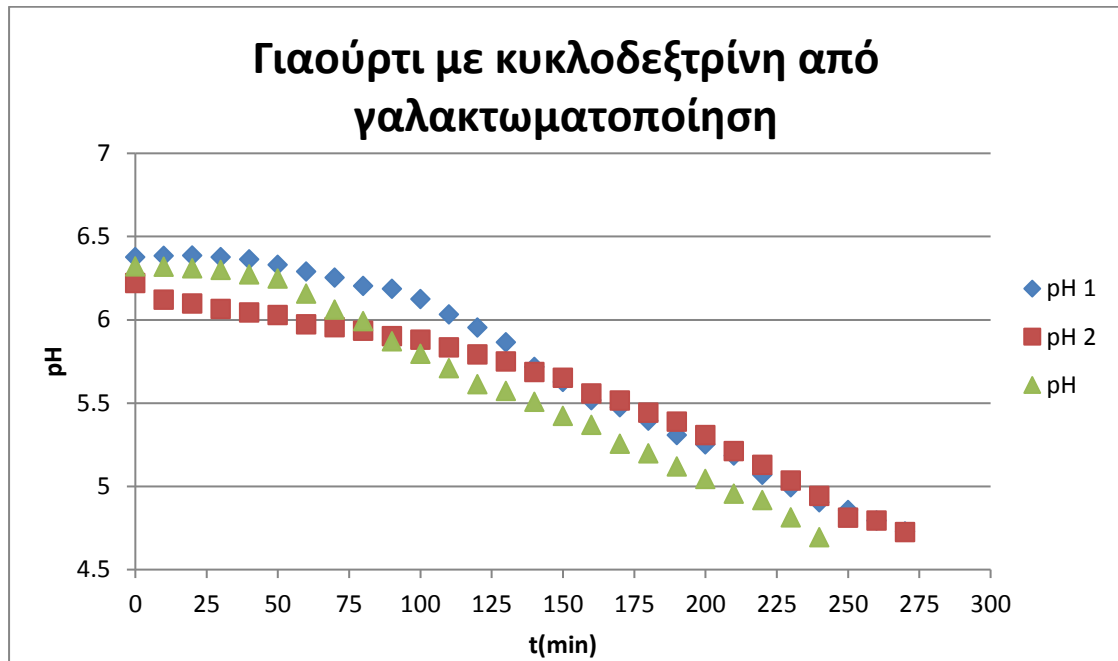
Πίνακας 5.5**Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με ξανθάνη από γαλακτωματοποίηση**

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,04701 | -0,04581 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 207,778 | 336,3855 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 672 | 674 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 695 | 703 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,218 | -0,188 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,614 | 0,698 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 1,011 | 1,123 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,621 | 0,645 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 4 | 6 |

5.3.5 Κυκλοδεξτρίνη

Στο διάγραμμα 5.6 εμφανίζεται η μεταβολή στην τιμή του Ph συναρτήσει του χρόνου γαλακτωματοποίησης. Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει ανάλογα g για να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Η χρήση κυκλοδεξτρίνης σε περισσότερα ισοδύναμα πέραν του 1g, έχει ως αποτέλεσμα την άμεση μείωση του pH του γιαουρτιού.

Διάγραμμα 5.6
Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη από γαλακτωματοποίηση
συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45οC



Πίνακας 5.6
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη από γαλακτωματοποίηση

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|----------|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,0395 | -0,03821 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 201,5137 | 391,913 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 668 | 675 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 685 | 690 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,149 | -0,124 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,622 | 0,611 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 1,297 | 1,325 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,807 | 0,875 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g)*10 ⁵ | 7 | 5 | 6 |

5.4 Σύγκριση αποτελεσμάτων σειράς πειραμάτων

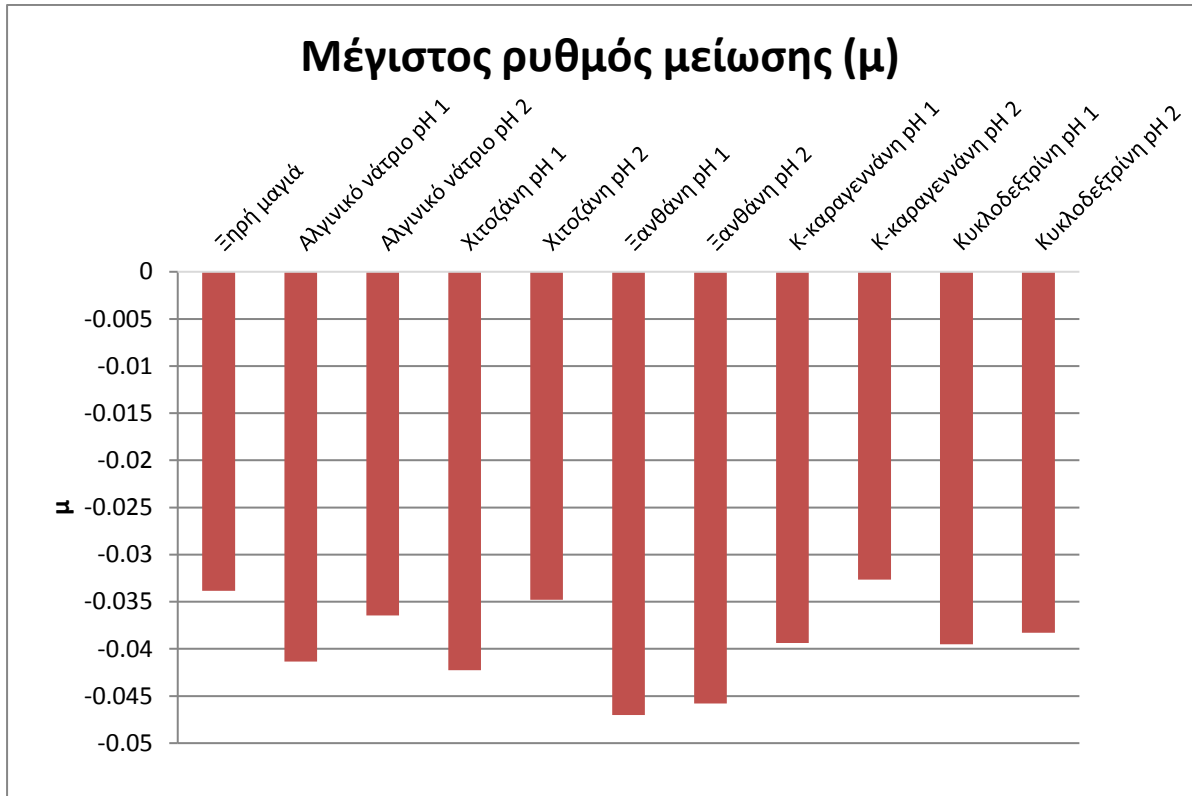
Στην ενότητα αυτή πραγματοποιείται στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων που αφορούν στην εξέλιξη της ζύμωσης και στα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού με εγκλεισμένα βακτήρια με την τεχνική της γαλακτωματοποίησης. Για την εύρεση των παραγόντων με σημαντική επίδραση σε κάθε ένα από τα παραπάνω εξεταζόμενα χαρακτηριστικά ποιότητας των γιαουρτιών πραγματοποιούνται αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA). Σε κάθε χαρακτηριστικό εξετάζεται η επίδραση των παραγόντων είδος εγκλειστικού και τύπος εμβολιασμού. Οι πίνακες που προκύπτουν από την ανάλυση διακύμανσης παρουσιάζονται στο παράρτημα.

5.4.1 Μέγιστος ρυθμός μείωσης pH

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το μ των γιαουρτιών επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ($p < 0,05$) και όχι από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.7

Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης pH των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος

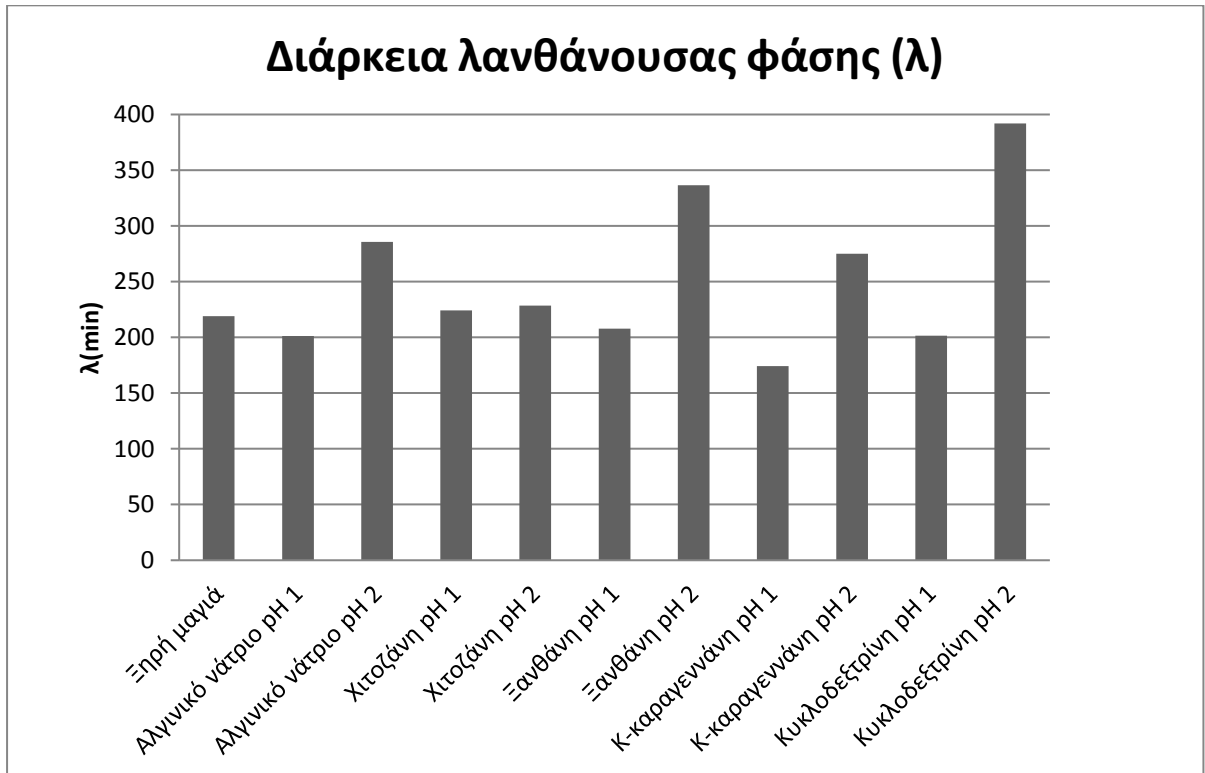


5.4.2 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης ζύμωσης (λ)

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το λ των γιαουρτιών επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ($p < 0,05$) και όχι από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.8

Η διάρκεια λανθάνουσας φάσης της ζύμωσης των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος

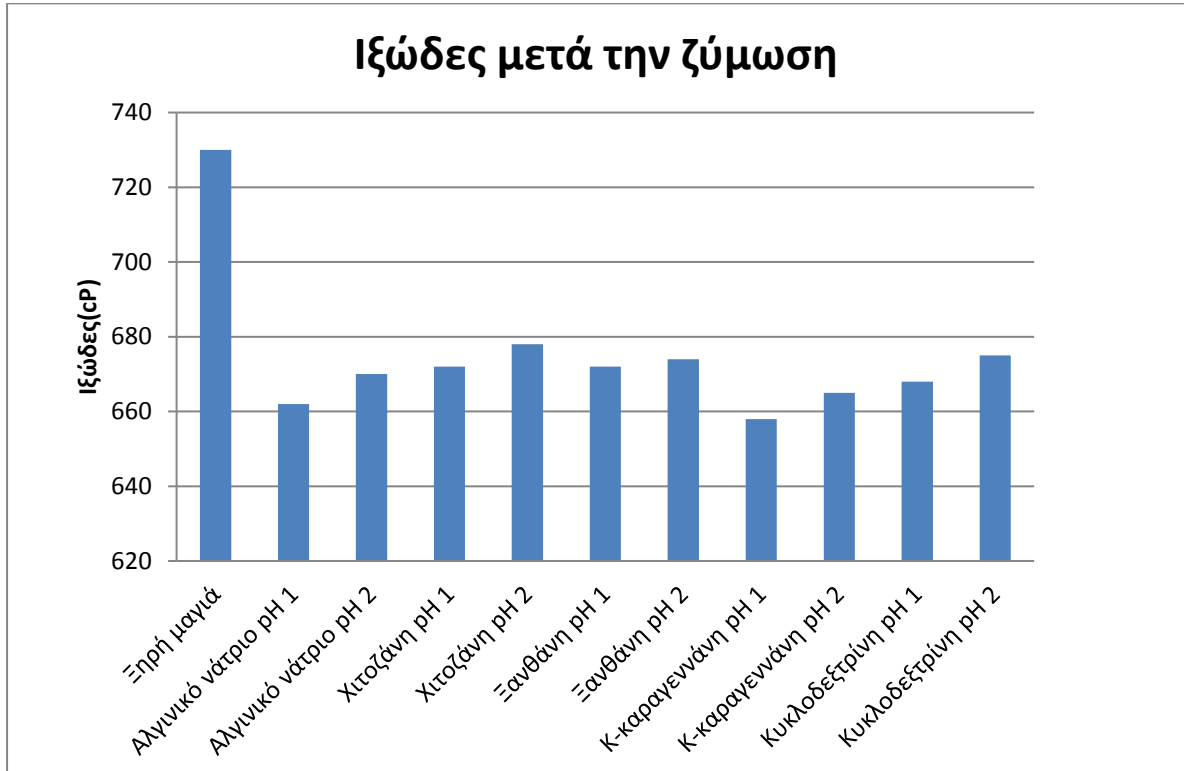


5.4.3 Ιξώδες γιαουρτιών μετά την ζύμωση

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε το ιξώδες των γιαουρτιών επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ($p < 0,05$) και όχι από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.9

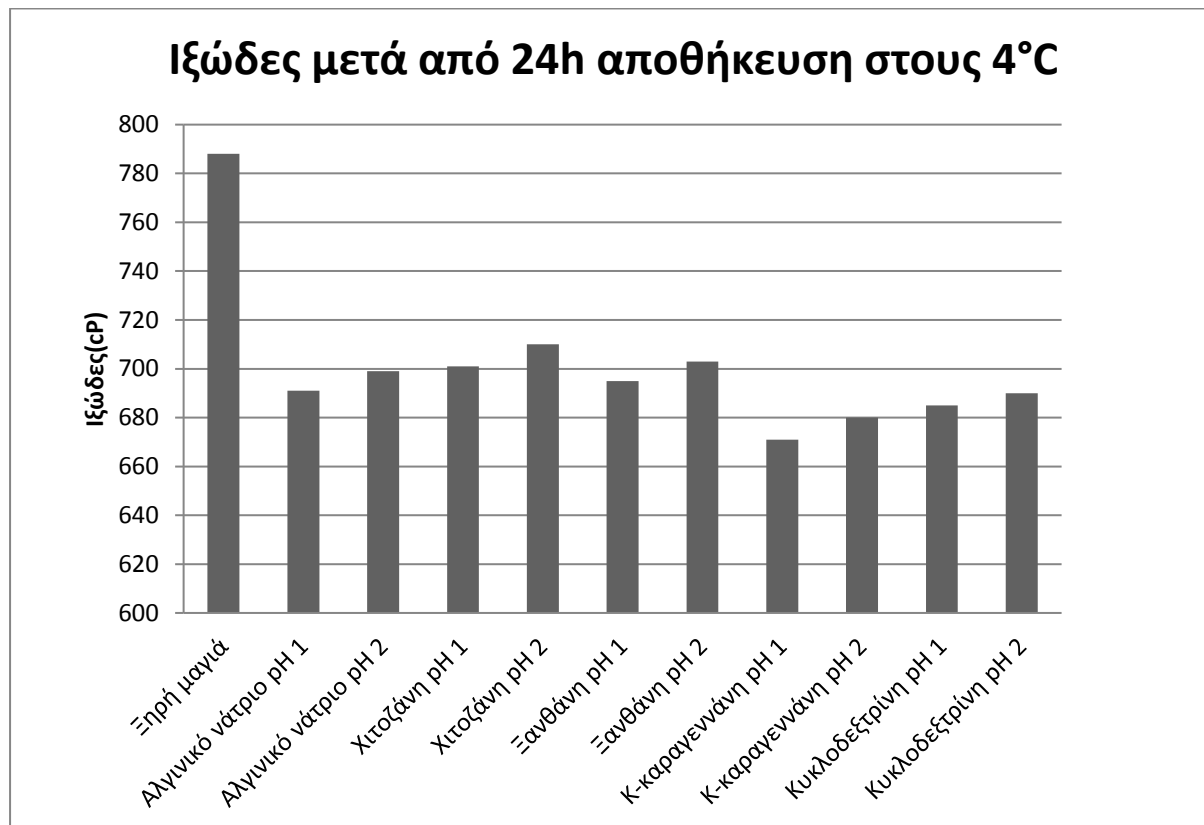
Το ιξώδες των γιαουρτιών μετά την ζύμωση με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος



5.4.4 Ιξώδες γιαουρτιών μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το ιξώδες των γιαουρτιών επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ($p < 0,05$) και όχι από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.10
Το ιξώδες των γιαουρτιών μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C με
εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτώματοποίηση και του τυφλού δείγματος

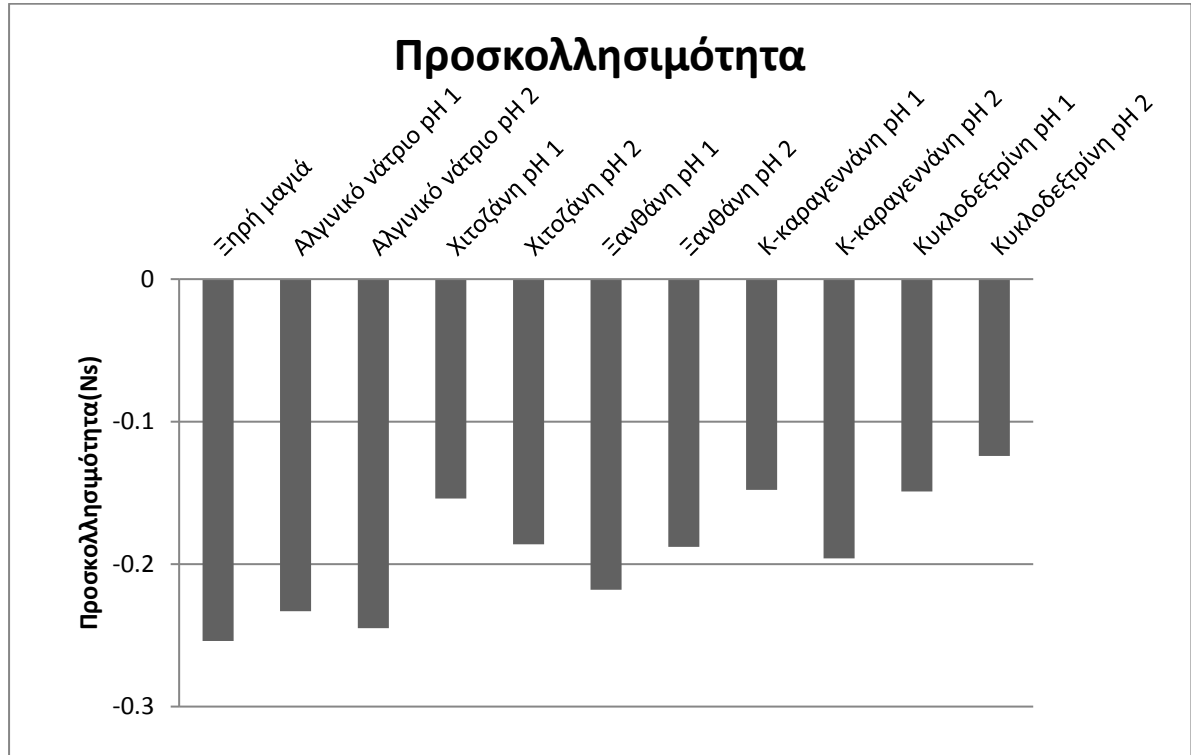


5.4.5 Προσκολλησιμότητα

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι η προσκολλησιμότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.11

Η προσκολλησιμότητα των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος

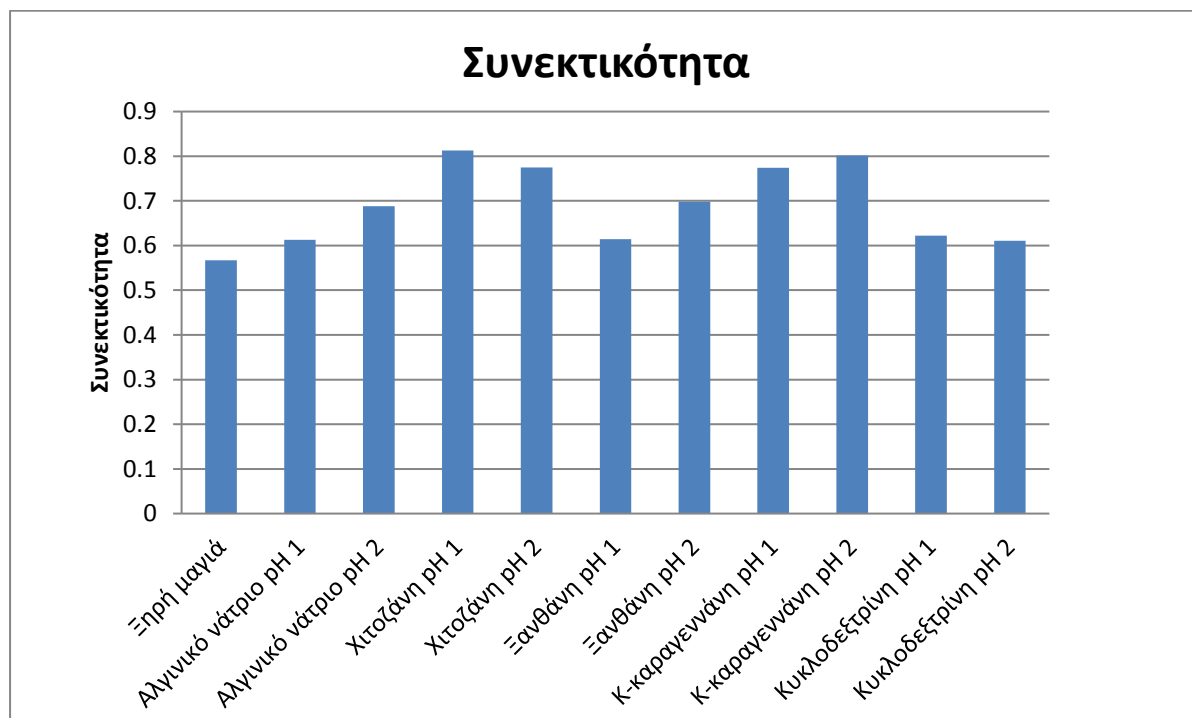


5.4.6 Συνεκτικότητα

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι η συνεκτικότητα των γιαουρτιών επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ($p < 0,05$) και όχι από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.12

Η συνεκτικότητα των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος

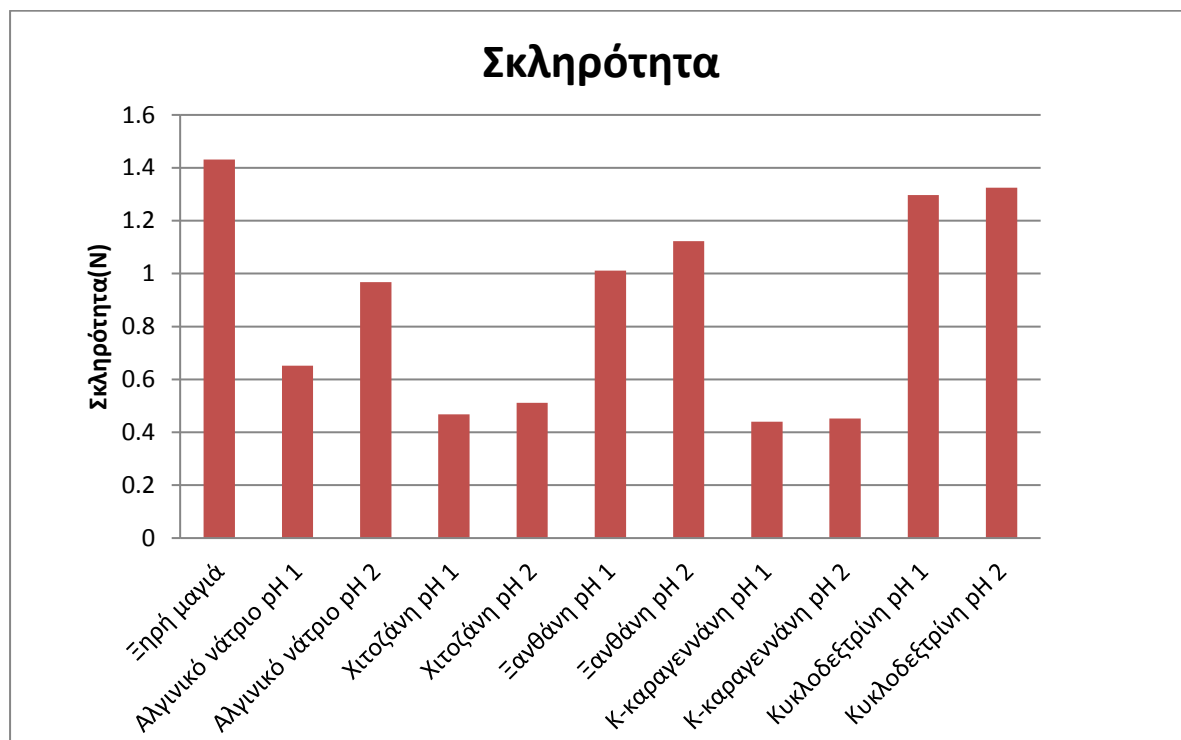


5.4.7 Σκληρότητα

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι η σκληρότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.13

Η σκληρότητα των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος

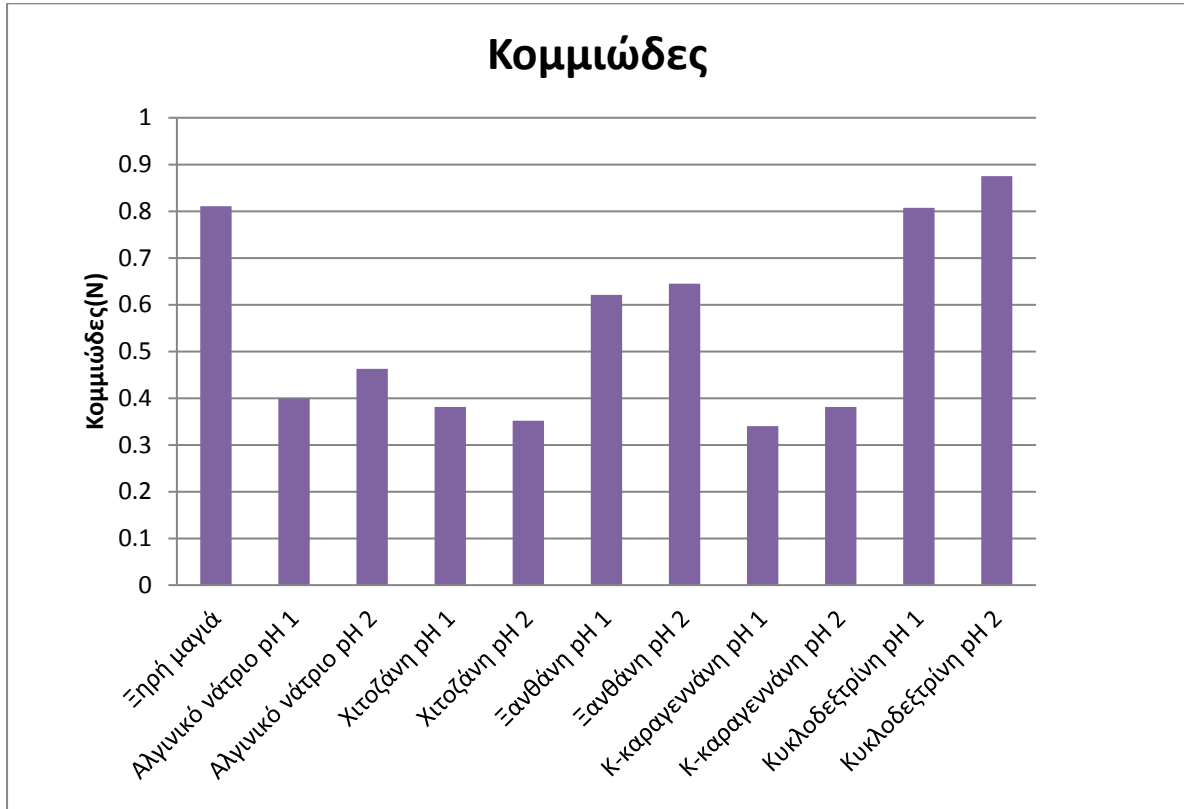


5.4.8 Κομμιώδες

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το κομμιώδες των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.14

Το κομμώδες των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος



5.4.9 Μικροβιακό φορτίο

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το μικροβιακό φορτίο των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.15
Το κομμιώδες των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από
γαλακτωματοποίηση και του τυφλού δείγματος



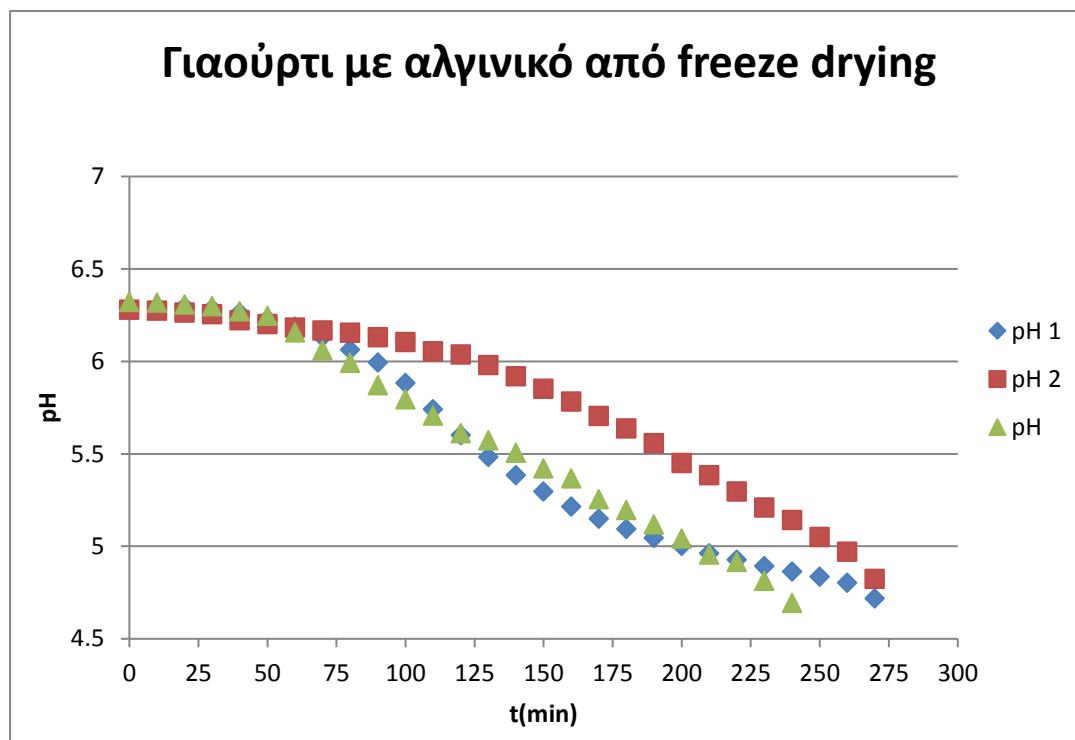
5.5 Freeze drying

5.5.1 Αλγινικό νάτριο

Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει ανάλογα g για να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Η εγκλεισμένη καλλιέργεια του 1g μετά τα 75 min επώασης επιφέρει απότομη αλλαγή της τιμής του pH σε σύγκριση με το δεύτερο δείγμα στο οποίο έχει προστεθεί μεγαλύτερη ποσότητα αλγινικού νατρίου.

Διάγραμμα 5.16

**Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο από freeze drying
συναρτήσεϊ του χρόνου ζύμωσης στους 45°C**



Πίνακας 5.7

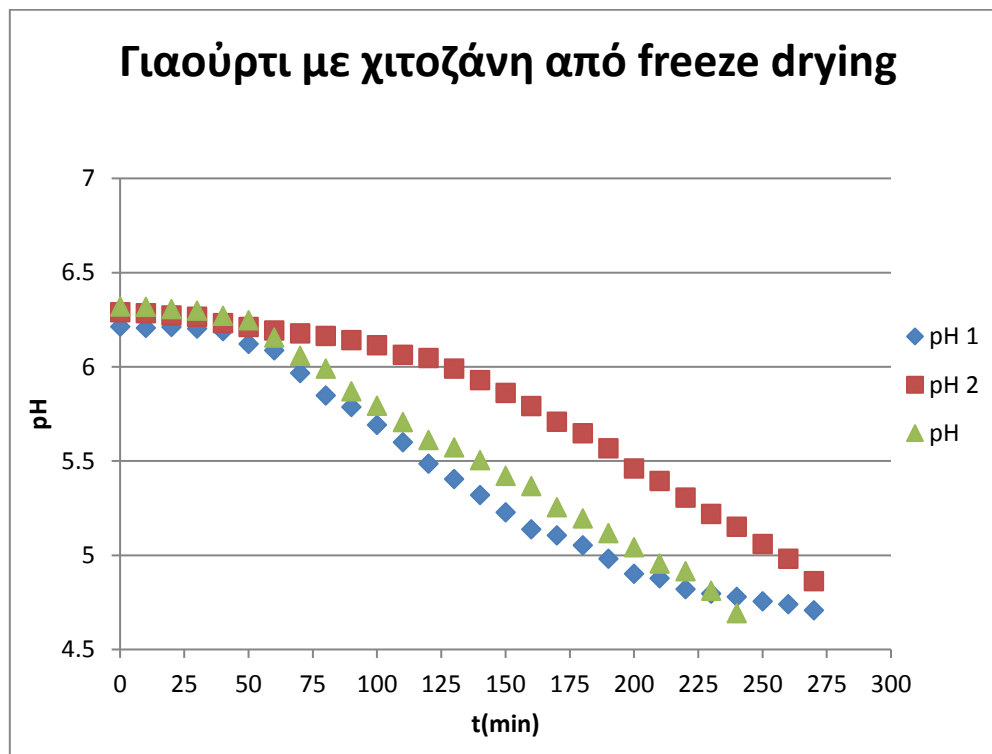
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο από freeze drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,04858 | -0,03618 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 152,4391 | 285,1673 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 592 | 619 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 645 | 678 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,189 | -0,283 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,686 | 0,687 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,589 | 0,693 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,321 | 0,473 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 4 | 5 |

5.5.2 Χιτοζάνη

Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει ανάλογα g για να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Η χιτοζάνη παρουσιάζει την ίδια συμπεριφορά στο freeze drying με αυτή του αλγινικού νατρίου

Διάγραμμα 5.17
Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με χιτοζάνη από freeze drying συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Πίνακας 5.8**Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με χιτοζάνη από freeze drying**

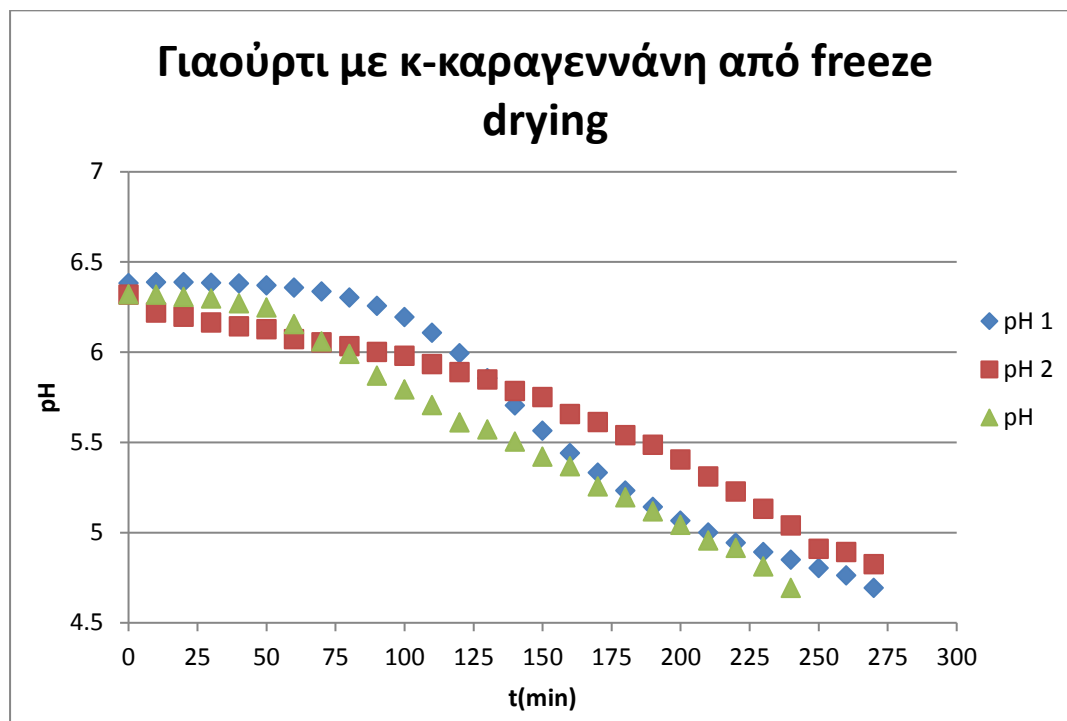
| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,03989 | -0,03548 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 159,0213 | 276,7824 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 602 | 638 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 659 | 673 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,322 | -0,315 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,604 | 0,633 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,634 | 0,678 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,377 | 0,394 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 3 | 4 |

5.5.3 Κ-καραγεννάνη

Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει ανάλογα g για να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Στην περίπτωση της κ-καραγεννάνης παρατηρείται ότι ενώ η τιμή pH του δείγματος στο οποίο έγινε εμβολιασμός 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας και για χρόνο περίπου 100 min δεν παρατηρείται έντονη μεταβολή του pH, στο δείγμα με μεγαλύτερη ποσότητα κ-καραγεννάνης η τιμή pH του δείγματος μειώνεται με σταθερό ρυθμό.

Διάγραμμα 5.18

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη από freeze drying
συναρτήσεϊ του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Πίνακας 5.9

Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη από freeze drying

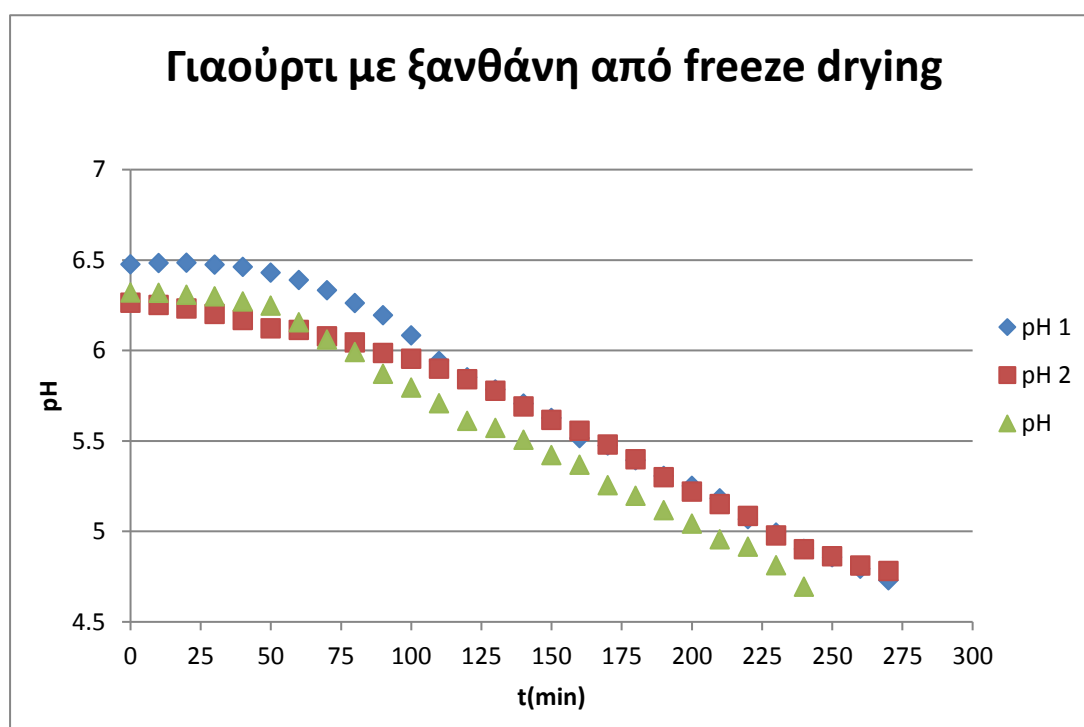
| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|----------|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,0569 | -0,03828 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 175,9268 | 391,9127 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 628 | 645 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 658 | 690 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,163 | -0,248 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,648 | 0,722 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,664 | 0,981 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,451 | 0,522 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 4 | 5 |

5.5.4 Ξανθάνη

Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει ανάλογα g για να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Το γιαούρτι με 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας έχει απότομη μείωση του pH μετά τα 75min.

Διάγραμμα 5.19

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με ξανθάνη από freeze drying συναρτήσεως του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



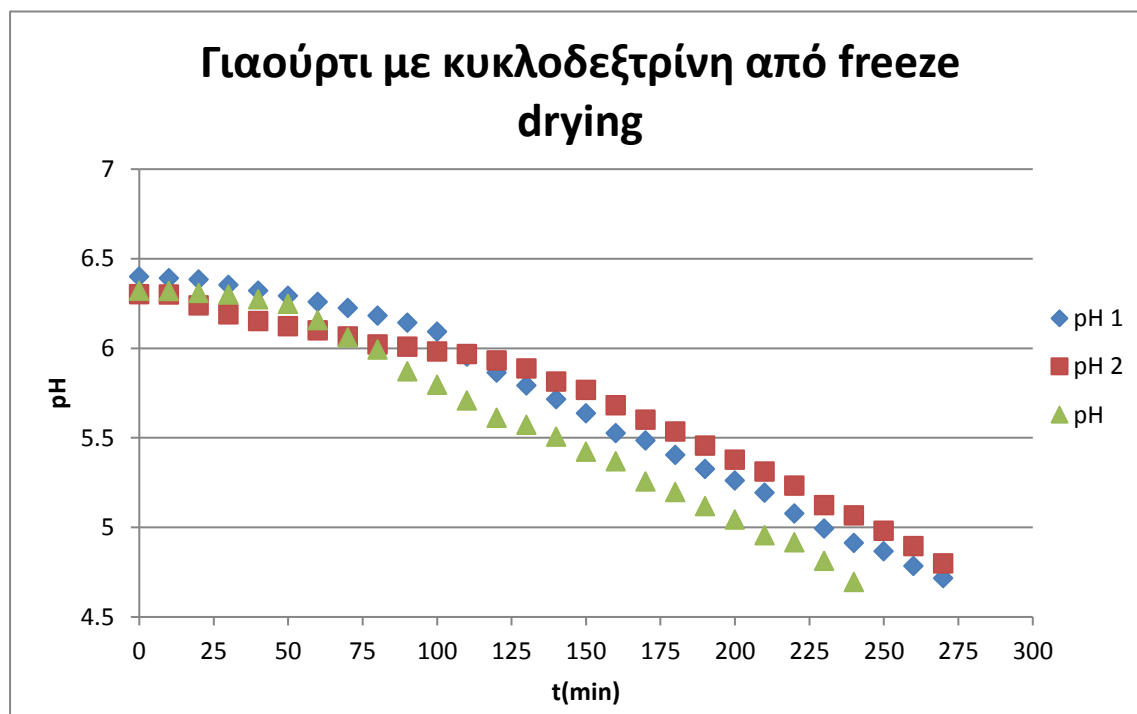
Πίνακας 5.10**Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με ξανθάνη από freeze drying**

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,03818 | -0,03261 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 196,942 | 242,555 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 632 | 660 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 665 | 678 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,358 | -0,221 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,703 | 0,662 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 0,875 | 1,033 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,562 | 0,631 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 5 | 6 |

5.5.5 Κυκλοδεξτρίνη

Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας ενώ το pH 2 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει ανάλογα g για να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Και τα δύο γιαούρτια έχουν μια ομαλή μείωση του pH.

Διάγραμμα 5.20
Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη από freeze drying
συναρτήσεϊ του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Πίνακας 5.10

Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη από freeze drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 |
|---|--------------|-----------------|-----------------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,03519 | -0,03682 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 220,308 | 378,7978 |
| Ιξώδες μετά την ζύμωση (cP) | 730 | 648 | 663 |
| Ιξώδες μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C (cP) | 788 | 671 | 680 |
| Προσκολλησιμότητα (Ns) | -0,254 | -0,212 | -0,296 |
| Συνεκτικότητα | 0,567 | 0,597 | 0,655 |
| Σκληρότητα (N) | 1,431 | 1,043 | 1,135 |
| Κομμιώδες (N) | 0,811 | 0,754 | 0,702 |
| Μικροβιολογικά (cfu/g) *10 ⁵ | 7 | 5 | 6 |

5.6 Σύγκριση αποτελεσμάτων σειράς πειραμάτων

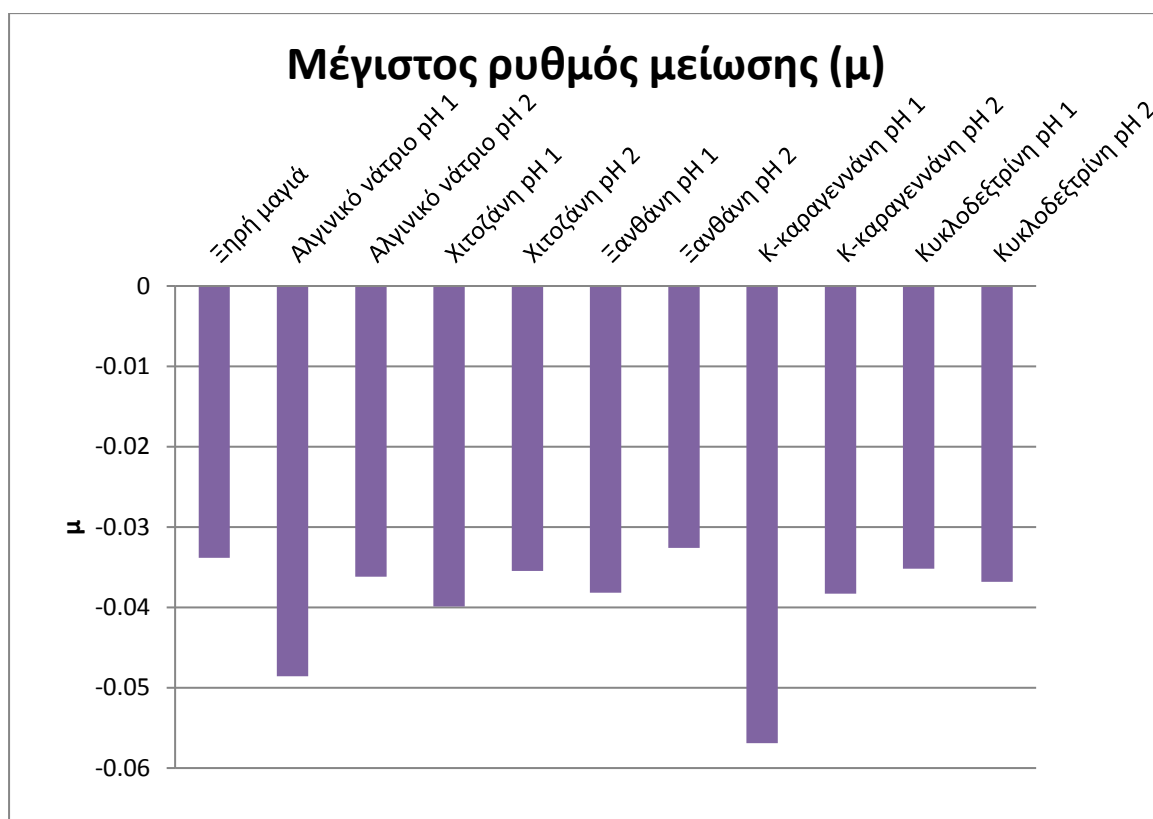
Στην ενότητα αυτή πραγματοποιείται στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων που αφορούν στην εξέλιξη της ζύμωσης και στα χαρακτηριστικά του γιαουρτιού με εγκλεισμένα βακτήρια με την τεχνική του freeze drying. Για την εύρεση των παραγόντων με σημαντική επίδραση σε κάθε ένα από τα παραπάνω εξεταζόμενα χαρακτηριστικά ποιότητας των γιαουρτιών πραγματοποιούνται αναλύσεις διακύμανσης (ANOVA). Σε κάθε χαρακτηριστικό εξετάζεται η επίδραση των παραγόντων είδος εγκλειστικού και τύπος εμβολιασμού. Οι πίνακες που προκύπτουν από την ανάλυση διακύμανσης παρουσιάζονται στο παράρτημα.

5.6.1 Μέγιστος ρυθμός μείωσης pH

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το μ των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.21

Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης pH των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

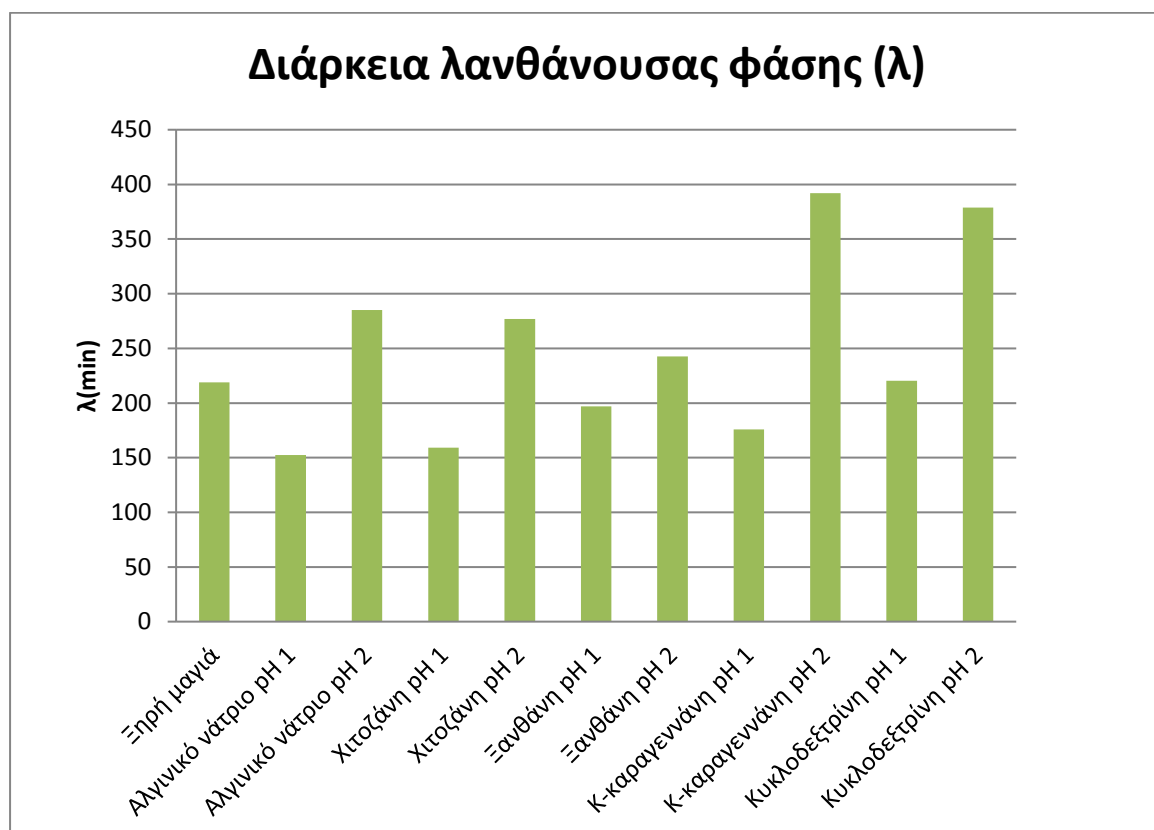


5.6.2 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης ζύμωσης (λ)

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το λ των γιαουρτιών επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ($p < 0,05$) και όχι από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.22

Η διάρκεια λανθάνουσας φάσης της ζύμωσης των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος



5.6.3 Ιξώδες γιαουρτιών μετά την ζύμωση

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το ιξώδες των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.23

Το ιξώδες των γιαουρτιών μετά την ζύμωση με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

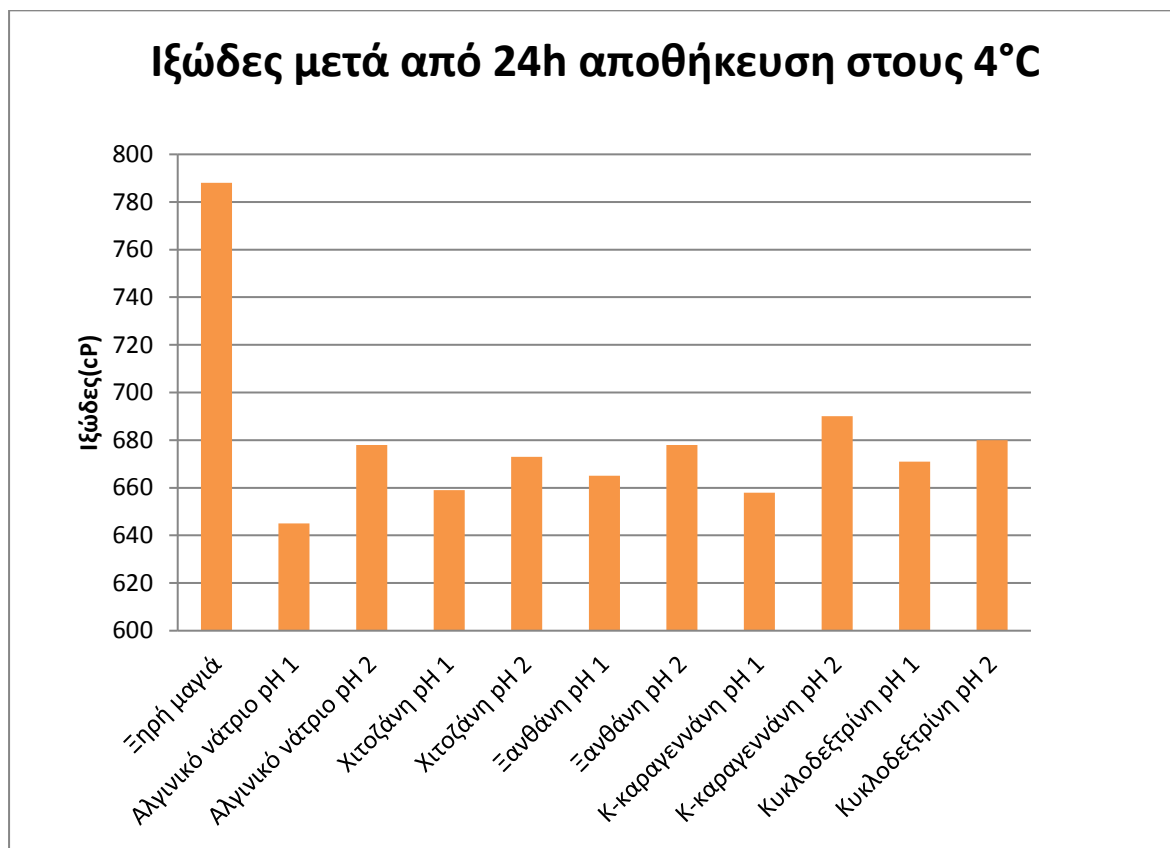


5.6.4 Ιξώδες γιαουρτιών μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το ιξώδες των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.24

Το ιξώδες των γιαουρτιών μετά από 24h αποθήκευση στους 4°C με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

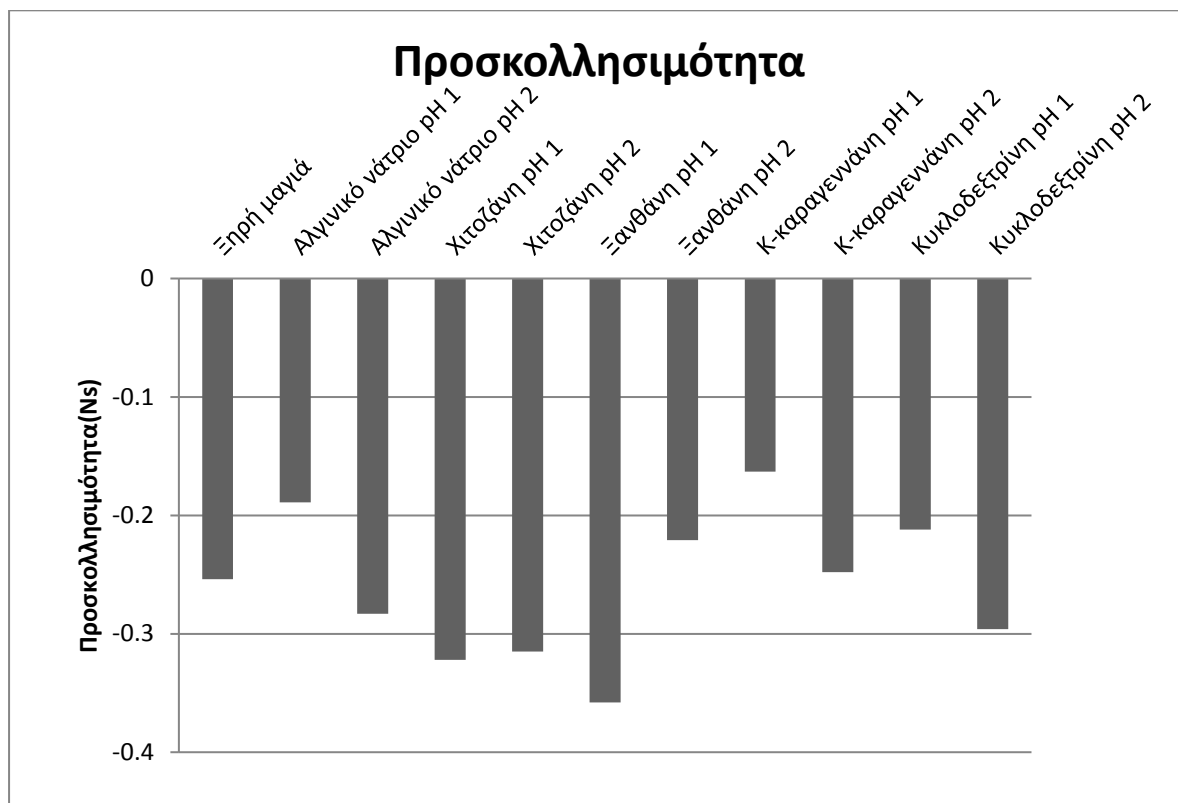


5.6.5 Προσκολλησιμότητα

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι η προσκολλησιμότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.25

Η προσκολλησιμότητα των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

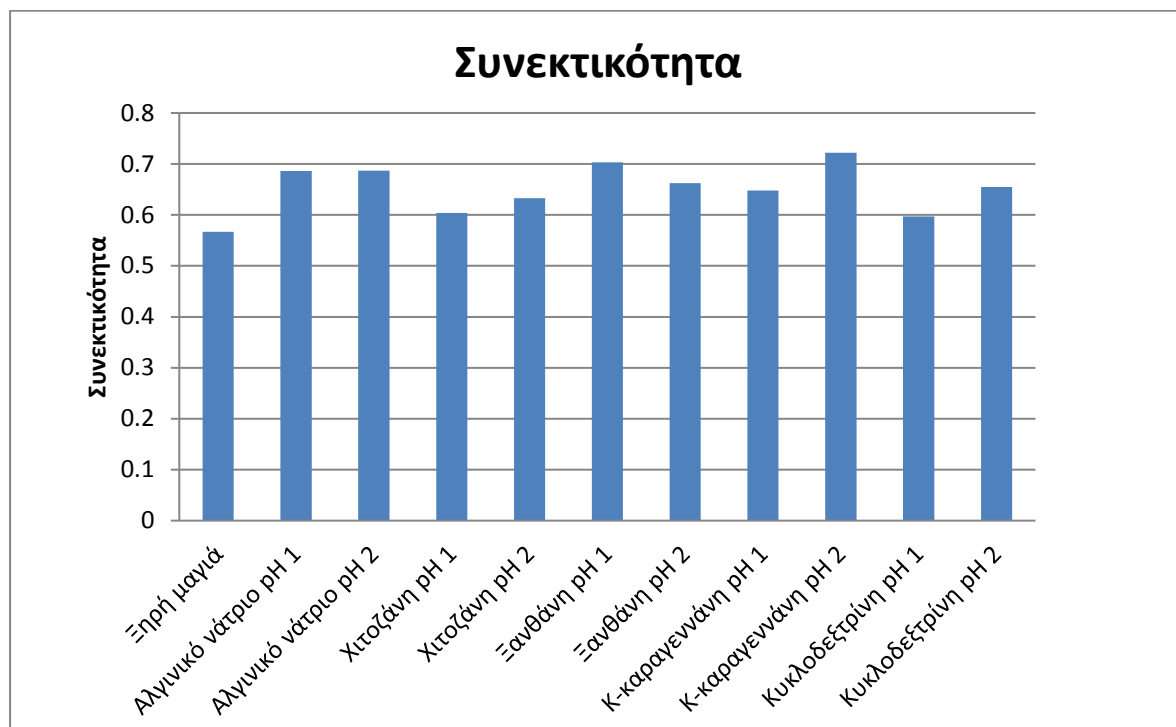


5.6.6 Συνεκτικότητα

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι η συνεκτικότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.26

Η συνεκτικότητα των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

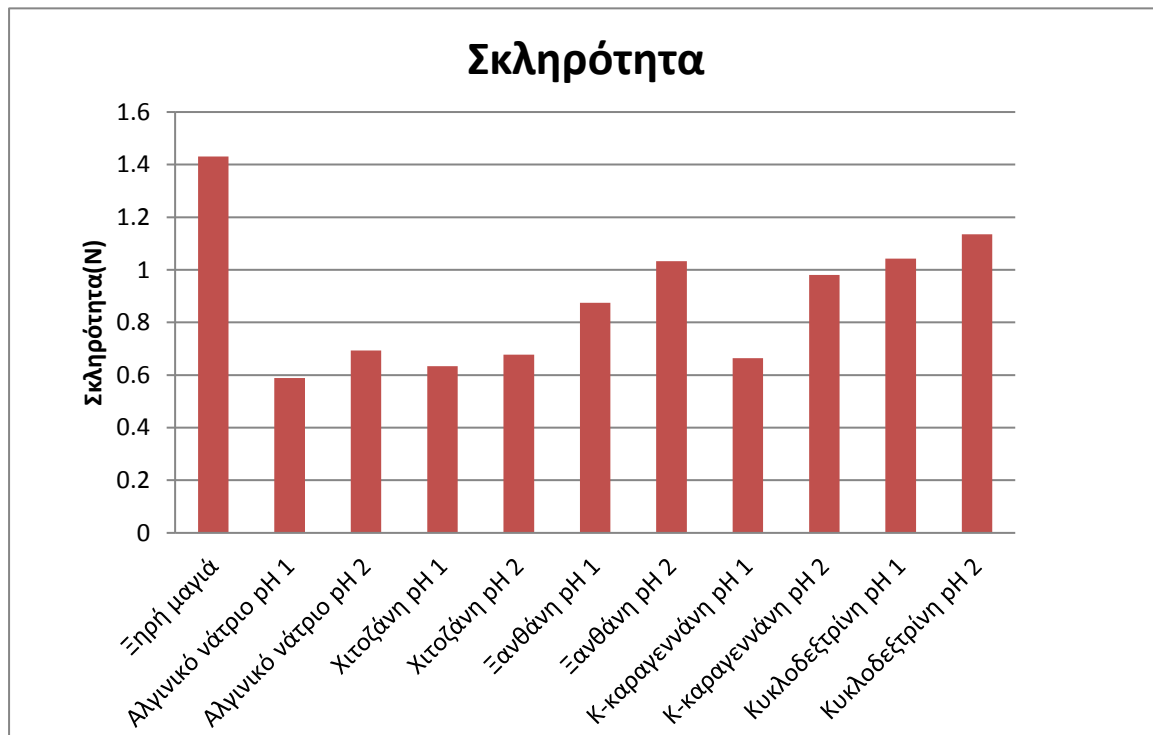


5.6.7 Σκληρότητα

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι η σκληρότητα των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.27

Η σκληρότητα των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

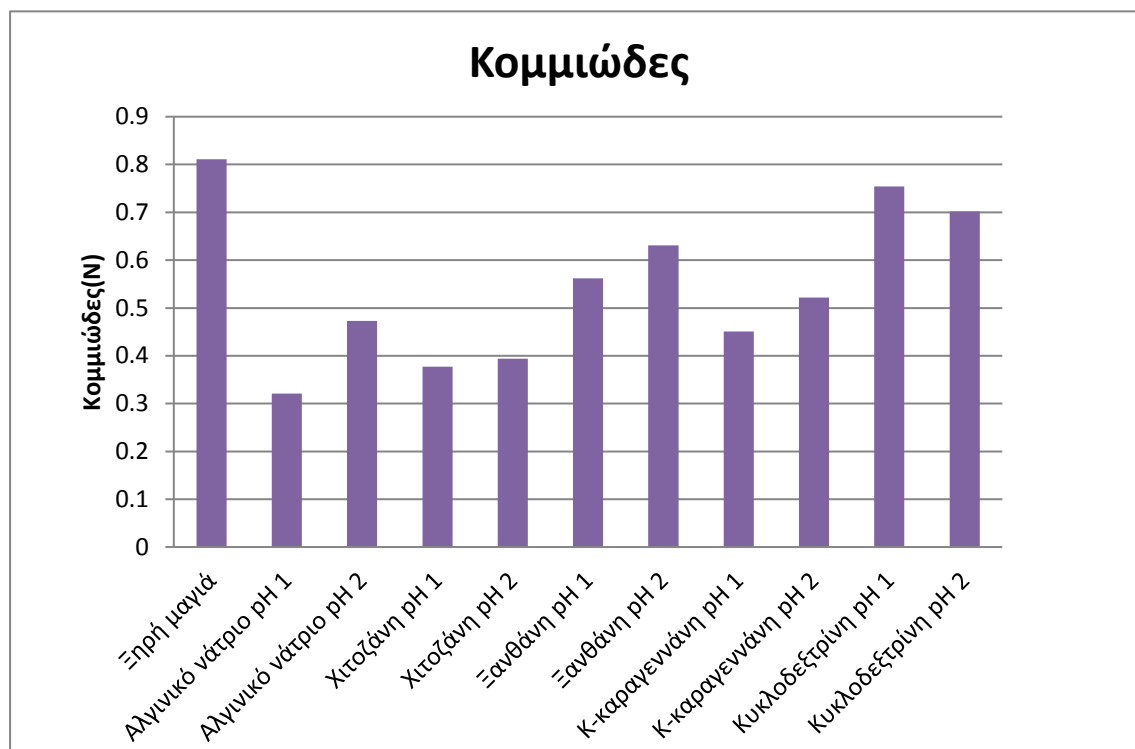


5.6.8 Κομμιώδες

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το κομμιώδες των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.28

Το κομμώδες των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος



5.6.9 Μικροβιακό φορτίο

Από την ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) προέκυψε ότι το μικροβιακό φορτίο των γιαουρτιών δεν επηρεάζεται σημαντικά ούτε από τον τύπο εμβολιασμού του δείγματος ούτε από το εγκλειστικό μέσον που χρησιμοποιείται για τον εμβολιασμό.

Διάγραμμα 5.29

Το μικροβιακό φορτίο των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying και του τυφλού δείγματος

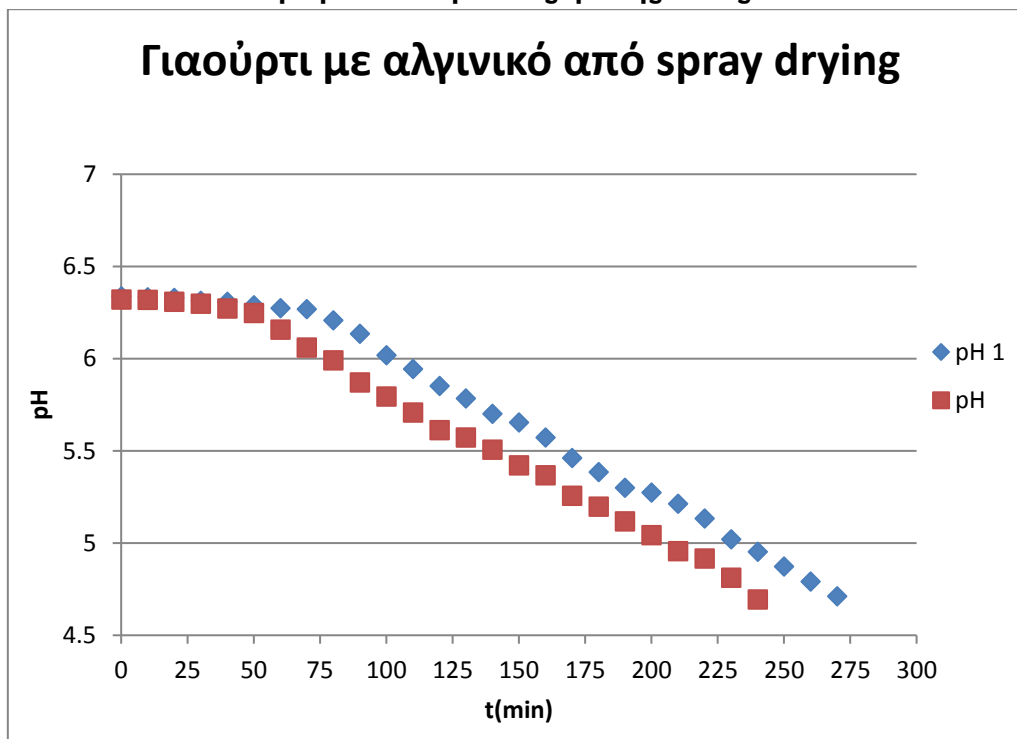


5.7 Spray drying

Στην τεχνική εγκλεισμού spray drying παρατηρήθηκε ότι μετά τον εγκλεισμό είχαμε σημαντική μείωση του αριθμού των ζωντανών προβιοτικών βακτηρίων γι'αυτό φτιάξαμε μόνο ένα δείγμα γιαουρτιού με 1g εγκλεισμένης καλλιέργειας αλλά μειώσαμε την ποσότητα του γάλακτος ώστε το τελικό δείγμα να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς.

5.7.1 Αλγινικό νάτριο

Διάγραμμα 5.30
Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο από spray drying συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας αλλά έχουμε μειώσει την ποσότητα γάλακτος ώστε να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Το γιαούρτι έχει απότομη μείωση του pH μετά τα 100 min της ζύμωσης.

Πίνακας 5.11

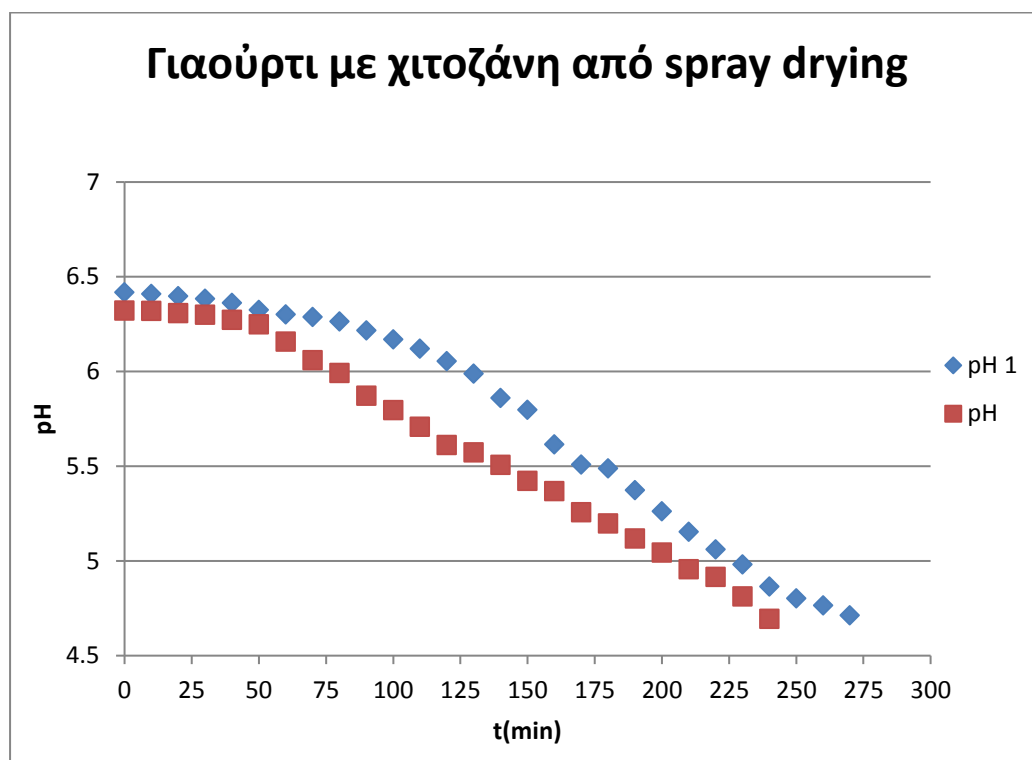
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο από spray drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 |
|--|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,03567 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 201,0006 |

5.7.2 Χιτοζάνη

Διάγραμμα 5.31

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με χιτοζάνη από spray drying συναρτήσεως του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας αλλά έχουμε μειώσει την ποσότητα γάλατος ώστε να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Το γιαούρτι έχει μια ομαλή μείωση του pH μέχρι τα 125 min της ζύμωσης και μετά έχει απότομη μείωση.

Πίνακας 5.12

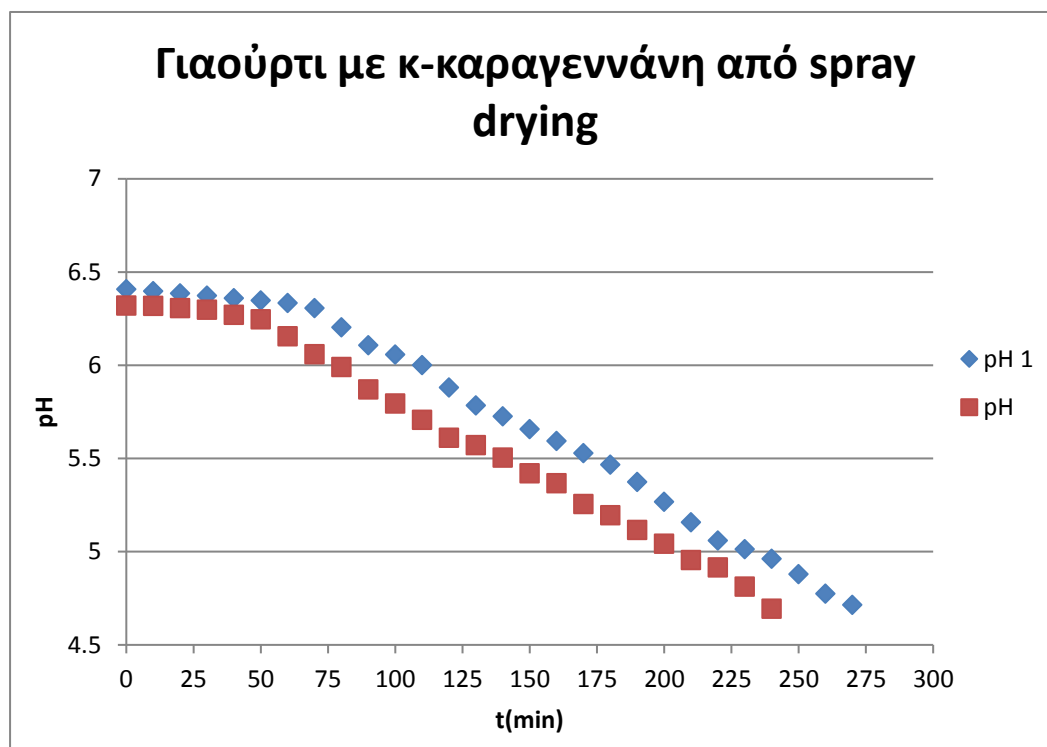
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με χιτοζάνη από spray drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 |
|------------------------------------|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,04371 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 223,5032 |

5.7.3 Κ-καραγεννάνη

Διάγραμμα 5.32

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη από spray drying συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας αλλά έχουμε μειώσει την ποσότητα γάλατος ώστε να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά.

Πίνακας 5.13

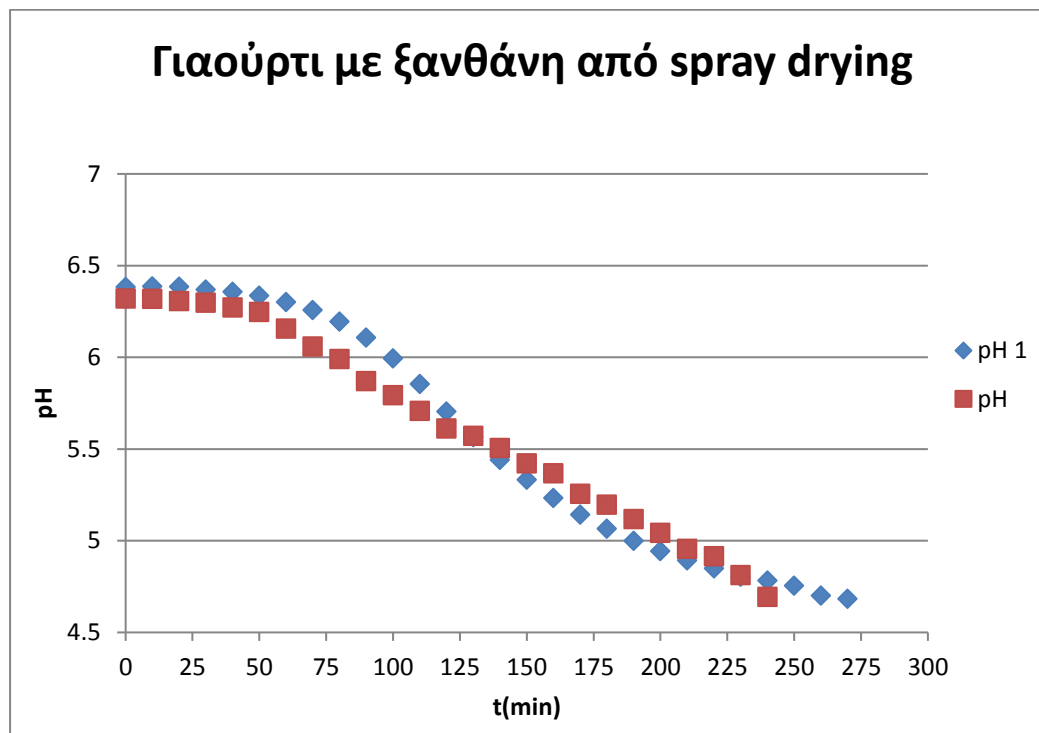
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη από spray drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 |
|--|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,05722 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 176,9458 |

5.7.4 Ξανθάνη

Διάγραμμα 5.33

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με ξανθάνη από spray drying συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας αλλά έχουμε μειώσει την ποσότητα γάλατος ώστε να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά. Το γιαούρτι έχει απότομη μείωση του pH μετά τα 75 min της ζύμωσης.

Πίνακας 5.14

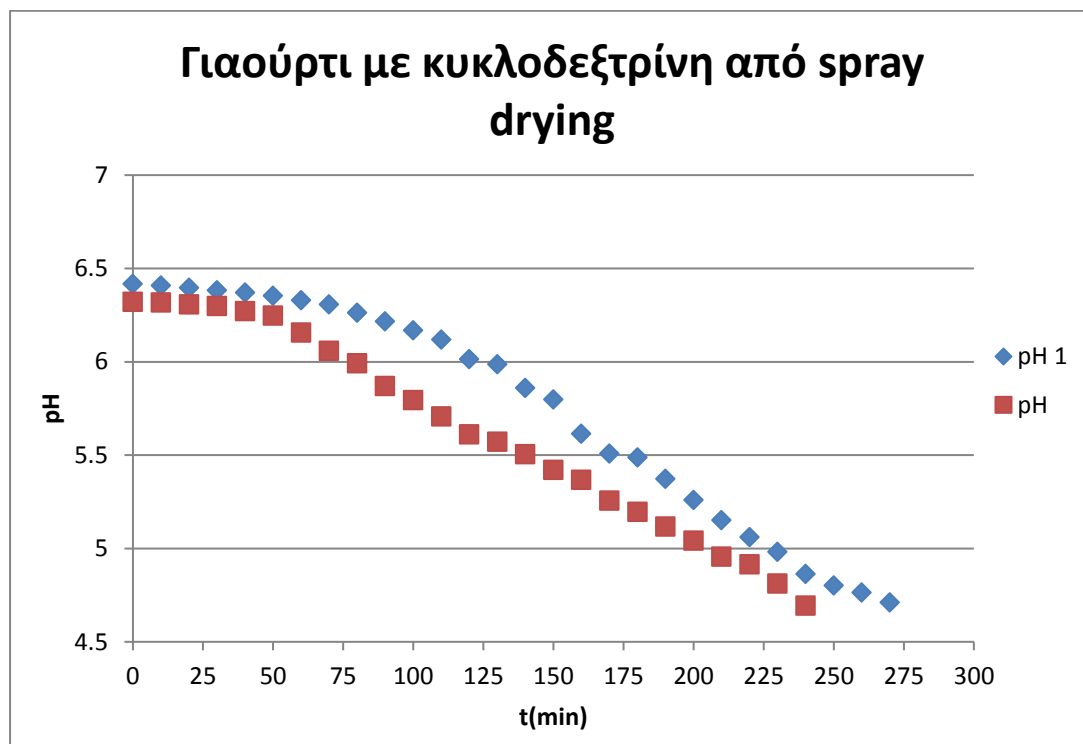
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με ξανθάνη από spray drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 |
|------------------------------------|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,05504 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 159,8967 |

5.7.5 Κυκλοδεξτρίνη

Διάγραμμα 5.34

Μεταβολή του pH του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη από spray drying συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης στους 45°C



Το pH 1 αντιστοιχεί στο γιαούρτι που έχουμε προσθέσει 1 g εγκλεισμένης καλλιέργειας αλλά έχουμε μειώσει την ποσότητα γάλατος ώστε να έχει ίδιο cfu/g με το γιαούρτι της ξηρής μαγιάς. Το pH αντιστοιχεί στο γιαούρτι με την ξηρή μαγιά.

Πίνακας 5.15

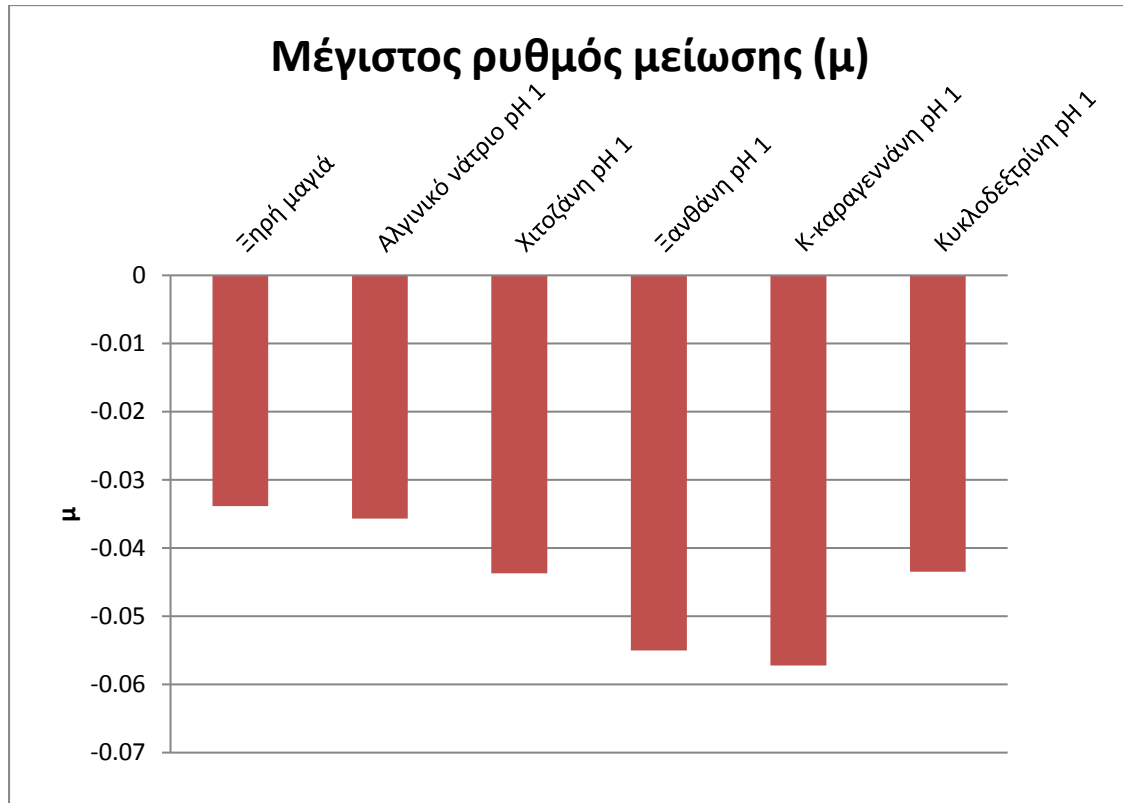
Αποτελέσματα μετρήσεων του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη από spray drying

| Χαρακτηριστικό | τυφλό | Δείγμα 1 |
|------------------------------------|----------|----------|
| Συνολική διάρκεια (min) | 240 | 270 |
| Μέγιστος ρυθμός μείωσης μ | -0,03383 | -0,04345 |
| Διάρκεια λανθάνουσας φάσης λ (min) | 219,0195 | 223,5054 |

5.7.6 Μέγιστος ρυθμός μείωσης pH

Διάγραμμα 5.35

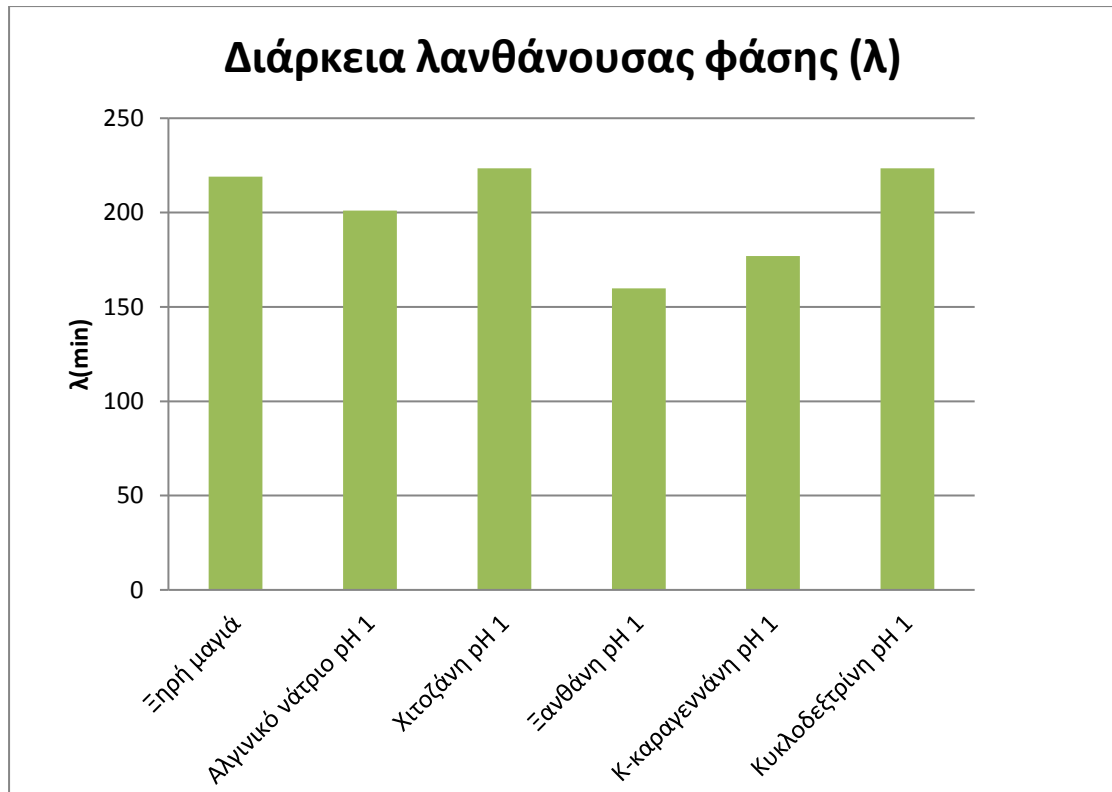
Ο μέγιστος ρυθμός μείωσης pH των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από spray drying και του τυφλού δείγματος



5.6.7 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης ζύμωσης (λ)

Διάγραμμα 5.36

Η διάρκεια λανθάνουσας φάσης της ζύμωσης των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από spray drying και του τυφλού δείγματος



5.8 Παράγοντες μείωσης του pH

5.8.1 Διάρκεια λανθάνουσας φάσης, λ

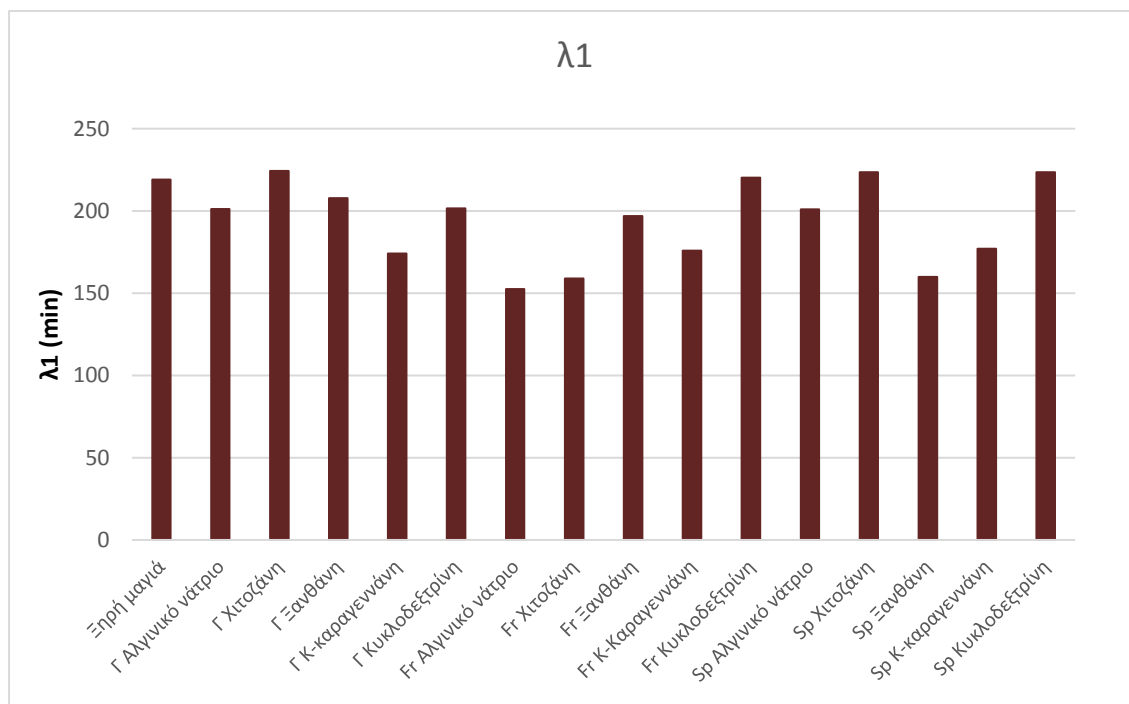
Πίνακας 5.16
Διάρκεια λανθάνουσας φάσης δειγμάτων

| Δείγματα | λ 1 | λ 2 |
|--------------------|----------|----------|
| Ξηρή μαγιά | 219,0195 | |
| Γ Αλγινικό νάτριο | 201,2099 | 285,6928 |
| Γ Χιτοζάνη | 224,279 | 228,6548 |
| Γ Ξανθάνη | 207,778 | 336,3855 |
| Γ Κ-καραγεννάνη | 174,1545 | 275,0669 |
| Γ Κυκλοδεξτρίνη | 201,5137 | 391,913 |
| Fr Αλγινικό νάτριο | 152,4391 | 285,1673 |
| Fr Χιτοζάνη | 159,0213 | 276,7824 |
| Fr Ξανθάνη | 196,942 | 242,555 |
| Fr Κ-Καραγεννάνη | 175,9268 | 391,9127 |
| Fr Κυκλοδεξτρίνη | 220,308 | 378,7978 |
| Sp Αλγινικό νάτριο | 201,0006 | |
| Sp Χιτοζάνη | 223,5032 | |
| Sp Ξανθάνη | 159,8967 | |
| Sp Κ-καραγεννάνη | 176,9458 | |
| Sp Κυκλοδεξτρίνη | 223,5054 | |

Το λ 1 αντιστοιχεί στα γιαούρτια με pH 1 ενώ το λ 2 αντιστοιχεί στα γιαούρτια με pH 2.

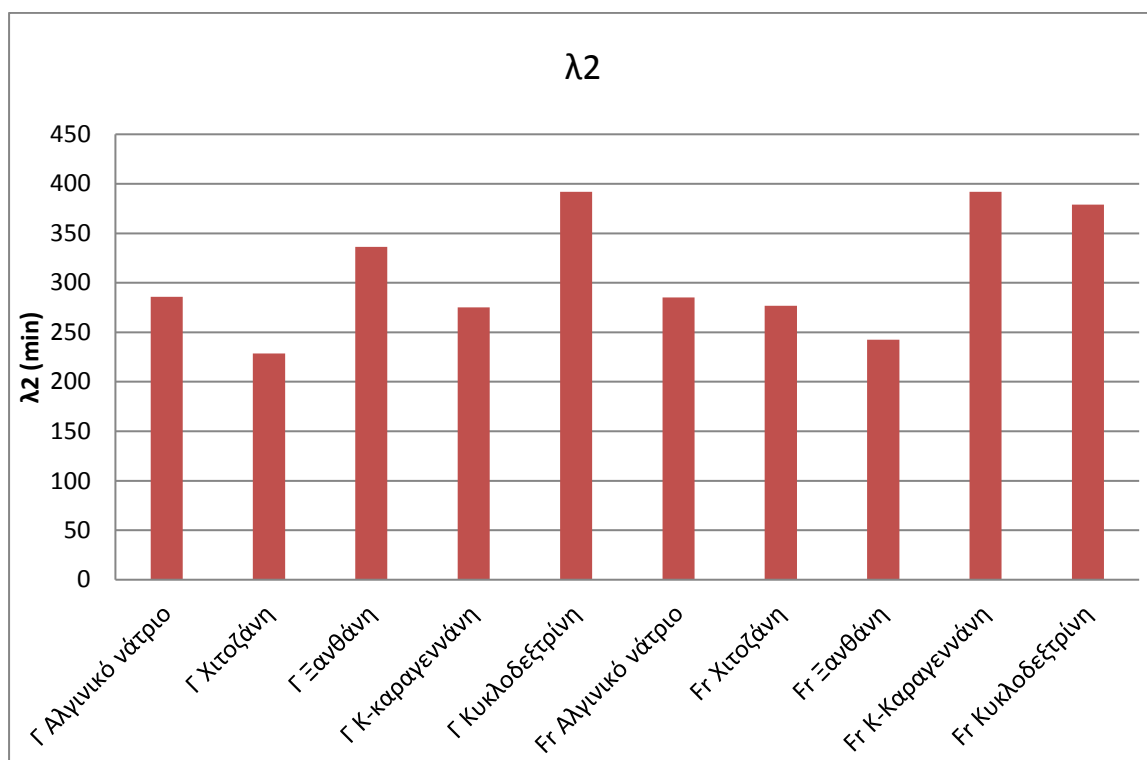
Διάγραμμα 5.37

λ1



Διάγραμμα 5.38

λ2



5.8.2 Μέγιστος ρυθμός μείωσης, μ

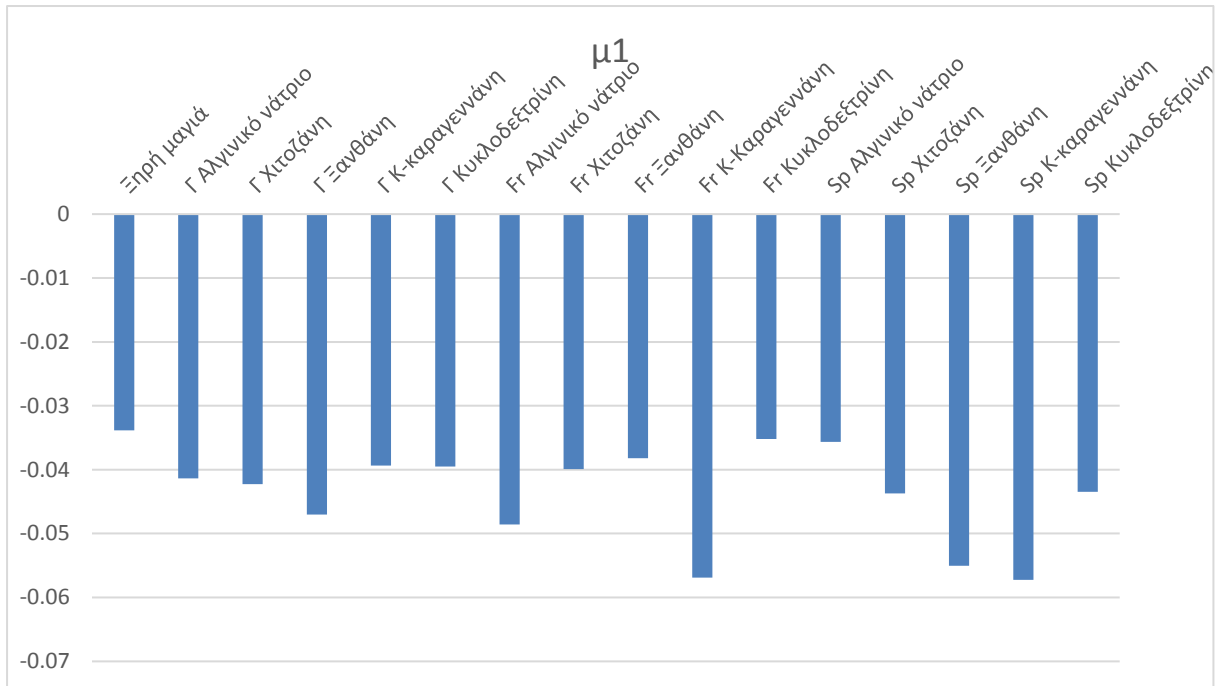
Πίνακας 5.17
Μέγιστος ρυθμός μείωσης, μ δειγμάτων

| Δείγματα | μ 1 | μ 2 |
|--------------------|----------|----------|
| Ξηρή μαγιά | -0,03383 | |
| Γ Αλγινικό νάτριο | -0,04133 | -0,03644 |
| Γ Χιτοζάνη | -0,04225 | -0,0348 |
| Γ Ξανθάνη | -0,04701 | -0,04581 |
| Γ Κ-καραγεννάνη | -0,03938 | -0,03264 |
| Γ Κυκλοδεξτρίνη | -0,0395 | -0,03828 |
| Fr Αλγινικό νάτριο | -0,04858 | -0,03618 |
| Fr Χιτοζάνη | -0,03989 | -0,03548 |
| Fr Ξανθάνη | -0,03818 | -0,03261 |
| Fr Κ-Καραγεννάνη | -0,0569 | -0,03828 |
| Fr Κυκλοδεξτρίνη | -0,03519 | -0,03682 |
| Sp Αλγινικό νάτριο | -0,03567 | |
| Sp Χιτοζάνη | -0,04371 | |
| Sp Ξανθάνη | -0,05504 | |
| Sp Κ-καραγεννάνη | -0,05722 | |
| Sp Κυκλοδεξτρίνη | -0,04345 | |

Το μ 1 αντιστοιχεί στα γιαούρτια με pH 1 ενώ το μ 2 αντιστοιχεί στα γιαούρτια με pH 2.

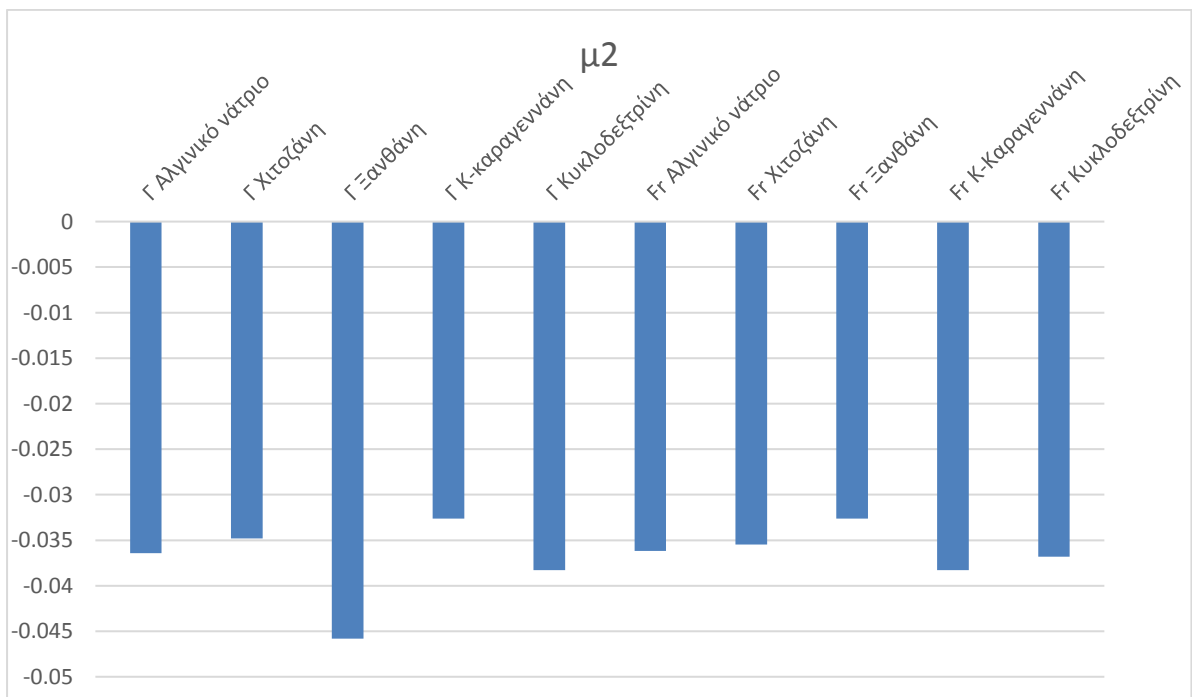
Διάγραμμα 5.39

μ1



Διάγραμμα 5.40

μ2



5.8.3 Ιξώδες

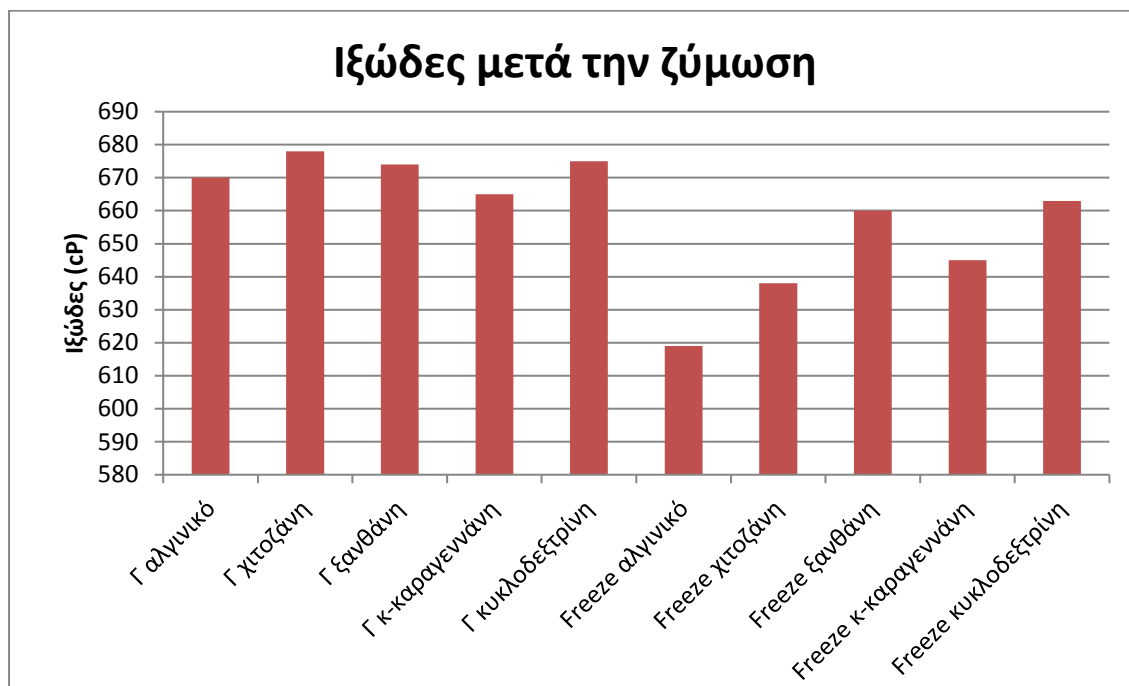
Πίνακας 5.18
Ιξώδες δειγμάτων

| Δείγματα | Μετά την ζύμωση(pH1) (cP) | Μετά την ζύμωση(pH2) (cP) | Μετά από 24h(pH1) (cP) | Μετά από 24h(pH2) (cP) |
|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| μαγιά | 730 | | 788 | |
| Γαλακτωματοποίηση αλγινικό νάτριο | 662 | 670 | 691 | 699 |
| Γαλακτωματοποίηση χιτοζάνη | 672 | 678 | 701 | 710 |
| Γαλακτωματοποίηση ξανθάνη | 672 | 674 | 695 | 703 |
| Γαλακτωματοποίηση κ-καραγεννάνη | 658 | 665 | 671 | 680 |
| Γαλακτωματοποίηση κυκλοδεξτρίνη | 668 | 675 | 685 | 690 |
| Freeze αλγινικό | 592 | 619 | 645 | 678 |
| Freeze χιτοζάνη | 602 | 638 | 659 | 673 |
| Freeze ξανθάνη | 632 | 660 | 665 | 678 |
| Freeze κ-καραγεννάνη | 628 | 645 | 658 | 690 |
| Freeze κυκλοδεξτρίνη | 648 | 663 | 671 | 680 |

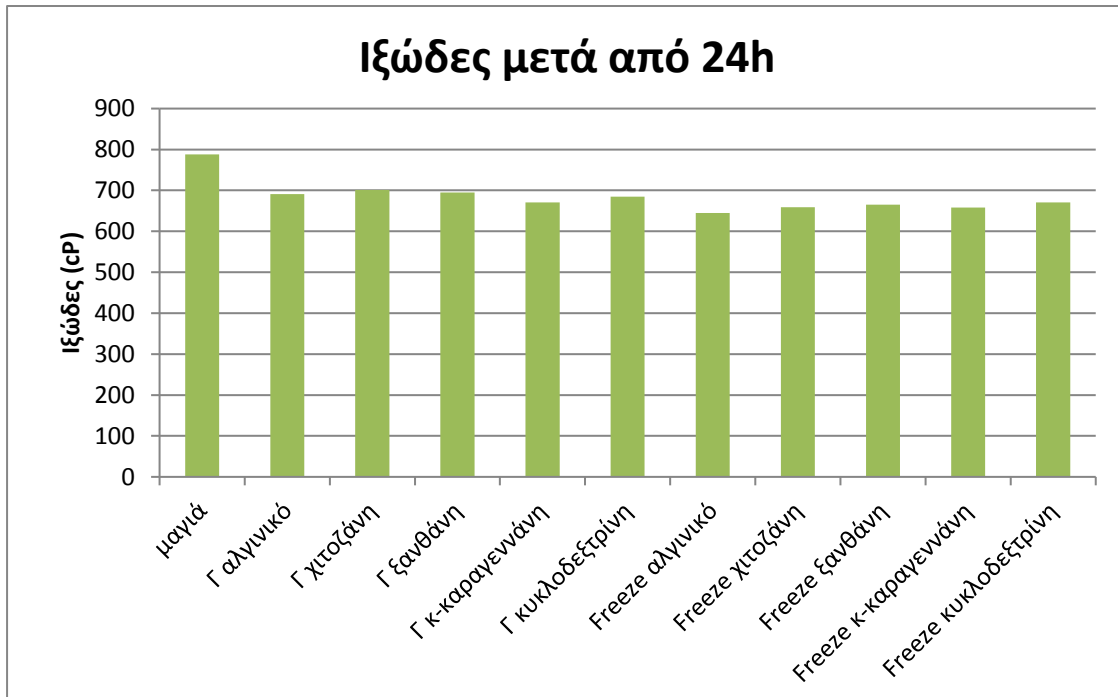
Διάγραμμα 5.41
Ιξώδες μετά την ζύμωση (pH1)



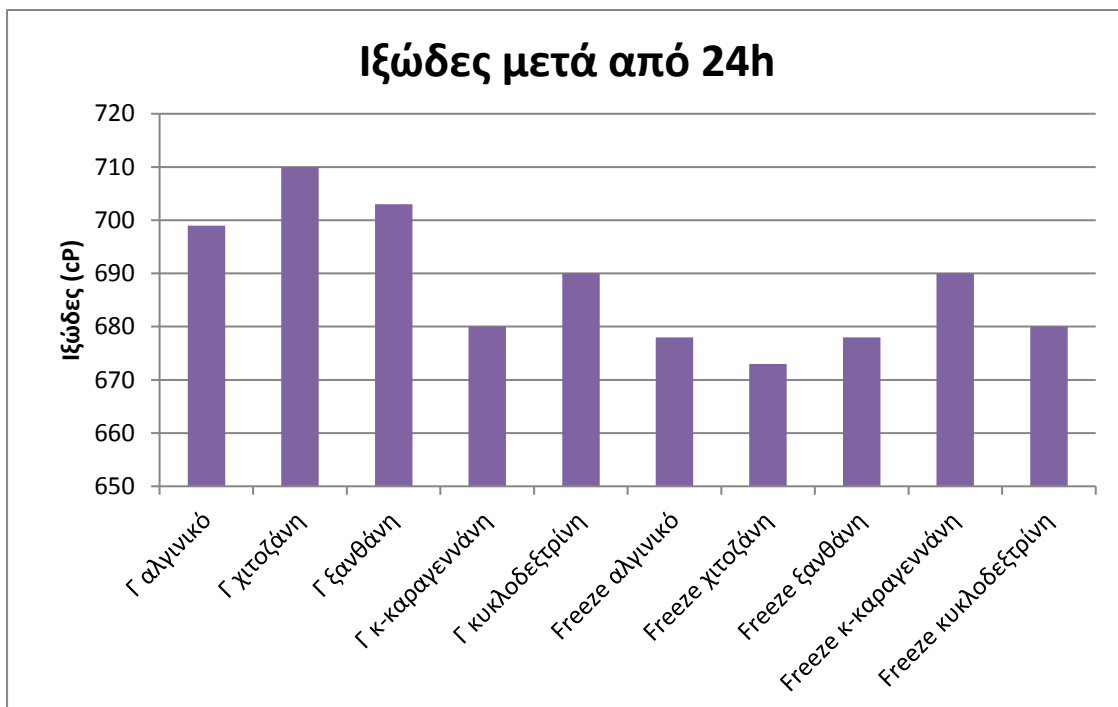
Διάγραμμα 5.42
Ιξώδες μετά την ζύμωση (pH2)



Διάγραμμα 5.43
Ιξώδες μετά από 24h (pH1)



Διάγραμμα 5.44
Ιξώδες μετά από 24h (pH2)



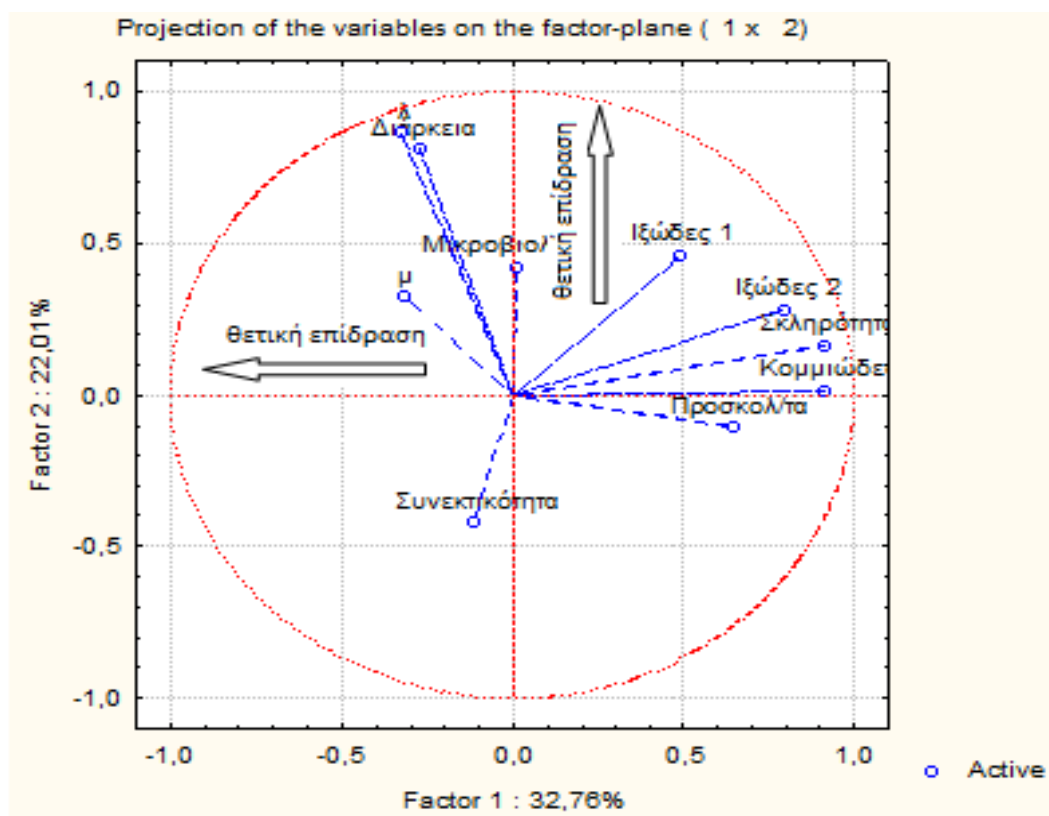
5.9 Ανάλυση Υφής

Τα διαγράμματα από τον αναλυτή υφής για τα γιαούρτια με εγκλεισμένα βακτήρια με την μέθοδο της γαλακτωματοποίησης και του freeze drying παραθέτονται στο Παράρτημα.

5.10 Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA)

Στο παρακάτω γράφημα φαίνεται η γραφική παράσταση των συντελεστών συσχέτισης των 2 πρώτων κύριων συνιστωσών με τις μεταβλητές. Οι δυο κύριες συνιστώσες εξηγούν το 81,88% της συνολικής διακύμανσης.

Διάγραμμα 5.45
Διάγραμμα των συντελεστών συσχέτισης των 2 πρώτων κύριων συνιστωσών με τις μεταβλητές



Στο διάγραμμα 5.45 φαίνεται ότι η διάρκεια λανθάνουσας φάσης έχει θετική επίδραση στην πρώτη κύρια συνιστώσα, η σκληρότητα έχει αρνητική επίδραση στην δεύτερη κύρια συνιστώσα αλλά σχετίζεται θετικά με το κομμιώς και το κομμιώς έχει αρνητική επίδραση στην δεύτερη κύρια συνιστώσα.

Κεφάλαιο Έκτο: Συμπεράσματα

Οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν και να προάγουν την υγεία του ανθρώπου παρουσιάζοντας οφέλη σε πολλούς τομείς της λειτουργίας του όπως το ανοσοποιητικό και γαστρεντερικό σύστημα. Το γεγονός αυτό, συνεπώς, έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον και την έρευνα για την ανακάλυψη νέων μικροοργανισμών που παρουσιάζουν προβιοτικές ιδιότητες. Στις πλέον σημαντικές προβιοτικές ιδιότητες συγκαταλέγονται η αντοχή σε όξινο pH, η αντοχή σε συγκεκριμένα ποσοστά χολικών αλάτων και η αντιμικροβιακή δράση.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων το δείγμα της λυοφιλιωμένης καλλιέργειας σε κυκλοδεξτρίνη οδήγησε σε τιμές λ και μ παρόμοιες με της μη εγκλεισμένης καλλιέργειας. Τα δείγματα ιοντικής ζελατινοποίησης σε χιτοζάνη και λυοφιλιωμένης καλλιέργειας σε κυκλοδεξτρίνη παρουσίασαν τη μέγιστη τιμή λ και την ελάχιστη τιμή μ αντίστοιχα. Αντίθετα, τα δείγματα λυοφιλιωμένης καλλιέργειας σε αλγινικό νάτριο και ξήρανσης με ψεκασμό σε κ-καραγεννάνη παρουσίασαν την ελάχιστη τιμή λ και τη μέγιστη τιμή μ αντίστοιχα. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά υψής του παραγόμενου γιαουρτιού, όλα τα εγκλειστικά μέσα είχαν αρνητική επίδραση στις τιμές τους με σημαντικότερη μείωση να παρατηρείται στα δείγματα με λυοφιλιωμένη καλλιέργεια σε αλγινικό νάτριο.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. Adolfsson O., Meydani S.N. and Russel R.M. (2004). Yogurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 80 no.2 245-256.
2. Alonso, L., Cuesta, P., Fontecha, J., Juarez, M., & Gilliland, S. (2009). Use of β -cyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat. *Journal of Dairy Science*, 863-869
3. Augustin, M.A. & Sanguansri, L. (2008). Encapsulation of Bioactives. *Food Materials Science.*, J. Aguilera and P. Lillford, Springer New York: 577-601
4. Bernardeau M. , Vernoux J.P., Dubemet S., and Guegen M. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms. The Lactobacillus genus, *Int: J. Food Microbiol.*, 126, 278.
5. Bertolini, A.C., Siani, A.C., & Grosso, C.R. (2001). Stability of monoterpenes encapsulated in gum Arabic by spray-drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2): 780-785.
6. Bezkorovainy A. (2001) Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr* 73, 399S-405S.
7. Bjerre P. (1990). In *Recombination of Milk and Milk Products*. Special Issue No. 9001, International Dairy Federation, Brussels pp. 157- 165.
8. Boirivant M. and Strober W. (2007) The mechanism of action of probiotics. *Curr OpinGastroenterol* 23, 679-692.

9. Borchers A.T., Selmi C., Meyers F.J., Keen C.L. and Gershwin M.E. (2009) Probiotics and immunity. *J Gastroenterol* 44, 26-46.
10. Brown A.C. and Valiere A. (2004) Probiotics and medical nutrition therapy. *Nutr ClinCare* 7, 56-68.
11. Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467- 483.
12. Buschmann, H., & Schollmeyer, E. (2002). Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A Review. *Journal of Cosmetic Science*, 185-191.
13. Buttriss J. (1997). Nutritional properties of fermented milk products. *International Journal of Dairy Technology*. Volume 50, Issue 1, pages 21–27.
14. Carl A Batt. *Lactococcus*. Department of Food Science, Cornell University, USA, 1999
15. Carocho, M., Barreiro, M., Morales, P., & Ferreira, I. (2014). Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives. *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*, 377-399
16. Champagne, C.P. & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2): 184-190.

17. Chandan R.H and O' Rell K.R. (2006). Manufacture of various types of yoghurt. In Chandan R.H, White C.H, Kilara A., Hui Y.H. (Ed.) Manufacturing yoghurt and Fermented Milks. Pp. 211-236.
18. Chen, M.J., Chen, K.N., 2007. Applications of probiotic encapsulation in dairy products. In: Lakkis, Jamileh M. (Ed.), Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems. Wiley-Blackwell, USA, pp. 83-107.
19. Clifford McDonald, Matthew J. Kuehnert, Fred C. Tenover, and William R. Jarvis Vancomycin-Resistant Enterococci Outside the Health-Care Setting: Prevalence, Sources, and Public Health Implications. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 3, No. 3, July-September 1997, 311-317
20. Cornelius W. Van Niel, MD; Chris Feudtner, MD, PhD, MPH; Michelle M. Garrison, MPH; and Dimitri A. Christakis, MD, MPH. 2002 Pediatrics. Lactobacillus Therapy for Acute Infectious Diarrhea in Children: A Meta-analysis. Vol. 109 No. 4, 374-384.
21. Desai, K.G.H. & Jin Park H. (2005). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*, 23(7): 1361-1394.
22. De Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4): 292-302.

23. Dordevic, V., Balanc, B., Belscak-Cvitanovic, A., Levic, S., Trifkovic, K., Kalusevic, A., . . . Nedovic, V. (2014). Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Reviews*.
24. El-Zahar K. , Chobert J.M., Sitohy M. , Dalgalarrrondo M. and Haertle T. (2003) Proteolytic degradation of ewe milk proteins during fermentation of yoghurts and storage. *Nahrung* ,47(3), 199-206.
25. Estevinho, B.N., Rocha, F., Santos, L., & Alves., A. (2013). Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2): 138-155.
26. Ezhilarasi, P. N., Karthik, P. ,& Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3): 628-647.
27. FAO/WHO, 1978a. Code of principles concerning milk and milk products. Draft standard for yoghurt and sweetened yoghurt. (Standard NoA- 11a, Step 7).
28. FAO/WHO Food Standards Codex Alimentarius (1976) Codex Standards for flavoured yoghurt and products heat-treated after fermentation. Codex Stan A-11(b).

29. FAO/WHO (2001) Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation.
30. FAO/WHO (2002) Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canada: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report.
31. Foligne B., Grangette C. and Pot B. (2005) Probiotics in IBD: mucosal and systemic routes of administration may promote similar effects. *Gut* 54, 727-728.
32. Foligne B., Zoumpopoulou G., Dewulf J., Ben Younes A., Chareyre F., Sirard J.C., Pot B. and Grangette C. (2007) A key role of dendritic cells in probiotic functionality. *PLoS ONE* 2, e313.
33. Forestier F., Gleizes A. and Sandre C. (2000) Influence of Microbial Flora on Macrophages Microbial Ecology in Health and Disease Suppl.2, 128-137.
34. Galdeano C.M., de Moreno de LeBlanc A., Vinderola G., Bonet M.E. and Perdigon G. (2007) Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clin Vaccine Immunol* 14, 485-492.

35. Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9): 1107-1121.
36. Ghosh, S.K. (2006). Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. *Functional Coatings*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 1-28.
37. Gill H.S., Rutherford K.J., Prasad J. and Gopal P.K. (2000) Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br J Nutr* 83, 167-176.
38. Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8): 330-347.
39. Harty D.W., Oakey H.J., Patrikakis M., Hume E.B. and Knox K.W. (1994) Pathogenic potential of lactobacilli. *Int J Food Microbiol* 24, 179-189.
40. Holzapfel, W.H., 2006, Introduction to Prebiotics and Probiotics, in «Probiotics in Food Safety and Human Health», ed. Goktepe, I., Juneja, V.K. and Ahmedna, M., p. 1-34, CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, London, New York.
41. Ishibashi N. and Yamazaki S. (2001) Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr* 73, 465S-470S.

42. Kaur I.P., Chopra K. and Saini A. (2002) Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur J Pharm Sci* 15, 1-9.
43. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H., 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal* 13 (1), 3-13.
44. Kurmann J.A., Rasic J.L., and Kroger M. (1992). *Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products: An International Inventory of Fermented Milk, Cream, Buttermilk, Whey, and Related products.*
45. Lee Y.K., Puong K.Y., Ouwehand A.C. and Salminen S. (2003) Displacement of bacterial pathogens from mucus and Caco-2 cell surface by lactobacilli. *J Med Microbiol* 52, 925-930.
46. Marco M.L., Pavan S. and Kleerebezem M. (2006) Towards understanding molecular modes of probiotic action. *Curr Opin Biotechnol* 17, 204-210.
47. Martins I.M., Barreiro, M.F., Coelho, M., & Rodrigues,, A.E. (2013). Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. *Chemical Engineering Journal*, 245(0): 191-200.
48. McCartney A.L. (2002) Application of molecular biological methods for studying probiotics and the gut flora. *Br J Nutr* 88 Suppl 1, S29-37.
49. Min-Tze Liong 2011: Probiotics Biology, Genetics and Health Aspects, 198-236.

50. Mortazavian, A.M., Azizi, A., Ehsani, M.R., Razavi, S.H., Mousavi, S.M., Sohrabvandi, S., Reinheimer, J.A., 2008. Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Milchwissenschaft* 63 (4), 427–429.
51. Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1(0): 1806-1815.
52. Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., & Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, 42(0): 469-479.
53. Paramera, E.I., Konteles, S.J., & Karathanos, V.T. (2011). Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. *Food Chemistry*, 125(3): 913-922.
54. Pham-Hoang, B.N., Romero-Guido, C., Phan-Thi, H., & Wavhe, Y. (2013). Encapsulation in a natural, preformed, multi-component and complex capsule: yeast cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(15): 6635-6645.
55. Reid, G. (2016). Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 30(1), 17-25.

56. Robinson R.K. and Tamime A.Y. (2007) Background to manufacturing practice. Tamime and Robinson's yoghurt: science and technology, 13-161
57. Robinson R.K. and Itsaranuwat P. (2006). Properties of yoghurt and their appraisal. In Tamime A.Y. (Ed.) Fermented milks. pp. 76-94. Blackwell Science, SDT, Oxford, UK.
58. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of biotechnology*, 84(3), 197-215.
59. Sadini I., Remeuf F., Haddad S. and Corrieu G. (2004) The relative effect of milk base , starter, and process on yoghurt texture: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 44(2), 113-37.
60. Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., García-Galindo, H. S., Alvarez-Ramírez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2010). Textural properties of alginate–pectin beads and survivability of entrapped Lb. casei in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Food Research International*, 43(1), 111-117.
61. Sandra V. Avila-Reyes, Francisco J. Garcia-Suarez ,María Teresa Jiménez , María F. San Martín-Gonzalez , Luis A. Bello-Pereza,2013 : Protection of L. rhamnosus by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability, *Carbohydrate Polymers* 102 (2014) 423– 430

62. Sansone, F., Picerno, P., Mencherini, T., Villesco, F., D'Ursi, A.M., Aquino, R.P., & Lauro, M.R. (2011). Flavonoid microparticles by spray-drying: Influence of enhancers of the dissolution rate on properties and stability. *Journal of Food Engineering*, 103(2): 188-196.
63. Sathyabama, S., & Vijayabharathi, R. (2014). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on alginate matrix and its effect on viability in simulated gastric environment. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 419-425.
64. Schmid, K., Schlothauer, R.C., Friedrich, U., Staudt, C., Apajalahti, J. and Hansen, E.B., 2006, Development of Probiotic Food Ingredients, in «Probiotics in Food Safety and Human Health», ed. Goktepe, I., Juneja, V.K. and Ahmedna, M., p. 35-66, CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, London, New York.
65. Schroyen, P. M., van der Meer, R., & de Kruif, C.G. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. *The Proceedings of Nutrition Society*, 60(4): 475-479.
66. Shahidi, F., & Han, X. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 501-547.

67. Sheih Y.H., Chiang B.L., Wang L.H., Liao C.K. and Gill H.S. (2001) Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium *Lactobacillus rhamnosus* HN001. *J Am Coll Nutr* 20, 149-156.
68. Sheil B., McCarthy J., O'Mahony L., Bennett M.W., Ryan P., Fitzgibbon J.J., Kiely B., Collins J.K. and Shanahan F. (2004) Is the mucosal route of administration essential for probiotic function? Subcutaneous administration is associated with attenuation of murine colitis and arthritis. *Gut* 53, 694-700.
69. Sozzi T. and Smiley M.B.(1980) Antibiotic resistances of yogurt starter cultures *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(5), 862 – 865.
70. Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yogurt. *International Journal of Food Microbiology* 62 (1–2), 47–55.
71. Sun, W., Griffiths, M.W., 2000. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan–xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology* 61 (1), 17–25.

72. Szente, L., & Szejtli, J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 137-142.
73. Tamine A.Y and Robinson R.K (1999). Yoghurt, science and Technology, 2nd edition. pp 1- 128, 432-485. Woodhead Publishing Limited & CRC Press LLC.
74. Tamine A.Y., Saarela, M. A. K. S., Sondergaard, A. K., Mistry, V. V. and Shah N.P. (2005) Production and maintenance of viability of probiotic micro-organisms in dairy products. *Probiotic dairy products*, 39-72
75. Yıldız, F. (2010). Overview of yogurt and other fermented dairy products. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products*, 1-46.
76. Zuidam N. & Shimoni, E. (2010). Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing* (pp. 3-29). Springer New York.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA)

Πίνακας Π1

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του συντελεστή λ των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 2550,8 | 1 | 2550,8 | 29,338 | 0,03690 |
| εγκλειστικό | 622,4526 | 6 | 103,742 | 0,662 | 0,47477 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 2080,885 | 2 | 1040,4425 | 22,271 | 0,02885 |
| Error | 2613,4 | 12 | 217,783 | | |

Πίνακας Π2

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του συντελεστή μ των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 3,45E-05 | 1 | 3,45E-05 | 6,57909 | 0,000194 |
| εγκλειστικό | 0,00013 | 6 | 2,31E-05 | 2,53 | 0,52915 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 0,00017 | 2 | 8,65E-05 | 4,43 | 0,000024 |
| Error | 0,07055 | 12 | 0,00588 | | |

Πίνακας Π3

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) της προσκολλησιμότητας των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 3,61603 | 1 | 3,61603 | 2,05086 | 0,000000 |
| εγκλειστικό | 0,9568 | 6 | 0,15946 | 0,6859 | 0,71419 |
| Τύπος | | | | | 0,22450 |
| εμβολιασμού | 0,01327 | 2 | 0,00664 | 1,5406 | |
| Error | 0,3859 | 12 | 0,03216 | | |

Πίνακας Π4

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) της συνεκτικότητας των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 28,16956 | 1 | 28,16956 | 1084,765 | 0,000000 |
| εγκλειστικό | 5,57483 | 6 | 0,92914 | 0,936 | 0,52861 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 2,10 | 2 | 1,05 | 42,081 | 0,00781 |
| Error | 8,8292 | 12 | 0,7357 | | |

Πίνακας Π5

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) της σκληρότητας των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 9,66944 | 1 | 9,66944 | 371,3816 | 0,000000 |
| Εγκλειστικό | 1,04761 | 6 | 0,1746 | 1,80473 | 0,35427 |
| Τύπος εμβολιασμού | 0,00277 | 2 | 0,00138 | 3,01067 | 0,11834 |
| Error | 5,85238 | 12 | 0,4877 | | |

Πίνακας Π6

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του κομμώδους των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 3,89538 | 1 | 3,89538 | 456,3952 | 0,000000 |
| εγκλειστικό | 0,47357 | 6 | 0,07893 | 1,6238 | 0,45229 |
| Τύπος εμβολιασμού | 0,01976 | 2 | 0,00988 | 4,6317 | 0,31122 |
| Error | 0,51210 | 12 | 0,04267 | | |

Πίνακας Π7

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του μικροβιακού φορτίου των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 22,50000 | 1 | 22,50000 | 19,23952 | 0,000518 |
| Εγκλειστικό | 0,06944 | 6 | 0,01157 | 1,5938 | 0,14627 |
| Τύπος εμβολιασμού | 0,01361 | 2 | 0,00681 | 0,8453 | 0,84749 |
| Error | 3,97619 | 12 | 0,3314 | | |

Πίνακας Π8

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του ιξώδους μετά την ζύμωση των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από γαλακτωματοποίηση

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 751,6857 | 1 | 751,6857 | 277,8681 | 0,000000 |
| εγκλειστικό | 1,7282 | 6 | 0,28803 | 2,194 | 0,18929 |
| Τύπος εμβολιασμού | 3,2621 | 2 | 1,63105 | 3,412 | 0,03936 |
| Error | 2,7052 | 12 | 0,22543 | | |

Πίνακας Π9

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του ιξώδους των γιαουρτιών μετά από αποθήκευση στους 4°C

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 1089,200 | 1 | 1089,200 | 688,1524 | 0,000000 |
| εγκλειστικό | 0,067 | 6 | 0,01116 | 1,211 | 0,18308 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 3,399 | 2 | 1,6995 | 4,295 | 0,02396 |
| Error | 1,583 | 12 | 0,1319 | | |

Πίνακας Π10

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του συντελεστή μ των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 0,00471 | 1 | 0,00471 | 7,85838 | 0,137407 |
| εγκλειστικό | 0,00303 | 6 | 0,00050 | 1,01100 | 0,42636 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 0,000012 | 2 | 0,000006 | 0,006625 | 0,92132 |
| Error | 0,002737 | 12 | 0,000228 | | |

Πίνακας Π11

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του συντελεστή λ των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 22514,42 | 1 | 22514,42 | 15,81583 | 0,02135 |
| εγκλειστικό | 792,108 | 6 | 132,018 | 0,82782 | 0,56280 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 3303,95 | 2 | 1651,975 | 8,6419 | 0,04885 |
| Error | 1423,54 | 12 | 118,6283 | | |

Πίνακας Π12

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) της προσκολλησιμότητας των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 0,45633 | 1 | 0,45633 | 186,4689 | 0,002718 |
| εγκλειστικό | 0,02726 | 6 | 0,288 | 3,5268 | 0,269329 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 0,01122 | 2 | 0,303 | 4,7346 | 0,214346 |
| Error | 0,01447 | 12 | 0,0072 | | |

Πίνακας Π13

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) της συνεκτικότητας των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 3,66224 | 1 | 3,66224 | 631,9692 | 0,000076 |
| εγκλειστικό | 0,06878 | 6 | 0,01146 | 9,8913 | 0,09747 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 0,00133 | 2 | 0,00066 | 4,5990 | 0,22128 |
| Error | 0,03476 | 12 | 0,00289 | | |

Πίνακας Π14

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) της σκληρότητας των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 3,42516 | 1 | 3,42516 | 154,4403 | 0,001625 |
| εγκλειστικό | 0,07560 | 6 | 0,0126 | 0,73407 | 0,520918 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 0,02946 | 2 | 0,01473 | 0,60774 | 0,428250 |
| Error | 0,07217 | 12 | 0,00601 | | |

Πίνακας Π15

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του κομμωδούς των γιαουρτιών με
εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 1,64656 | 1 | 1,64656 | 319,9955 | 0,000720 |
| εγκλειστικό | 0,03627 | 6 | 0,00605 | 1,1751 | 0,34571 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 0,03774 | 2 | 0,01887 | 2,2444 | 0,17556 |
| Error | 0,03569 | 12 | 0,00297 | | |

Πίνακας Π16

**Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του μικροβιολογικού φορτίου των γιαουρτιών
με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying**

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 59,22347 | 1 | 59,22347 | 13,40973 | 0,053981 |
| εγκλειστικό | 387,621 | 6 | 64,6035 | 10,3884 | 0,062845 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 2,42396 | 2 | 1,21198 | 1,0977 | 0,419046 |
| Error | 40,41646 | 12 | 3,36804 | | |

Πίνακας Π17

Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του ιξώδους μετά την ζύμωση των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 972,8461 | 1 | 972,8461 | 184,0385 | 0,000493 |
| εγκλειστικό | 14,0680 | 6 | 2,34467 | 1,3307 | 0,53152 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 8,4777 | 2 | 4,23885 | 3,208 | 0,25508 |
| Error | 15,2861 | 12 | 1,27384 | | |

Πίνακας Π18

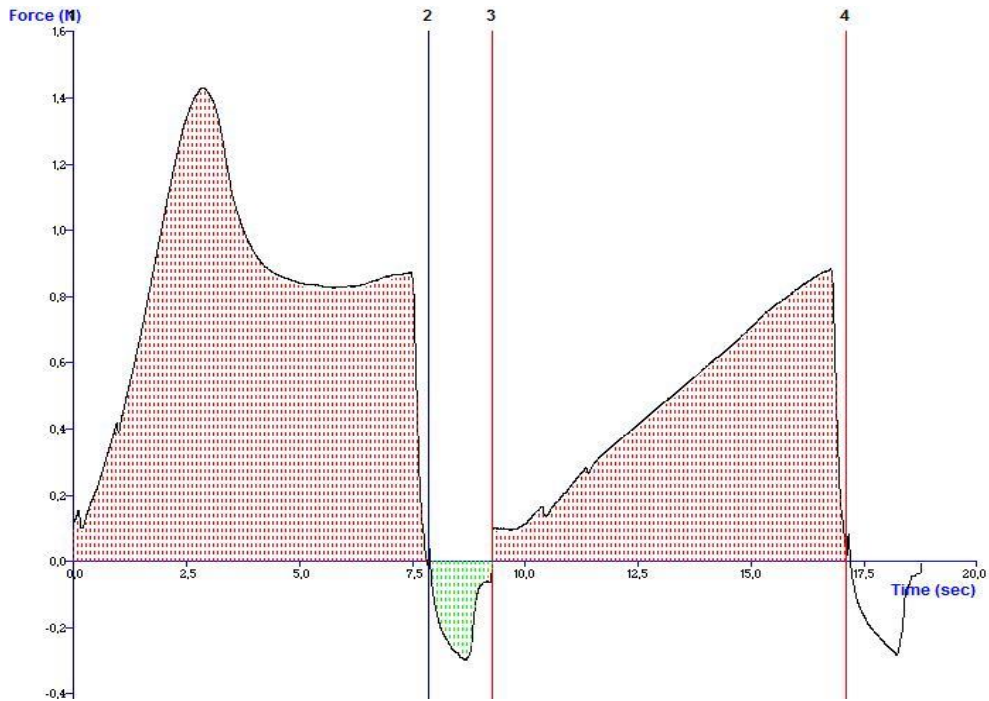
Ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) του ιξώδους των γιαουρτιών με εγκλεισμένα βακτήρια από freeze drying μετά από αποθήκευση στους 4°C

ANOVA

| | <i>SS</i> | <i>df</i> | <i>MS</i> | <i>F</i> | <i>P</i> |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Intercept | 1154,561 | 1 | 1154,561 | 84,50140 | 0,003707 |
| εγκλειστικό | 0,481 | 6 | 0,08017 | 0,01760 | 0,96144 |
| Τύπος | | | | | |
| εμβολιασμού | 2,228 | 2 | 1,114 | 0,03262 | 0,75268 |
| Error | 4,366 | 12 | 0,36383 | | |

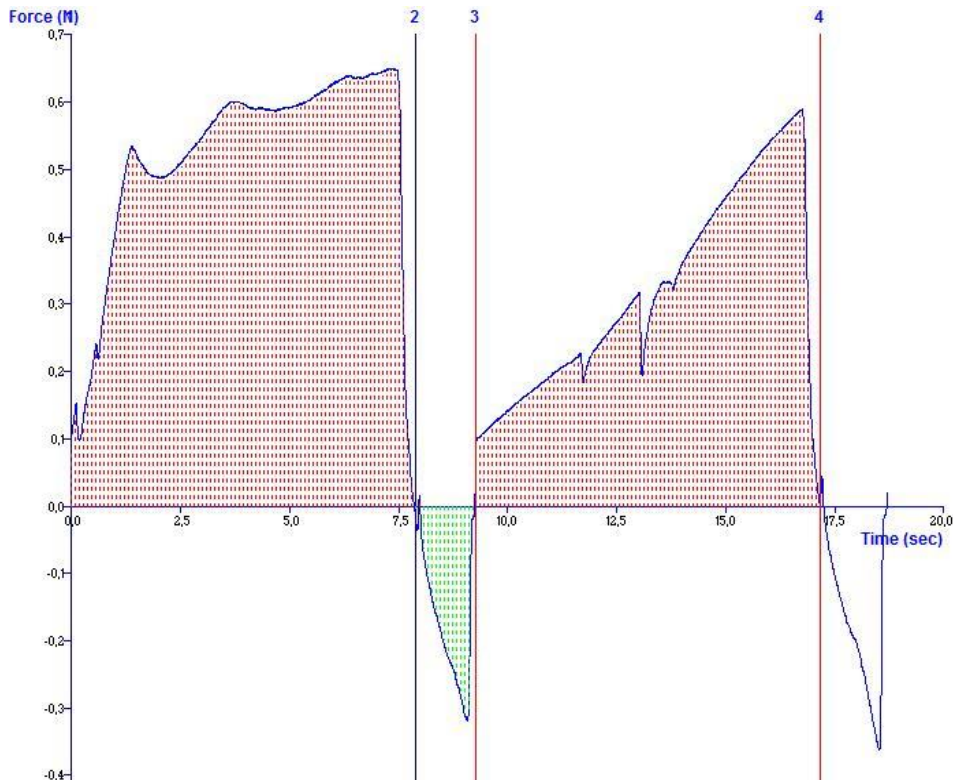
Διάγραμμα Δ1

Υφή του γιαουρτιού με ξηρή μαγιά



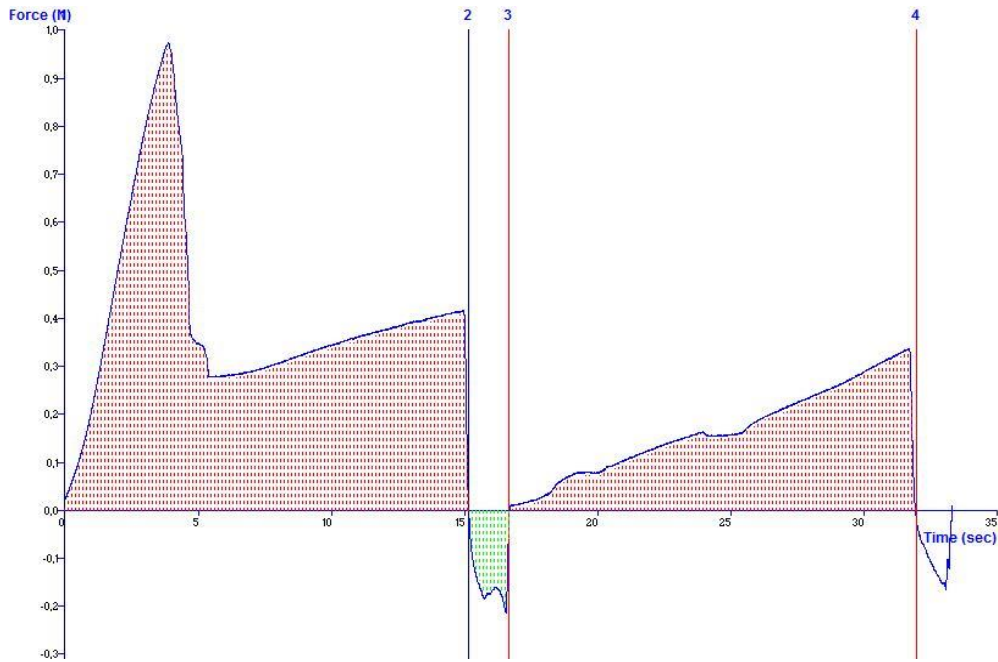
Διάγραμμα Δ2

Υφή του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο (pH 1) από γαλακτωματοποίηση



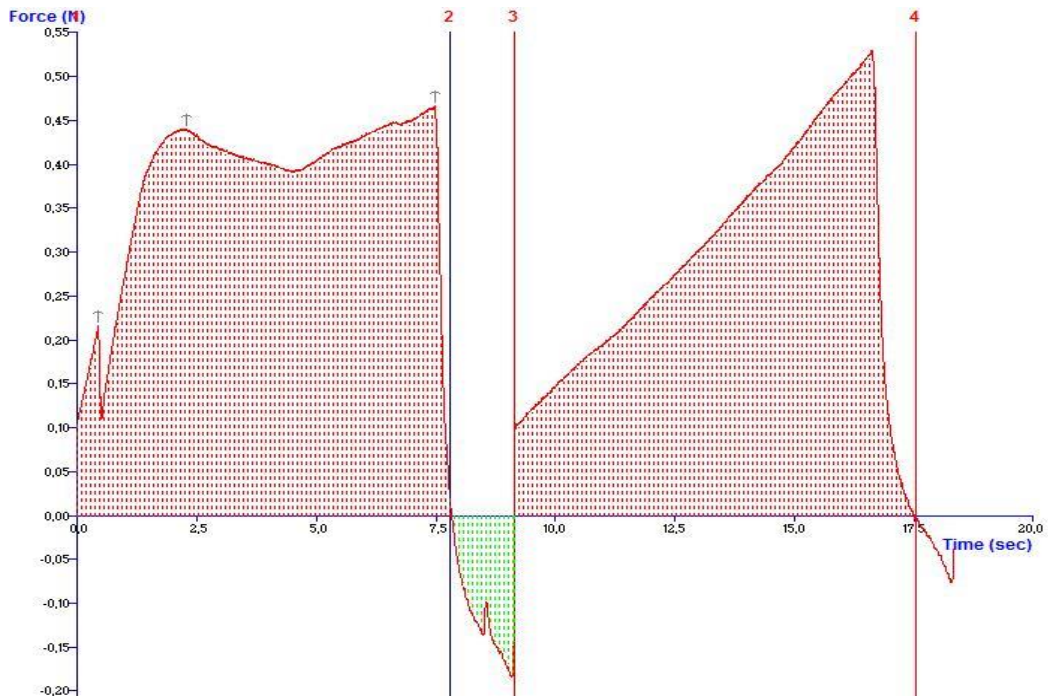
Διάγραμμα Δ3

Υφή του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο (pH 2) από γαλακτωματοποίηση



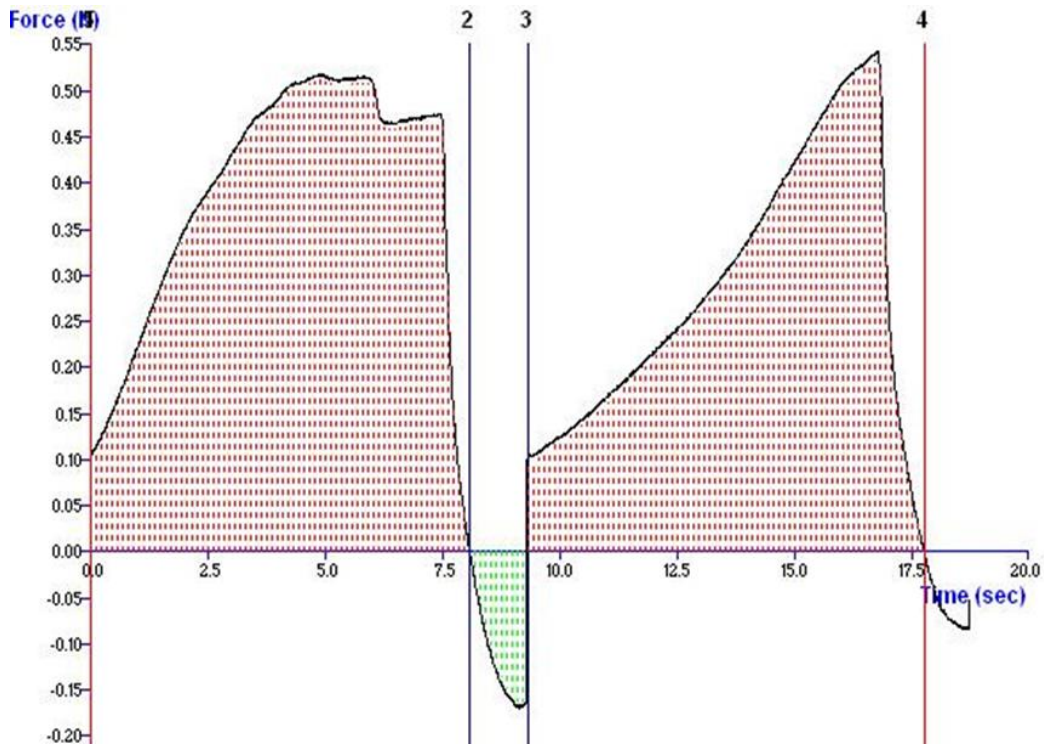
Διάγραμμα Δ4

Υφή του γιαουρτιού με κιτοζάνη (pH 1) από γαλακτωματοποίηση



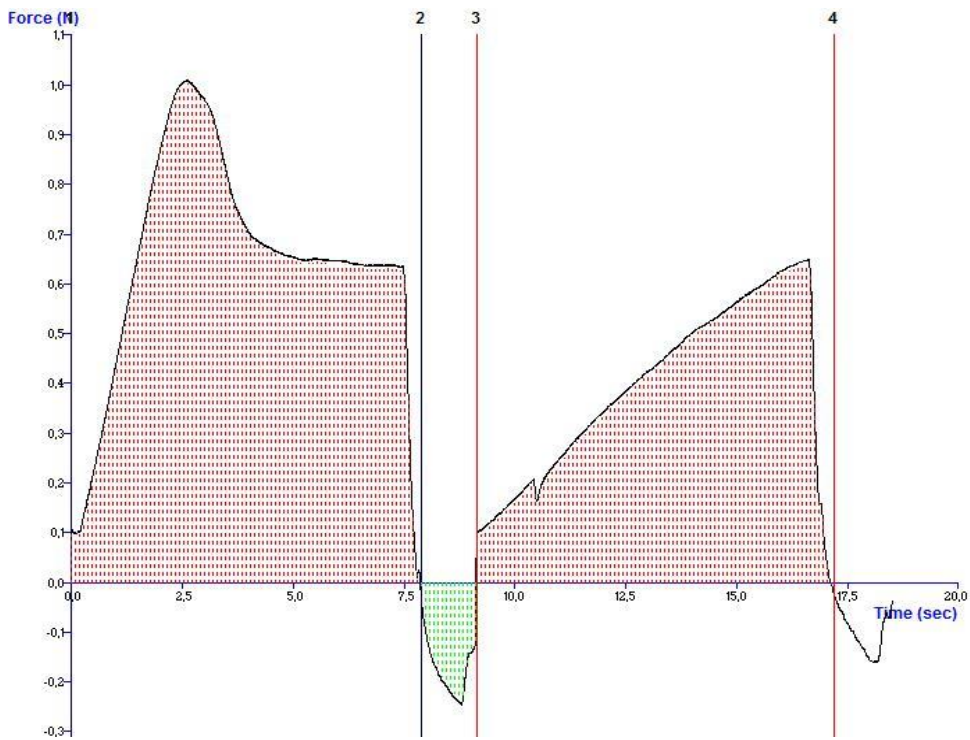
Διάγραμμα Δ5

Υφή του γιαουρτιού με χιτοζάνη (pH 2) από γαλακτωματοποίηση



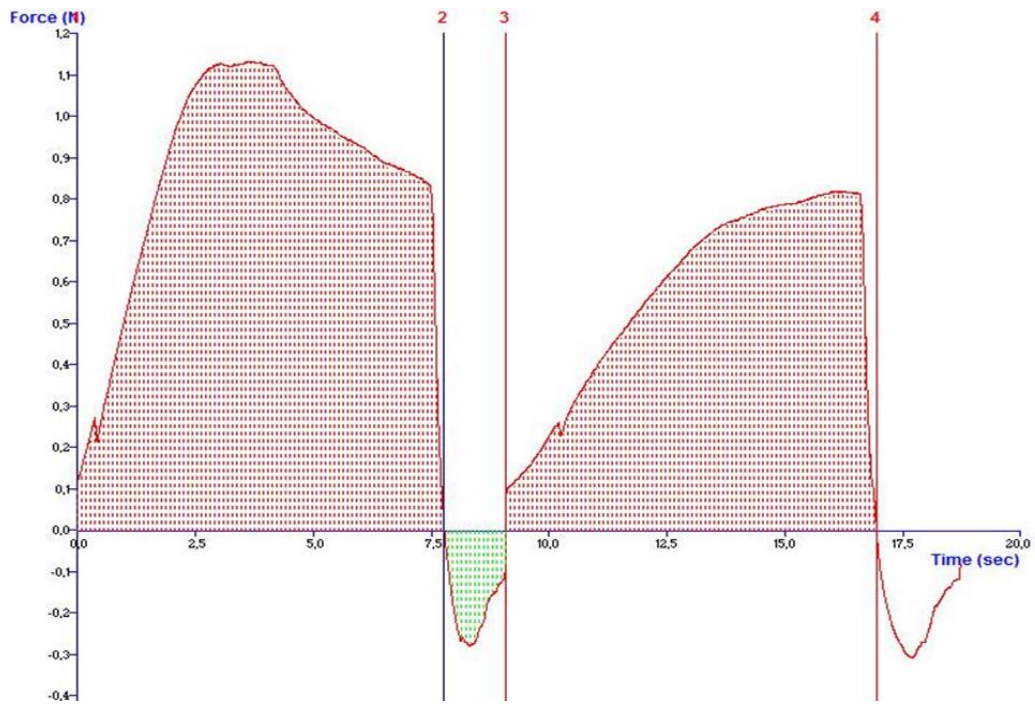
Διάγραμμα Δ6

Υφή του γιαουρτιού με ξανθάνη (pH 1) από γαλακτωματοποίηση



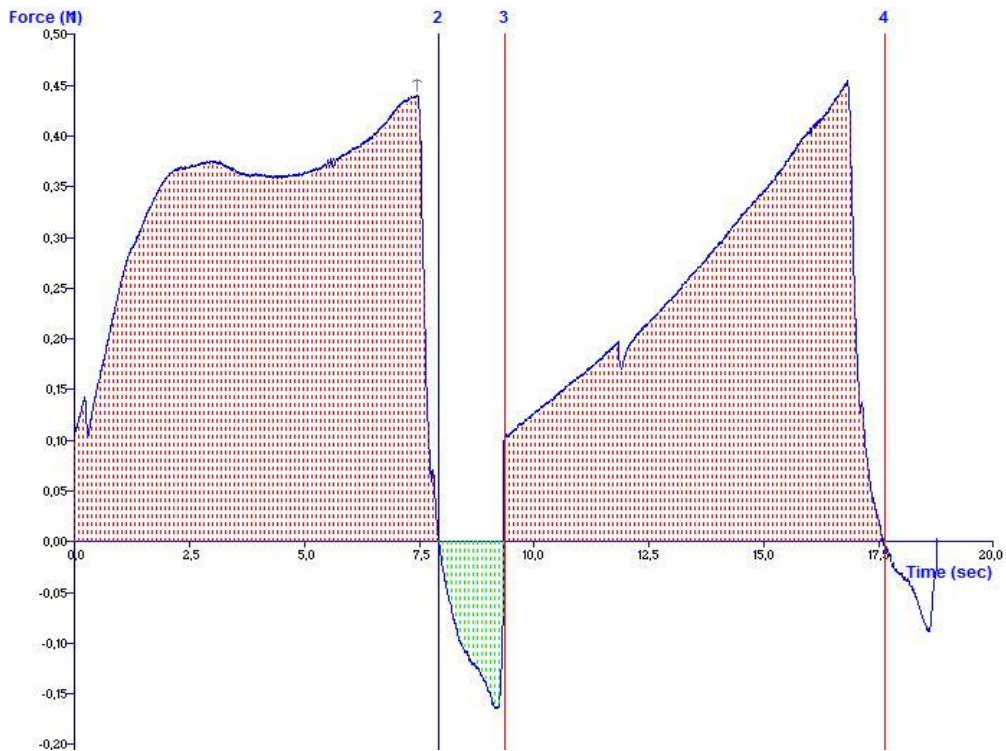
Διάγραμμα Δ7

Υφή του γιαουρτιού με ξανθάνη (pH 2) από γαλακτωματοποίηση



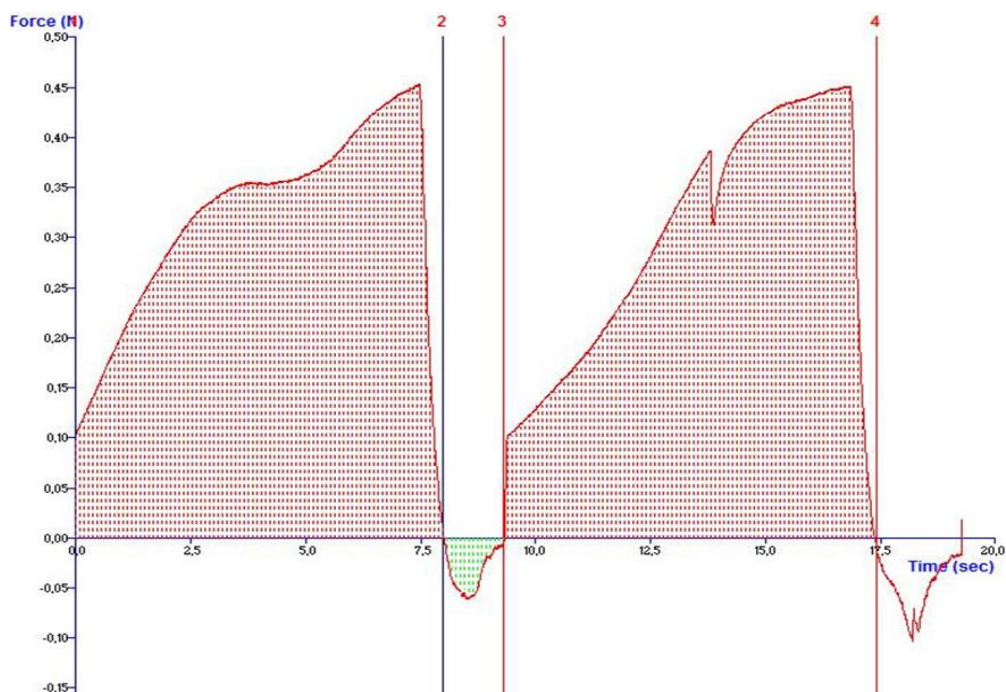
Διάγραμμα Δ8

Υφή του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη (pH 1) από γαλακτωματοποίηση



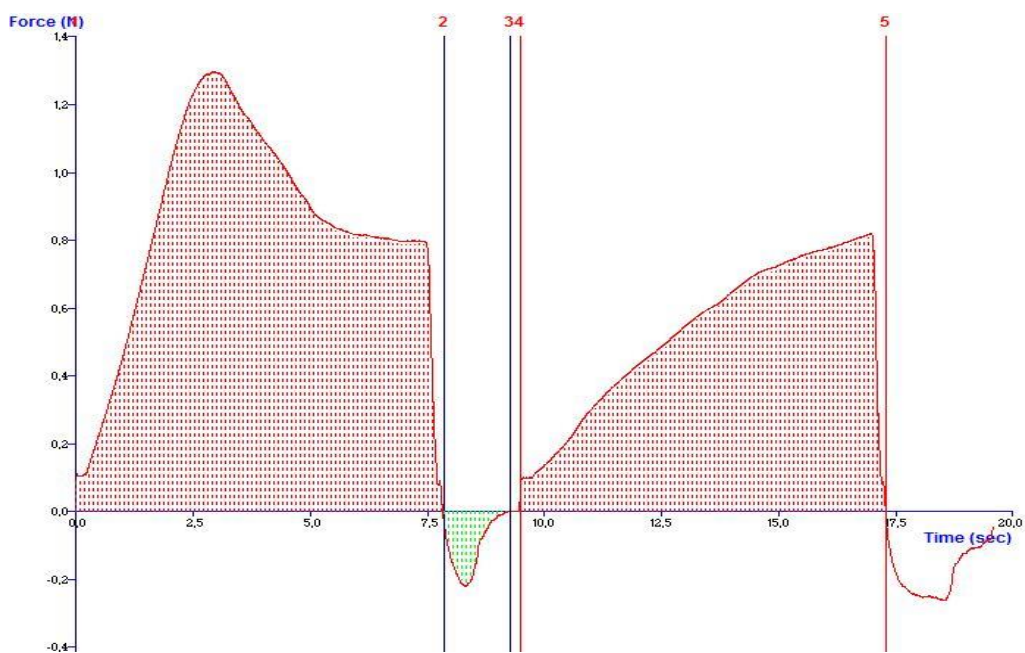
Διάγραμμα Δ9

Υφή του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη (pH 2) από γαλακτωματοποίηση



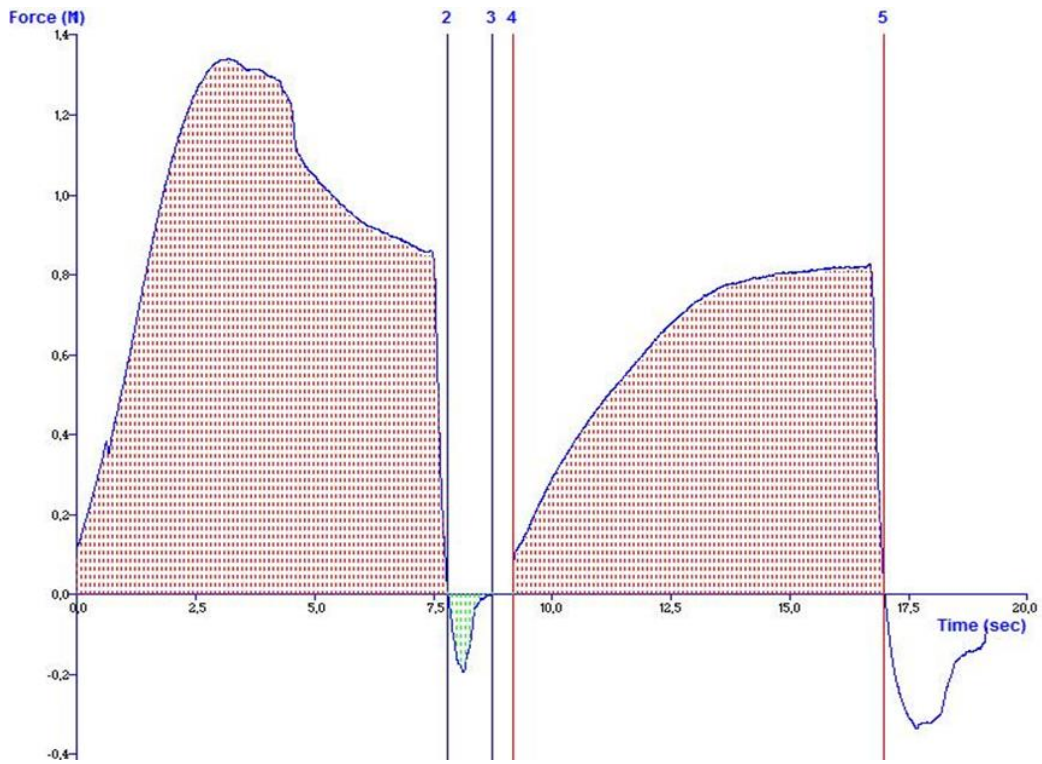
Διάγραμμα Δ10

Υφή του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη (pH 1) από γαλακτωματοποίηση



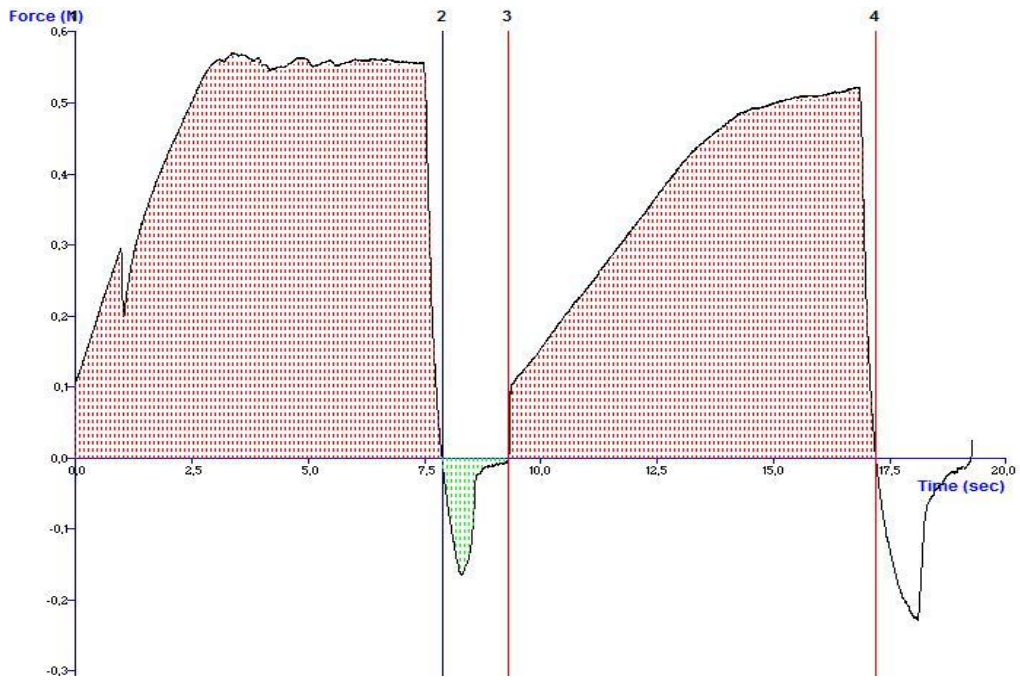
Διάγραμμα Δ11

Υφή του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη (pH 2) από γαλακτωματοποίηση



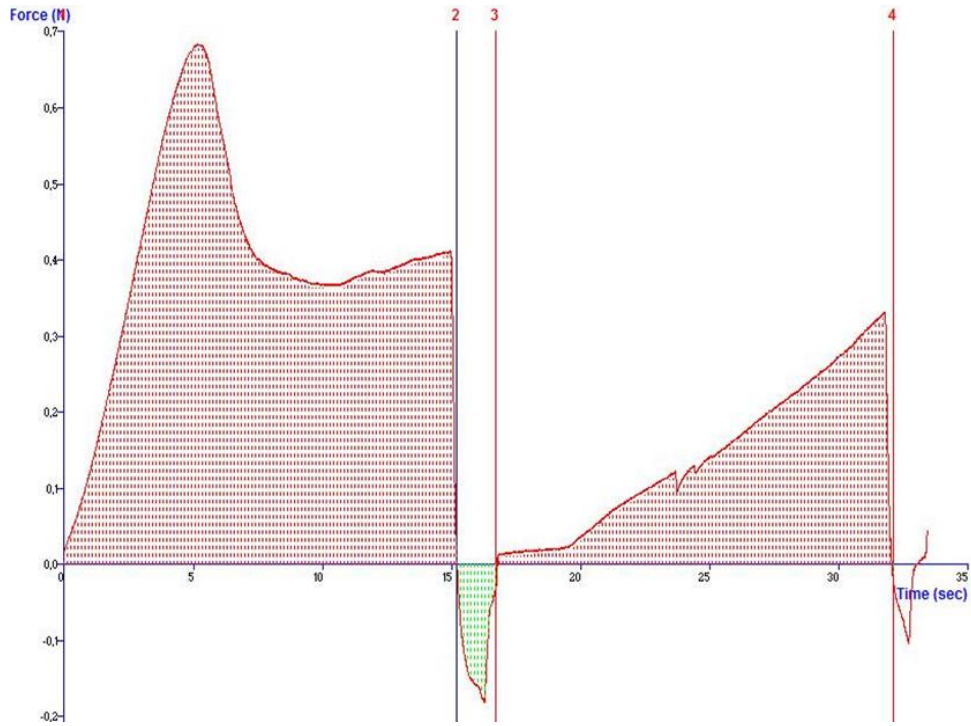
Διάγραμμα Δ12

Υφή του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο (pH 1) από freeze-drying



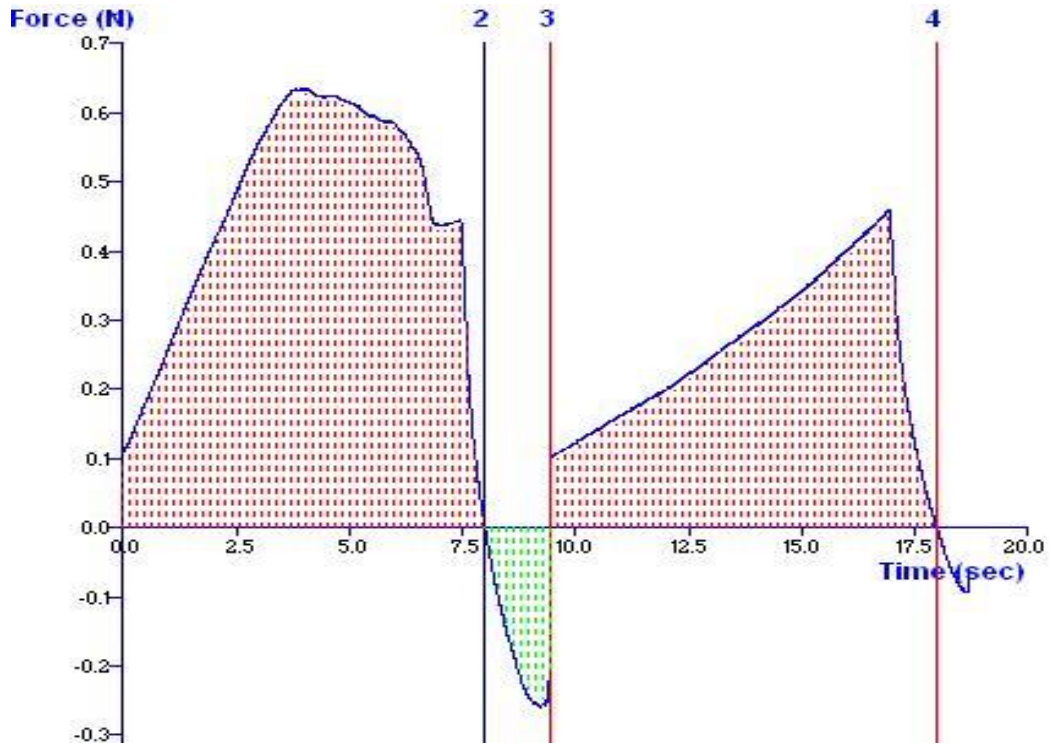
Διάγραμμα Δ13

Υφή του γιαουρτιού με αλγινικό νάτριο (pH 2) από freeze-drying



Διάγραμμα Δ14

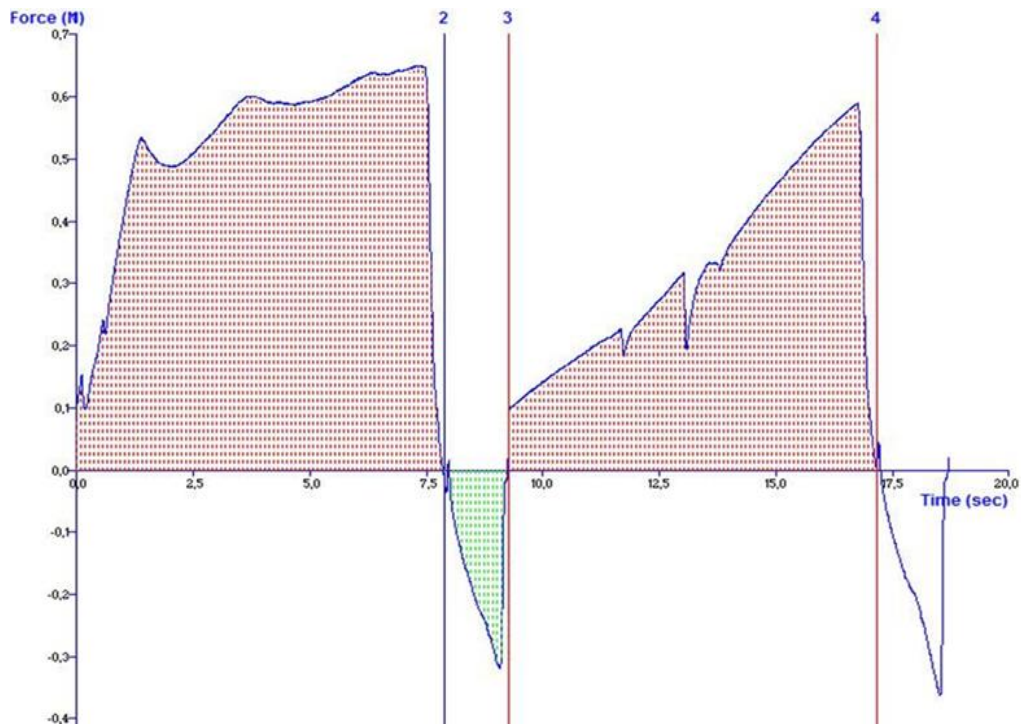
Υφή του γιαουρτιού με κίτοζάνη (pH 1) από freeze-drying



3b93

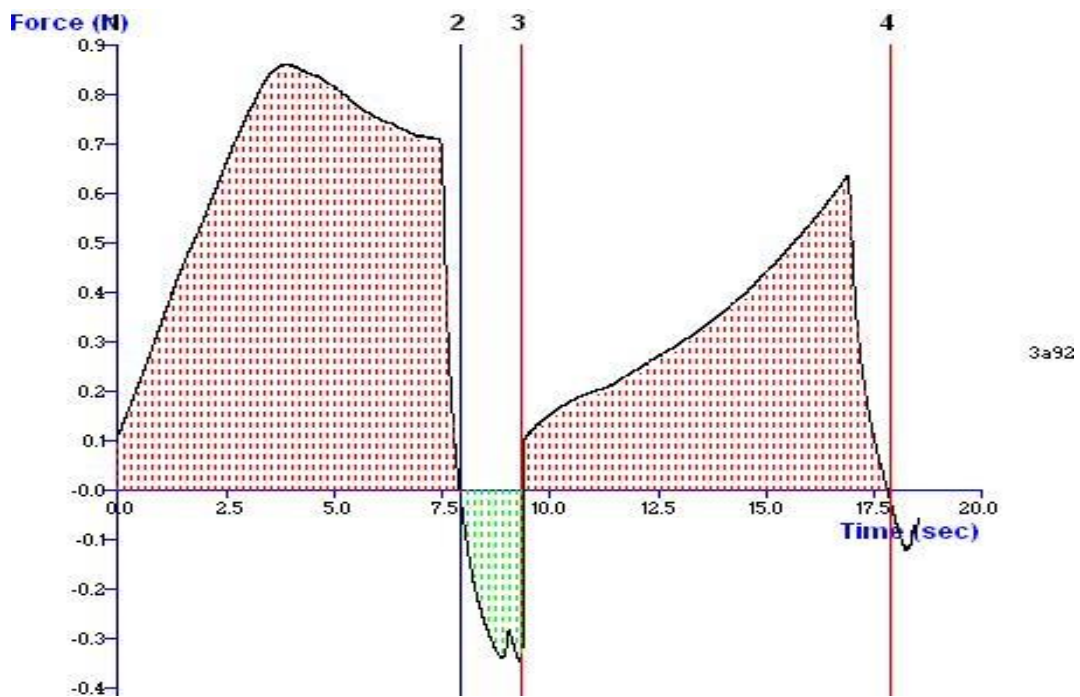
Διάγραμμα Δ15

Υφή του γιαουρτιού με χιτοζάνη (pH 2) από freeze-drying



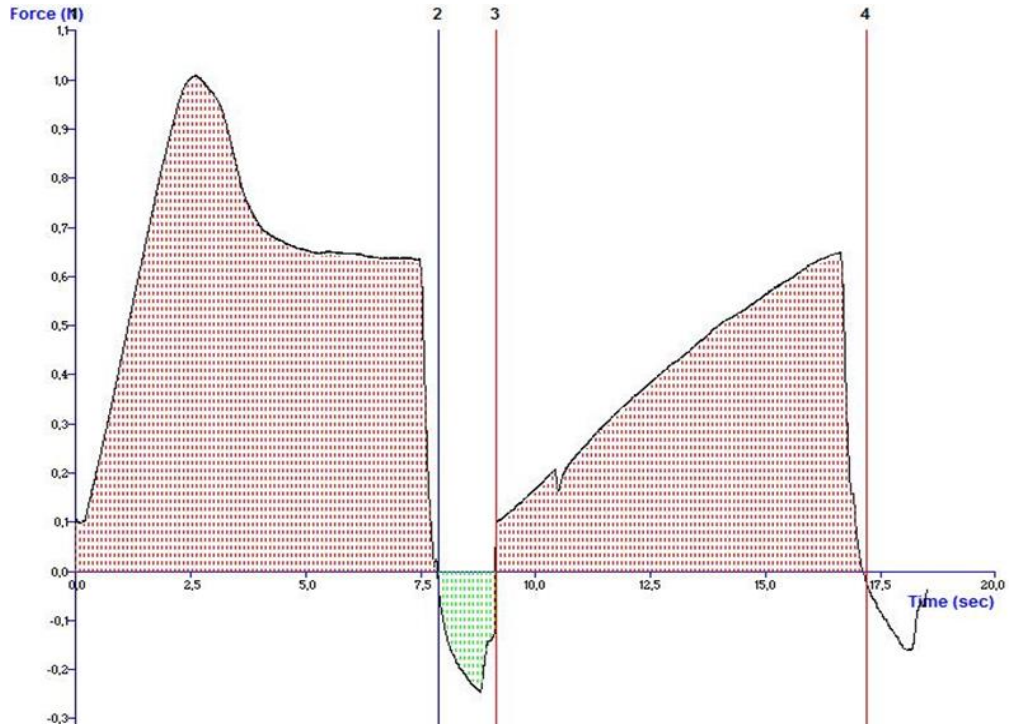
Διάγραμμα Δ16

Υφή του γιαουρτιού με ξανθάνη (pH 1) από freeze-drying



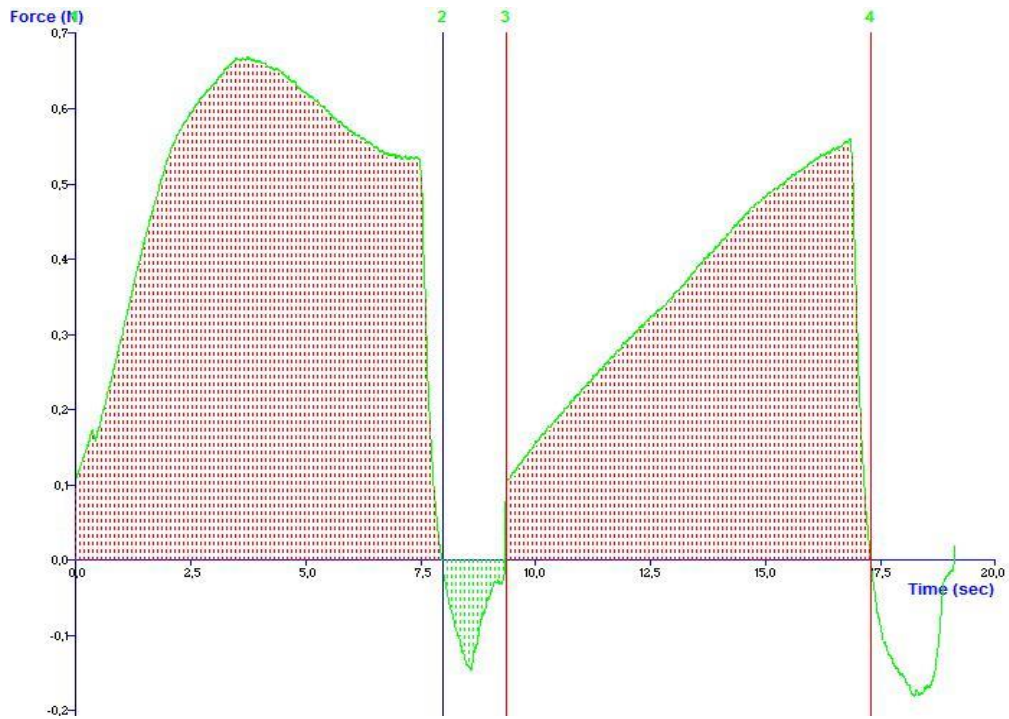
Διάγραμμα Δ17

Υφή του γιαουρτιού με ξανθάνη (pH2) από freeze-drying



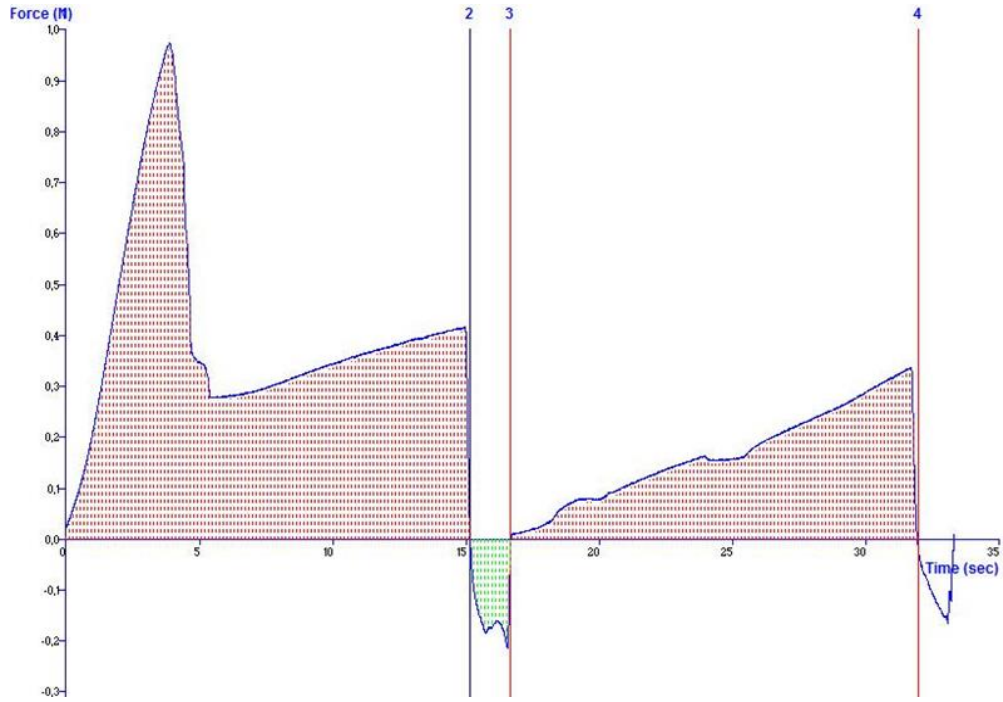
Διάγραμμα Δ18

Υφή του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη (pH 1) από freeze-drying



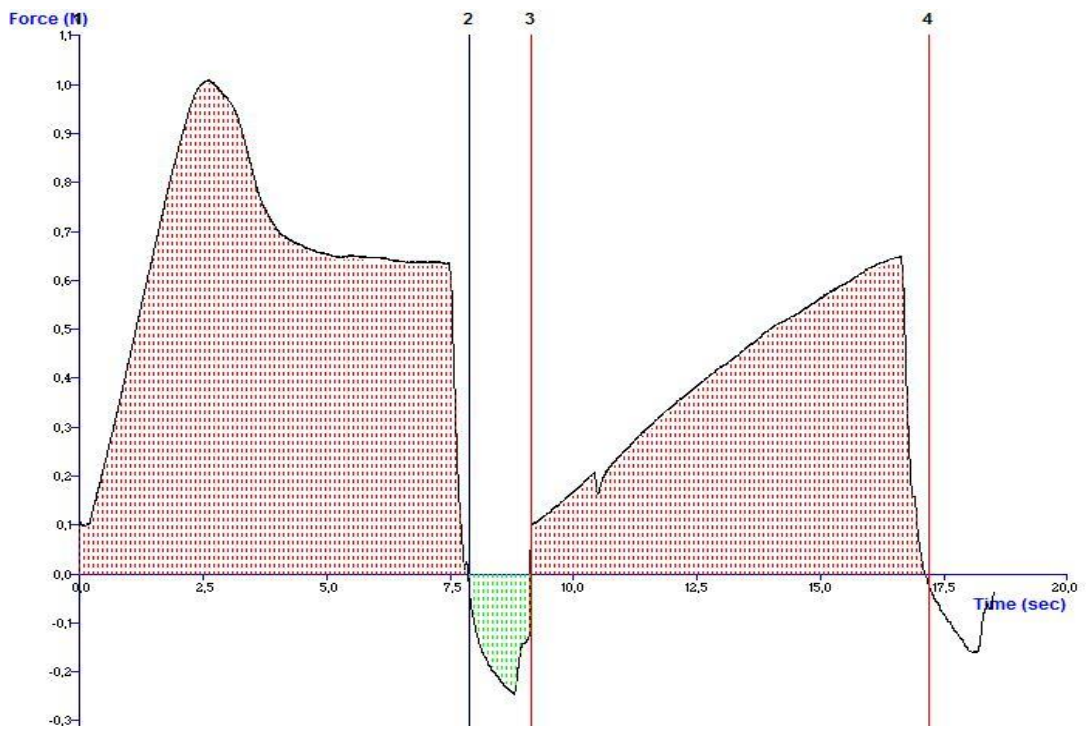
Διάγραμμα Δ19

Υφή του γιαουρτιού με κ-καραγεννάνη (pH 2) από freeze-drying



Διάγραμμα Δ20

Υφή του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη (pH 1) από freeze-drying



Διάγραμμα Δ21

Υφή του γιαουρτιού με κυκλοδεξτρίνη (pH 2) από freeze-drying

