

ΤΕΙ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Παρασκευή γιαουρτιού με χρήση ακινητοποιημένων γαλακτοβακίλλων

ΔΗΜΗΤΡΑ ΔΗΜΗΤΡΕΛΛΟΥ

A.M. 2013112

Επιβλέπων: ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΖΑΚΥΝΘΙΝΟΣ Αναπλ. Καθηγητής

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2017

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	7
1. Γάλα	8
1.1. Σάκχαρα	8
1.2. Λίπος	9
1.3. Αζωτούχες ουσίες.....	10
1.4. Άλατα	10
1.5. Βιταμίνες	11
2. Ακίνητοποίηση κυττάρων	12
2.1. Προϋποθέσεις ακίνητοποίησης κυττάρων	13
2.2. Μέθοδοι ακίνητοποίησης κυττάρων.....	14
2.2.1. Ακίνητοποίηση με προσκόλληση ή προσρόφηση σε στερεή επιφάνεια φορέα	14
2.2.2. Ακίνητοποίηση με εγκλωβισμό σε πορώδες υλικό	15
2.2.3. Μηχανική συγκράτηση.....	16
2.2.4. Συσσωμάτωση κυττάρων	16
2.3. Φορείς και τεχνικές ακίνητοποίησης στην παραγωγή τροφίμων	17
3. Lactobacilli (Γαλακτοβάκιλλοι)	18
3.1. Εφαρμογή γαλακτοβακίλλων στη βιοτεχνολογία τροφίμων και ζωοτροφών	19
3.1.1. Lactobacilli ως προβιοτικά	20
3.1.2. Lactobacilli ως εκκινητές γαλακτοκομικών.....	20
3.1.3. Lactobacilli ως εμβολιαστικά ενσίρωσης	22
3.1.4. Lactobacilli ως εργοστάσια μικροβιακών κυττάρων	22
3.1.5. Lactobacilli ως φορείς ζωντανού εμβολίου	23
4. Γιαούρτι	23
4.1. Ιστορία της παρασκευής γιαουρτιού	23
4.2. Γενική διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού	25
4.2.1. Συστατικά για την παρασκευή γιαουρτιού	26
4.2.2. Τυποποίηση γάλακτος.....	27
4.2.3. Ομογενοποίηση.....	28
4.2.4. Θερμική επεξεργασία.....	28
4.2.5. Εμβολιασμός και ζύμωση.....	29
4.2.6. Ψύξη.....	30
4.3. Διατροφικό προφίλ του γιαουρτιού.....	30
4.4. Ποικιλίες και τύποι γιαουρτιού	33
4.4.1. Με βάση τη χημική σύνθεση του προϊόντος.....	34

4.4.2. Με βάση τη φυσική κατάσταση του προϊόντος	34
4.4.3. Με βάση τη γεύση του προϊόντος.....	35
4.4.4. Προϊόντα που σχετίζονται με το γιαούρτι	36
4.4.5. Άλλοι τρόποι διαχωρισμού των γιαουρτιών	38
4.5. Κριτήρια επιλογής για καλλιέργειες γιαουρτιού.....	39
4.6. Επίδραση των προβιοτικών καλλιεργειών στα βιοτεχνολογικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού	40
4.6.1. Επίδραση προβιοτικών καλλιεργειών σε τεχνολογικά χαρακτηριστικά.....	41
4.6.1.1. Παραγωγή οξέος.....	41
4.6.1.2. Παραγωγή γεύσης.....	42
4.6.2. Επίδραση των προβιοτικών καλλιεργειών στα διατροφικά χαρακτηριστικά.....	44
4.6.2.1. Πρωτεολυτική δράση	44
4.6.2.2. Σύνθεση βιταμινών	45
4.6.2.3. Παραγωγή L(+) γαλακτικού οξέος	46
4.6.3. Επίδραση των προβιοτικών καλλιεργειών στα χαρακτηριστικά προστασίας	46
4.6.3.1. β-γαλακτοσιδάσης.....	46
4.6.3.2. Αντιβακτηριακή δραστηριότητα.....	47
4.6.3.3. Βιωσιμότητα στο γιαούρτι.....	48
4.6.3.4. Βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια της εντερικής διέλευσης	49
4.6.3.5. Εντερικός αποικισμός.....	50
4.6.3.6. Ανοσολογικές ιδιότητες.....	51
4.6.3.7. Αντι-καρκινικές ιδιότητες.....	51
4.6.3.8. Υποχοληστερολαιμικές ιδιότητες	52
4.7. Οφέλη υγείας του γιαουρτιού	52
4.7.1. Δυσανεξία στη λακτόζη	53
4.7.2. Έλεγχος βάρους.....	54
4.7.3. Υγεία του πεπτικού συστήματος και ανοσία.....	54
4.7.4. Καλύτερη απορρόφηση θρεπτικών ουσιών	54
4.7.5. Προβιοτικά	54
4.7.5.1. Διάρροια.....	55
4.7.5.2. Ανοσολογικές Επιδράσεις.....	56
4.7.5.3. Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου	56
4.7.5.4. Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου	57
4.7.5.5. Οργανοληπτικές ιδιότητες του προβιοτικού γιαουρτιού.....	57
4.8. Ενίσχυση του γιαουρτιού με πρόσθετες ουσίες που προάγουν την υγεία	58
5. Πίτουρο ρυζιού.....	60

5.1. Αντιοξειδωτική ιδιότητα.....	60
5.2. Πίτουρο ρυζιού σε τρόφιμα	61
5.3. Ιατρικές χρήσεις	61
5.3.1. Μείωση της χοληστερόλης.....	61
5.3.2. Η στεφανιαία νόσο (ΣΚΝ)	62
5.4. Οφέλη για την υγεία	64
5.5. Άλλες χρήσεις	64
6. <i>Lactobacillus plantarum</i>	65
7. Ακίνητοποίηση κυττάρων <i>Lactobacillus plantarum</i> σε πίτουρο ρυζιού	66
8. Συμπεράσματα	68
9. Βιβλιογραφία	69

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανάπτυξη νέων λειτουργικών τροφών που περιέχουν προβιοτικά, όπως γαλακτικά βακτήρια και bifidobacteria, είναι ένας ιδιαίτερα αναπτυσσόμενος τομέας της βιομηχανίας τροφίμων και προσελκύει το ενδιαφέρον στον τομέα της διατροφής λόγω των ωφέλιμων ιδιοτήτων τους για την ανθρώπινη υγεία. Η διατήρηση της μικροβιακής ομοιόστασης του εντέρου, η πρόληψη των παθογόνων λοιμώξεων, η σταθεροποίηση της λειτουργίας του γαστρεντερικού συστήματος και η παραγωγή αντικαρκινικών ενώσεων συμπεριλαμβάνονται στα ευεργετικά αποτελέσματα των προβιοτικών τροφών, κυρίως γιαουρτιού και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων. Ωστόσο, για να αποδώσουν τα οφέλη τους για την υγεία, τα προβιοτικά πρέπει να υπάρχουν στα τρόφιμα πάνω από ένα όριο ($> 6 \log \text{ cfu g}^{-1}$) τη στιγμή της κατανάλωσης, προκειμένου να επιβιώσουν τη διέλευση από το άνω και το κάτω μέρος του γαστρεντερικού σωλήνα, μια απαίτηση που δεν εκπληρώνεται πάντοτε. Είναι πλέον εδραιωμένο ότι η ακινητοποίηση των κυττάρων ενισχύει τη βιωσιμότητα των καλλιεργειών κατά την παραγωγή, επεξεργασία, αποθήκευση και προσομοίωση γαστρεντερικών συνθηκών. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η συλλογή των πρόσφατων τάσεων στον τομέα της παραγωγής γιαουρτιού χρησιμοποιώντας ακινητοποιημένα κύτταρα. Ειδικότερα, παρουσιάζονται οι διάφορες τεχνικές ακινητοποίησης σε συνδυασμό με τα πολυάριθμα πλεονεκτήματά τους. Επιπλέον γίνεται μια λεπτομερής παρουσίαση της παραγωγής γιαουρτιού, των ποικιλιών γιαουρτιού και της βιοχημείας του γιαουρτιού. Στο τελευταίο μέρος της παρούσας εργασίας προτείνεται ένας νέος φορέας για την ακινητοποίηση γαλακτικών βακτηρίων για χρήση στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Το πίτουρο ρυζιού είναι ένας ιδανικός φορέας ακινητοποίησης με πολλά οφέλη για την υγεία και εφαρμογή στα τρόφιμα και την ιατρική. Πραγματοποιήθηκε ακινητοποίηση κυττάρων *Lactobacillus plantarum* σε πίτουρο ρυζιού η οποία επιβεβαιώθηκε με χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης. Τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας είναι πολύ ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη νέων λειτουργικών τροφίμων βασισμένων σε πίτουρο ρυζιού.

Λέξεις κλειδιά: ακινητοποίηση, πίτουρο ρυζιού, *Lactobacillus plantarum*, γιαούρτι, γαλακτοκομικά προϊόντα, λειτουργικά τρόφιμα.

ABSTRACT

The development of novel functional foods containing probiotic, such as lactic acid bacteria and bifidobacteria, is a highly growing area of the food industry and attracts special interest from the field of nutrition, due to their beneficial properties to human health. Maintenance of intestinal microbial homeostasis, prevention of pathogenic infections, stabilization of the gastrointestinal barrier function, and production of anticancer and antimutagenic compounds are included among the beneficial effects of probiotic-based foods, mainly yogurt and other dairy products. However, to deliver their health benefits, probiotics must be present in food products above a threshold level ($>6 \log \text{ cfu g}^{-1}$) at the time of consumption, in order to survive the passage through the upper and lower parts of the gastrointestinal tract; a requirement that is not always fulfilled. It is well established that cell immobilization enhances the viability of cultures during food production, processing, storage and simulated gastrointestinal conditions. The aim of the present study was to provide all the recent trends in the field of yogurt production using immobilized cells. More specifically the different immobilization techniques are presented in combination with their numerous advantages. Furthermore a detail presentation of yogurt production, yogurt varieties and yogurt biochemistry is presented. In the last part of the present study a new support for immobilization of lactic acid bacteria for dairy applications is proposed. Rice bran is an ideal immobilization support with numerous health benefits and application in food and medicine. Immobilization of *Lactobacillus plantarum* cells on rice bran was performed and proved with Scanning Electron Microscopy. The results of this study are very promising for the development of new functional foods based on rice bran.

Keywords: immobilization, rice bran, *Lactobacillus plantarum*, yogurt, dairy products, functional foods.

1. Γάλα

Το γάλα είναι το υγρό που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες των θηλυκών θηλαστικών. Περιέχει σχεδόν όλες τις θρεπτικές ουσίες που είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της ζωής. Από την αρχαιότητα, οι άνθρωποι χρησιμοποίησαν το γάλα των αιγών, των προβάτων, των αγελάδων και άλλων θηλαστικών ως τρόφιμο. Σήμερα ο όρος "γάλα" είναι συνώνυμος με το αγελαδινό γάλα, ενώ το γάλα άλλων ζώων πρέπει να αναφέρεται, π.χ. πρόβειο γάλα ή κατσικίσιο γάλα, όταν διατίθεται στο εμπόριο.

Το χρώμα του γάλακτος είναι λευκό ή λευκο-κίτρινο. Η ένταση του χρώματος εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε λιπαρά, τον τύπο του ζώου, τη διατροφή κλπ. Η οσμή του γάλακτος είναι χαρακτηριστική και εξαρτάται από τον τύπο του ζώου και τις συνθήκες ζωής του. Από τους ίδιους παράγοντες εξαρτάται και η γεύση του γάλακτος, η οποία είναι κυρίως ήπια γλυκιά.

Η σύσταση του γάλακτος ποικίλλει σε σημαντικό βαθμό (Πίνακας 1). Σε όλες τις περιπτώσεις το νερό είναι το κύριο συστατικό του γάλακτος με ποσοστά 63-87%.

Πίνακας 1: Σύσταση του γάλακτος διαφόρων θηλαστικών (Belitz and Grosch, 1999).

Γάλα	Πρωτεΐνη (%)	Σάκχαρα (%)	Λίπος (%)	Τέφρα (%)
Αγελαδινό	3,2	4,6	3,9	0,7
Αίγιο	3,2	4,3	4,5	0,8
Πρόβειο	4,6	4,8	7,2	0,9

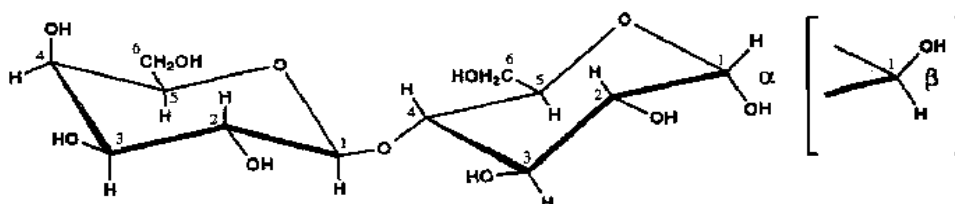
1.1. Σάκχαρα

Η λακτόζη είναι ο κύριος υδατάνθρακας στο γάλα όλων των θηλαστικών, ενώ η προέλευσή της από άλλες πηγές που δεν προέρχονται από θηλαστικά είναι πολύ σπάνιες. Το γάλα περιέχει μόνο ίχνη άλλων σακχάρων, όπως γλυκόζη (50 mg L^{-1}), φρουκτόζη, γλυκοζαμίνη, γαλακτοζαμίνη και ουδέτερους και όξινοους ολιγοσακχαρίτες. Η συγκέντρωση της λακτόζης στο γάλα εξαρτάται από τη φυλή, την ατομικότητα και τους διατροφικούς παράγοντες και ποικίλλει μεταξύ των διαφόρων ειδών θηλαστικών (Πίνακας 2).

Πίνακας 2: Συγκέντρωση (%) της λακτόζης στο γάλα διαφόρων θηλαστικών (Fox and McSweeney, 1998).

Ζώο	% Λακτόζη
Δελφίνη	0,6
Ποντίκι	3,0
Αίγα	4,1
Αγελάδα	4,8
Πρόβατο	4,8
Γουρούνι	5,5
Άλογο	6,2
Άνθρωπος	7,0

Η λακτόζη είναι ένας ανάγων διασacχαρίτης που αποτελείται από γλυκόζη και γαλακτόζη, συνδεδεμένα με β-1 → 4-Ο-γλυκοζιτικό δεσμό. Η ομάδα αλδεΐδης στον άνθρακα C1 της γλυκόζης υπάρχει κυρίως στη μορφή ημιακετάλης και, συνεπώς, ο άνθρακας C1 είναι ένας ασύμμετρος άνθρακας. Επομένως, όπως όλα τα ανάγοντα σάκχαρα, η λακτόζη υπάρχει σε δύο μορφές, α και β. Στον συντακτικό τύπο της α-μορφής, η υδροξυλομάδα στον άνθρακα C1 της γλυκόζης είναι cis προς την υδροξυλομάδα στον άνθρακα C2 (προσανατολισμένη προς τα κάτω). (Σχήμα 1).



Σχήμα 1: Οι δομές της α- και β-λακτόζης.

1.2. Λίπος

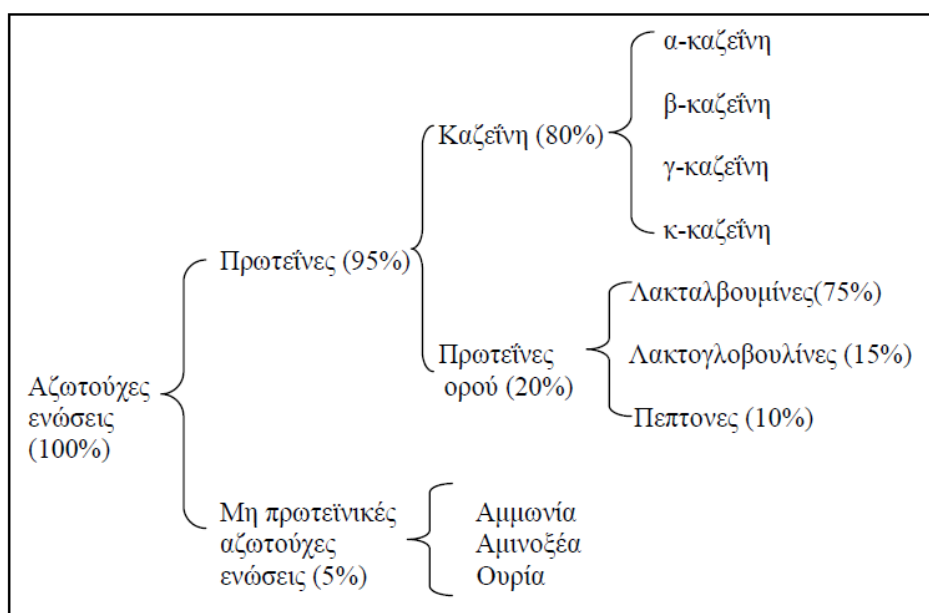
Τα γάλατα όλων των θηλαστικών περιέχουν λιπίδια, αλλά η συγκέντρωσή τους ποικίλει ευρέως μεταξύ των ειδών από 2% έως περισσότερο από 50%. Τα λιπίδια του γάλακτος είναι σημαντικά ως πηγή των απαραίτητων λιπαρών οξέων (δηλ. λιπαρών οξέων που δεν μπορούν να συνθέσουν τα ανώτερα ζώα, ιδιαίτερα λινολεϊκό οξύ) και των λιποδιαλυτών βιταμινών (A, D, E, K). Επίσης σε αυτά οφείλονται η γεύση και οι ρεολογικές ιδιότητες των γαλακτοκομικών προϊόντων και των τροφίμων στα οποία χρησιμοποιούνται.

Τα τριγλυκερίδια αντιπροσωπεύουν το 97-98% των συνολικών λιπιδίων στο γάλα των περισσότερων ειδών και τα φωσφολιπίδια αντιπροσωπεύουν λιγότερο από 1%.

Το λίπος του γάλακτος, ιδιαίτερα τα λίπη των μηρυκαστικών, περιέχει πολύ ευρύ φάσμα λιπαρών οξέων: περισσότερα από 400 και 184 διακριτά οξέα έχουν ανιχνευθεί στα λιπαρά του γάλακτος της αγελάδας και του ανθρώπου αντίστοιχα. Ωστόσο, η συντριπτική πλειονότητα αυτών παρατηρείται μόνο σε ίχνη (Christie, 1995).

1.3. Αζωτούχες ουσίες

Οι αζωτούχες ουσίες του γάλακτος χωρίζονται σε πρωτεΐνες και σε μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες. Οι πρωτεΐνες μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες: τις καζεΐνες, οι οποίες συσσωματώνονται όταν το γάλα οξινίζεται σε pH 4,6 και τις πρωτεΐνες του ορού ή τυρογάλακτος, οι οποίες στο ίδιο pH παραμένουν στο διάλυμα. Αυτές μπορούν να χωριστούν περαιτέρω σε μικρότερες κατηγορίες (Σχήμα 2). Οι μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ουσίες είναι κυρίως αμμωνία, αμινοξέα, ουρία και πολλά άλλα σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.



Σχήμα 2: Αζωτούχες ενώσεις αγελαδινού γάλακτος (Κυριακοπουλος, 1995).

1.4. Άλατα

Τα άλατα του γάλακτος είναι κυρίως φωσφορικά, κιτρικά, χλωριούχα, θειικά, ανθρακικά και διττανθρακικά άλατα νατρίου, καλίου, ασβεστίου και μαγνησίου (Πίνακας 3). Περίπου 20 άλλα ανόργανα βρίσκονται στο γάλα ως ιχνοστοιχεία, όπως χαλκός, σίδηρος, πυρίτιο, ψευδάργυρος και ιώδιο. Τα κύρια μέταλλα (ιδίως Ca) είναι σημαντικά στη διατροφή,

στην παρασκευή, στην επεξεργασία και στην αποθήκευση των γαλακτοκομικών προϊόντων λόγω της αξιοσημείωτης επίδρασης τους στη διαμόρφωση και τη σταθερότητα των πρωτεϊνών του γάλακτος, ιδιαίτερα των καζεϊνών, και σε μικρότερο βαθμό στη σταθερότητα των λιπιδίων και τη δραστηριότητα ορισμένων ενδογενών ενζύμων.

Η περιεκτικότητα σε τέφρα του γάλακτος παραμένει σχετικά σταθερή στο 0,7-0,9%, αλλά οι συγκεντρώσεις των διαφόρων ιόντων μπορεί να διαφέρουν σημαντικά.

Πίνακας 3: Ανόργανα συστατικά σε πρόβειο, αγελαδινό, αίγαιο και ανθρώπινο γάλα.

Ανόργανα συστατικά	Πρόβειο^a (mg/kg)	Αγελαδινό^a (mg/kg)	Αίγαιο^b (mg/L)	Ανθρώπινο^b (mg/L)
Ca	2056	1199	1304	280
Fe	0,770	0,441	0,5	0,3
Mg	193,53	104,96	136	35
P	-	-	1080	140
K	1568	1678	1996	5,25
Na	509,51	575,53	488	180
Zn	5,660	4,206	2,9	1,2
Cu	0,411	0,155	0,23	0,25
Mn	0,089	0,026	-	-
Συνολική τέφρα %	0,90	0,73	0,90	0,31

^a From Rincon et al., 1994.

^b From O' Connor 1994.

1.5. Βιταμίνες

Η κύρια ταξινόμηση των βιταμινών (Πίνακας 4) βασίζεται στη διαλυτότητα τους στο νερό. Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες είναι αυτές της ομάδας Β (θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, νιασίνη, βιοτίνη, παντοθενικό, φολικό, πυριδοξίνη (και συναφείς ουσίες, βιταμίνη Β6) και κοβαλαμίνη (και τα παράγωγά της, βιταμίνη Β12)) και το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C). Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες είναι οι ρετινάλες (βιταμίνη Α), καλσιφερόλες (βιταμίνη D), τοκοφερόλες (και σχετικές ενώσεις, βιταμίνη Ε) και φυλλοκινόνη (και σχετικές ενώσεις, βιταμίνη Κ). Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες και η βιταμίνη Κ λειτουργούν ως συνένζυμα ενώ η βιταμίνη Α είναι

σημαντική στη διαδικασία της όρασης, η βιταμίνη D λειτουργεί σαν ορμόνη και η βιταμίνη E είναι πρωτίστως αντιοξειδωτική.

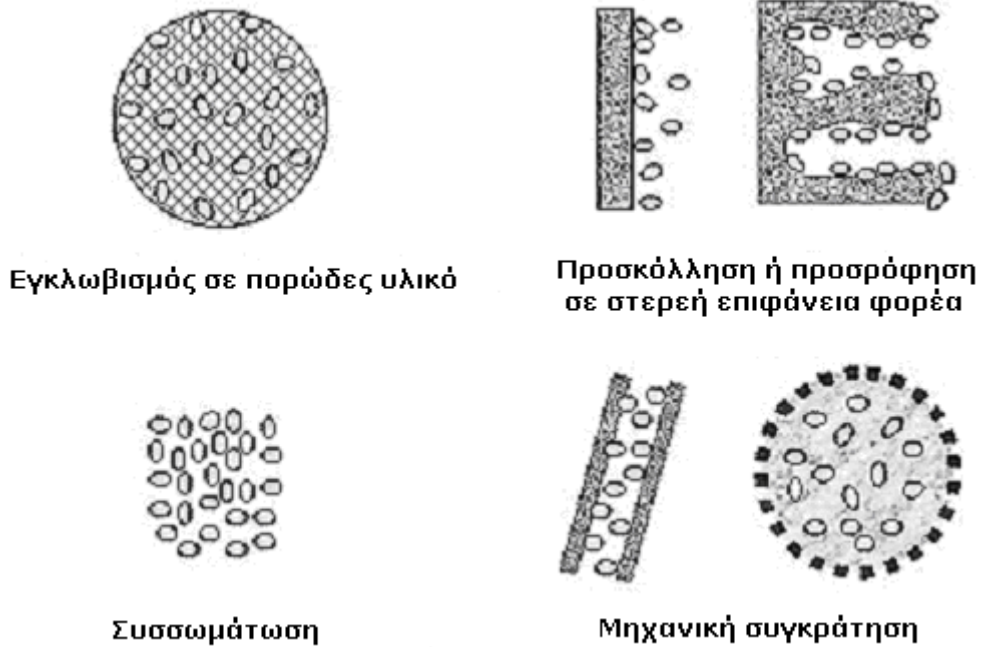
Πίνακας 4: Μέση σύσταση βιταμινών σε αγελαδινό, αίγαιο, πρόβειο και ανθρώπινο γάλα (Posati and Orr, 1976).

Βιταμίνη	Αγελαδινό (mg/100g)	Αίγαιο (mg/100g)	Πρόβειο (mg/100g)	Ανθρώπινο (mg/100g)
Βιταμίνη A	0,4	0,6	0,45	0,6
Βιταμίνη B ₁	0,038	0,048	0,065	0,014
Βιταμίνη B ₂	0,162	0,138	0,355	0,036
Βιταμίνη B ₆	0,042	0,046	-	0,011
Βιταμίνη B ₁₂	0,00036	0,00006	0,0007	0,00004
Βιταμίνη C	0,94	1,29	4,16	5,00
Νιασίνη B ₃	0,084	0,277	0,417	0,177
Παντοθενικό οξύ B ₅	0,314	0,310	0,407	0,223
Φολικό οξύ B ₉	0,0005	0,0001	-	0,0005

2. Ακίνητοποίηση κυττάρων

Η ακίνητοποίηση κυττάρων ορίζεται ως “ο φυσικός περιορισμός κυττάρων σε ένα συγκεκριμένο φορέα με διατήρηση της επιθυμητής καταλυτικής δράσης” (Karel et al., 1985). Πολλοί μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να προσκολλούν σε διαφορετικές επιφάνειες στη φύση.

Οι κυριότερες τεχνικές ακίνητοποίησης είναι: (α) προσκόλληση ή προσρόφηση σε στερεή επιφάνεια φορέα (adsorption), (β) εγκλωβισμός σε πορώδες υλικό (entrapment within a porous matrix), (γ) συσσωμάτωση (cell flocculation, aggregation) και (δ) μηχανική συγκράτηση (mechanical containment behind a barrier) (Pilkington et al., 1998) (Σχήμα 3).



Σχήμα 3: Μέθοδοι ακινητοποίησης μικροοργανισμών.

2.1. Προϋποθέσεις ακινητοποίησης κυττάρων

Για να είναι ένας φορέας κατάλληλος για ακινητοποίηση κυττάρων θα πρέπει να πληροί κάποιες προϋποθέσεις (Freeman, 1984; Martin, 1991).

- Να είναι άφθονος στη φύση
- Να έχει μεγάλη επιφάνεια για να προσκολλούνται πάνω του τα κύτταρα
- Να είναι εύκολος στο χειρισμό και να αναπαράγεται
- Να έχει υψηλή βιωσιμότητα κυττάρων και λειτουργική σταθερότητα καθώς και να διατηρούνται τα ακινητοποιημένα κύτταρα για μεγάλο χρονικό διάστημα
- Να είναι καθαρός ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί στα τρόφιμα, να μην επηρεάζει την ποιότητα του προϊόντος και να είναι αποδεκτός οργανοληπτικά από τον καταναλωτή
- Ο φορέας και η διαδικασία της ακινητοποίησης θα πρέπει να είναι εύκολη, χαμηλού κόστους και να υπάρχει η δυνατότητα για scale-up

2.2. Μέθοδοι ακινητοποίησης κυττάρων

2.2.1. Ακινητοποίηση με προσκόλληση ή προσρόφηση σε στερεή επιφάνεια φορέα

Συστήματα τα οποία χρησιμοποιούν κύτταρα ακινητοποιημένα σε επιφάνεια είναι ευρέως διαδεδομένα λόγω της σχετικά εύκολης διαδικασίας ακινητοποίησης. Σε αυτή τη μέθοδο τα κύτταρα προσκολλώνται στην επιφάνεια του φορέα μένοντας ακινητοποιημένα εκεί. Παρόλο που η φυσική προσκόλληση των κυττάρων στους φορείς παραμένει ως ένα βαθμό μυστήριο, έχουν προταθεί πολλοί μηχανισμοί (Verstrepen and Klis, 2006). Το φαινόμενο της προσκόλλησης μπορεί να γίνεται με ιοντικές, υδρόφοβες (van der Waals) και ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις (Oliveira, 1997), ενώ και η συγκράτηση μέσα σε κοιλότητες του φορέα μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία ακινητοποίησης (Brányik et al., 2004).

Η διαδικασία ακινητοποίησης περιλαμβάνει την μίξη των κυττάρων με τον φορέα ακινητοποίησης κάτω από ιδανικές συνθήκες όπως το pH και άλλες, για ένα δεδομένο διάστημα. Στην συνέχεια ο ακινητοποιημένος βιοκαταλύτης συλλέγεται και ακολουθούν πολλές πλύσεις του για την απομάκρυνση μη ακινητοποιημένων κυττάρων. Το πάχος του στρώματος των κυττάρων που σχηματίζεται συνήθως κυμαίνεται από μια στρώση κυττάρων έως 1mm ή και περισσότερο. Η δύναμη με την οποία τα κύτταρα είναι συνδεδεμένα με τον φορέα όπως επίσης και το πάχος του στρώματος συχνά ποικίλλει και δεν μπορεί εύκολα να προσδιοριστεί. Λόγω του ότι δεν υπάρχει εμπόδιο μεταξύ των κυττάρων και του συστήματος ζύμωσης είναι πιθανή η αποκόλληση και επανακόλληση κυττάρων και η δημιουργία μιας ισορροπίας μεταξύ ελεύθερων και ακινητοποιημένων κυττάρων. Από τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου τα πιο σημαντικά είναι: (1) η μικρή ζημιά που προκαλείται στα κύτταρα, (2) η ευκολία και το μικρό κόστος με το οποίο επιτυγχάνεται η ακινητοποίηση και (3) η δυνατότητα αναγέννησης με νέα φρέσκα κύτταρα. Από την άλλη τα κυριότερα μειονεκτήματα είναι: (1) η εύκολη αποδέσμευση των κυττάρων και η απελευθέρωσή τους στο προϊόν, (2) η μη ύπαρξη συγκεκριμένου δεσμού ακινητοποίησης, (3) η εύκολη υπερφόρτωση του φορέα ακινητοποίησης με κύτταρα και (4) ο περιορισμένος διαθέσιμος χώρος ακινητοποίησης. Παραδείγματα στερεών φορέων που χρησιμοποιούνται σε αυτό το είδος ακινητοποίησης είναι κυτταρινούχα υλικά όπως ξύλο, πριονίδια και ανόργανα υλικά όπως πορώδεις γυαλί, κ.α. Επίσης, έχει προταθεί και η χρήση χημικών για την αύξηση της

προσροφητικής ικανότητας των φορέων ακινητοποίησης (Norton and D'Amore, 1994; Navarro and Durand, 1977).

2.2.2. Ακινητοποίηση με εγκλωβισμό σε πορώδες υλικό

Η δεύτερη κατηγορία ακινητοποίησης κυττάρων είναι η παγίδευση σε πορώδες υλικό. Η ακινητοποίηση με εγκλωβισμό διαφέρει από την προσρόφηση και προσκόλληση των κυττάρων στο ότι τα κύτταρα δεν είναι ακριβώς ακινητοποιημένα πάνω σε έναν φορέα αλλά είναι ελεύθερα σε διάλυμα, περιορισμένα όμως από την δομή της ζελατίνης (Bickerstaff, 1995; O'Driscoll, 1976). Οι πόροι του πλέγματος της ζελατίνης ρυθμίζονται σε μεγέθη που διασφαλίζουν ότι η δομή είναι τόσο ισχυρή ώστε να αποτρέπεται η απελευθέρωση των κυττάρων αλλά να επιτρέπεται ταυτόχρονα η ελεύθερη διέλευση του υποστρώματος και των προϊόντων. Αναπόφευκτα ο φορέας ακινητοποίησης λειτουργεί ως εμπόδιο στην μεταφορά μάζας και παρόλο που αυτό μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στην κινητική των αντιδράσεων, μπορεί να έχει και πλεονεκτήματα αφού βλαβερά κύτταρα, πρωτεΐνες και ένζυμα δεν αλληλεπιδρούν με τον ακινητοποιημένο βιοκαταλύτη (Brodelius, 1985; Bucke, 1983).

Υπάρχουν δύο μέθοδοι παγίδευσης. Στην πρώτη, τα κύτταρα διαχέονται μέσα στο πορώδες υλικό. Στην συνέχεια, όταν τα κύτταρα ξεκινήσουν να αναπτύσσονται, η κινητικότητά τους εμποδίζεται από την παρουσία άλλων κυττάρων μέσα στο υλικό και έτσι παγιδεύονται αποτελεσματικά (Baron and Willaert, 2004). Η προσκόλληση στην επιφάνεια του υλικού είναι επίσης πιθανή (Mistler and Breitenbücher, 1995). Σφουγγάρι, τηγμένο γυαλί, κεραμικά χρησιμοποιούνται ως πορώδη υλικά (Masschelein, 1994; Scott and O'Reilly, 1995; Tata et al., 1999; Shen et al., 2003).

Στη δεύτερη μέθοδο, το πορώδες υλικό συνθέτεται από την αρχή γύρω από τα κύτταρα. Συχνά, χρησιμοποιούνται φυσικά και συνθετικά πολυμερή όπως Ca-αλγινικά, κ-καραγεννάνη, άγαρ (Ramakrishna and Prakasham, 1999). Ένα από τα προβλήματα της παγίδευσης των κυττάρων μέσα σε πορώδες υλικό είναι ότι κύτταρα ακινητοποιούνται και στην εξωτερική επιφάνεια του πορώδους υλικού (Mistler and Breitenbücher, 1995) και καθώς πολλαπλασιάζονται κάποια ελευθερώνονται. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ένα σύστημα ακινητοποιημένων και ελεύθερων κυττάρων. Βέβαια, έχουν γίνει προσπάθειες για την

επίλυση αυτού του προβλήματος με την εισαγωγή νέων τεχνικών (Nedovic et al., 2005; Ramon-Portugal et al., 2003).

2.2.3. Μηχανική συγκράτηση

Ο περιορισμός των κυττάρων μέσα σε πυρήνα μπορεί να επιτευχθεί είτε με τη χρήση φίλτρων μεμβράνης με μικροπόρους ή με παγίδευση των κυττάρων σε μικροκάψουλες. Αυτό το είδος ακινητοποίησης είναι ιδανικό όταν απαιτείται προϊόν ελεύθερο από κύτταρα και ελάχιστη μεταφορά διαφόρων ενώσεων (Park and Chang, 2000). Τα κυριότερα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι οι περιορισμοί στη μεταφορά μάζας και το πιθανό «βούλωμα» της μεμβράνης λόγω της συνεχούς ανάπτυξης των κυττάρων (Lebeau et al., 1998; Gryta, 2002). Έχουν γίνει αρκετές έρευνες για τη χρήση αυτής της μεθόδου στην παραγωγή αιθανόλης (Kargupta et al., 1998; O'Brien et al., 2000).

2.2.4. Συσσωμάτωση κυττάρων

Αυτή η μέθοδος ακινητοποίησης δεν απαιτεί την χρήση φορέα ακινητοποίησης και περιορίζεται στην ικανότητα των κυττάρων να προσκολλούνται σε άλλα κύτταρα και να σχηματίζουν μεγάλες, τρισδιάστατες και πολύπλοκες δομές. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με χημικές είτε με φυσικές μεθόδους (Broun, 1976). Οι χημικές μέθοδοι περιλαμβάνουν το σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των κυττάρων με την βοήθεια ενώσεων όπως η γλουταραλδεΐδη και άλλες, αλλά η τοξικότητά τους αποτρέπει την χρήση τους.

Η φυσική συσσωμάτωση των κυττάρων (κροκίδωση) παρατηρείται σε πολλές ζύμες, συμπεριλαμβανομένου και του *Saccharomyces cerevisiae*, ακόμα και σε μερικά βακτήρια (π.χ. πολλά είδη του *Zygomonas mobilis*) όπου τα συσσωματώματα που δημιουργούνται είναι ιδιαίτερα σταθερά. Η κροκίδωση των κυττάρων έχει οριστεί από πολλούς συγγραφείς ως η συσσωμάτωση των κυττάρων που σχηματίζουν μια μεγαλύτερη μονάδα ή η ικανότητα των κυττάρων που βρίσκονται σε αιώρημα να προσκολλώνται σε ομάδες και να δημιουργούν συσσωματώματα από χιλιάδες κύτταρα τα οποία αμέσως καταβυθίζονται (Bony et al., 1997; Jin and Speers, 1998). Η χρήση των ζυμών που έχουν την ικανότητα να συσσωματώνονται είναι αρκετά ελκυστική, εξαιτίας της απλότητάς της και του χαμηλού κόστους. Παρόλα αυτά,

η συσσωμάτωση αυτή επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως ανάδευση, pH, θερμοκρασία ζύμωσης και συνθήκες αποθήκευσης (Verstrepen et al., 2003; Sampermans et al., 2005). Για αυτό τον λόγο χρησιμοποιείται συχνότερα ως βοηθητική άλλων μεθόδων ακινητοποίησης μειώνοντας την αποδέσμευση των κυττάρων από τους φορείς ακινητοποίησης.

2.3. Φορείς και τεχνικές ακινητοποίησης στην παραγωγή τροφίμων

Η χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων για την παραγωγή αλκοολούχων ποτών αναπτύσσεται με ραγδαίους ρυθμούς αλλά η εφαρμογή της στην βιομηχανία είναι ακόμα περιορισμένη. Ο λόγος χρήσης ακινητοποιημένων κυττάρων είναι η αύξηση της παραγωγικότητας σε αιθανόλη και γενικά όλων των αρωματικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων των ποτών. Πολλοί φορείς έχουν προταθεί για την ακινητοποίηση κυττάρων και την εφαρμογή τους στην παραγωγή κρασιού, μπύρας, ξυδιού, μηλογαλακτικής ζύμωσης και γενικά αιθανόλης και άλλων οινοπνευματωδών ποτών (Kourkoutas et al., 2004). Επίσης, ακινητοποιημένα κύτταρα χρησιμοποιούνται και στην ζύμωση τυρογάλακτος για την παραγωγή αλκοόλης, γαλακτικού οξέος ή και διαφόρων ποτών, όπως kefir και άλλων με την χρήση συγκαλλιέργειας ή και συνακινητοποίησης (Sooch and Singh, 2002; Kourkoutas et al., 2002).

Υπάρχουν αρκετές εργασίες που προτείνουν την χρήση ακινητοποιημένων κυττάρων για την παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Ασυνεχής (Rossi et al., 1990) και συνεχής (Gobetti and Rossi, 1990) προκαταρκτική ζύμωση του γάλακτος με εγκλωβισμένα κύτταρα *L. helveticus* σε αλγινικά σφαιρίδια χρησιμοποιήθηκε στην παραγωγή φρέσκου τυριού, ενώ υπάρχουν και άλλες παρόμοιες διαδικασίες με άλλους μικροοργανισμούς (Kim et al. 1985a,b). Σε άλλες εργασίες προτείνεται η ταυτόχρονη προκαταρκτική ζύμωση του γάλακτος και ο εμβολιασμός του με την καλλιέργεια εκκινητή για την παραγωγή γιαουρτιού (Prévost and Diviès, 1988a,b; Prévost et al., 1985) και φρέσκου τυριού (Prévost and Diviès, 1987; Passos and Swaisgood, 1993; Sodini et al., 1995). Αυτές οι εργασίες δείχνουν υψηλή δραστηριότητα των ακινητοποιημένων συστημάτων και πολύ καλό εμβολιασμό με την καλλιέργεια εκκινητή. Ο υψηλός ρυθμός εμβολιασμού του γάλακτος, περίπου 10 φορές

ταχύτερος από ότι ο κλασικός ασυνεχής τρόπος, οδηγεί σε μείωση του συνολικού χρόνου παραγωγής φρέσκου τυριού κατά 50% (Prévost and Diviès, 1987; Sodini et al., 1995).

Μια άλλη εφαρμογή της ακινητοποίησης στην παραγωγή τυριών είναι η προσπάθεια μείωσης του απαιτούμενου χρόνου ωρίμανσης, κυρίως στα σκληρά τυριά με χρόνο ωρίμανσης μέχρι και δύο χρόνια. Αυτός ο αρκετά μεγάλος χρόνος ωρίμανσης είναι αναγκαίος για τη δημιουργία του χαρακτηριστικού αρώματος και γεύσης των τυριών. Η ακινητοποίηση ενζύμων και άλλων παραγόντων ωρίμανσης σε λιποσώματα έχει προταθεί για την μείωση του χρόνου αυτού και την αποφυγή μολύνσεων (Akhalf et al., 1988; Kirby et al., 1987; Laloy et al., 1998). Τα λιποσώματα προστίθενται στο γάλα κατά την διάρκεια της πήξης και μετά από κάποιες ώρες, όταν το τυρί έχει σχηματισθεί, σπάνε και απελευθερώνουν τα ένζυμα, αφήνοντάς τα να λειτουργήσουν καλύτερα και πιο γρήγορα μειώνοντας το χρόνο ωρίμανσης ακόμα και στο μισό (Gibbs et al., 1999).

3. Lactobacilli (Γαλακτοβάκιλλοι)

Τα γαλακτικά βακτήρια (LAB) περιλαμβάνουν μία ευρεία γκάμα γενών και ένα σημαντικό αριθμό ειδών. Αυτά τα βακτήρια είναι το βασικό συστατικό των εκκινητών που χρησιμοποιούνται στη ζύμωση, ειδικά για τα γαλακτοκομικά προϊόντα και επίσης μερικά από αυτά είναι φυσικά συστατικά της γαστρεντερικής μικροχλωρίδας. Οι *Lactobacillus* είναι από τα πιο σημαντικά γένη των LAB. Ακόμη, είναι παρόντες στο νωπό γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως τυριά, γιαούρτια και στο γάλα που έχει υποστεί ζύμωση, για τεχνολογικούς λόγους ή για δημιουργία οφελών υγείας για τον καταναλωτή (Coeuret et al., 2003).

Ο *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* είναι ένα από τα δύο βακτήρια που είναι απαραίτητα για την παραγωγή γιαουρτιών και ο *Lactobacillus kefir* είναι απαραίτητος για την παραγωγή του καυκάσιου κεφίρ. Πρόσφατα υπάρχει μία τάση για προσθήκη προβιοτικών γαλακτοβακίλλων στη ζύμωση γαλακτοκομικών προϊόντων για τη δημιουργία όφελους για την υγεία. Τα βακτήρια που γενικά προστίθενται είναι *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. johnsonii*, *L. crispatus*, *L. paracasei* και *L. gasseri* (Heller, 2001; Nighswonger et al., 1996).

3.1. Εφαρμογή γαλακτοβακίλλων στη βιοτεχνολογία τροφίμων και ζωοτροφών

Οι Lactobacilli συνδέονται με την παραγωγή τροφίμων εξαιτίας της συντηρητικής τους δράσης λόγω οξίνισης ή/και ενίσχυσης της γεύσης, της υφής και της διατροφής. Οι Lactobacilli χρησιμοποιούνται ως εκκινητές ή συμπληρωματικές καλλιέργειες για διάφορες ποικιλίες τυριών, ζυμωμένων φυτικών τροφίμων, κρεάτων που έχουν υποστεί ζύμωση, κρασιών και παραγωγής μπύρας, ψωμιού και ενσίρωσης. Προκαλούν ταχεία μείωση του pH στην πρώτη ύλη μέσω της παραγωγής γαλακτικού οξέος ως κύριο προϊόν καταβολισμού. Επιπλέον, η πρωτεολυτική δραστικότητα και η παραγωγή αρωματικών ενώσεων, βακτηριοσινών και εξωπολυσακχαριτών είναι σημαντικές για την ποιότητα και τη θρεπτική αξία του τελικού προϊόντος και την επέκταση του φάσματος των βιοτεχνολογικών εφαρμογών αυτής της ομάδας των LAB (Leroy and De Vuyst, 2004). Μερικοί Lactobacilli της γαστρεντερικής οδού έχουν συσχετιστεί με οφέλη για την υγεία, γεγονός που οδηγεί στον καθορισμό τους ως προβιοτικά. Συνέπεια αυτού είναι η ζήτηση, τα τελευταία χρόνια, για λειτουργικά τρόφιμα, δηλαδή τρόφιμα που ισχυρίζονται ότι διαθέτουν ιδιότητες προαγωγής της υγείας πέραν των βασικών (Keohane et al., 2009; O'May and MacFarlane, 2005; Ouwehand et al., 2002).

Η παραγωγή βακτηριοσίνης και εξωπολυσακχαρίτη είναι δύο σημαντικά παραδείγματα λειτουργικών εφαρμογών των Lactobacilli στη βιομηχανία τροφίμων. Τις τελευταίες δεκαετίες, αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει τη δυνατότητα των βακτηριοσινών για τον έλεγχο της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών στα προϊόντα διατροφής. Οι Lactobacilli που παράγουν βακτηριοσίνες έχουν προταθεί ως προστατευτικές καλλιέργειες σε κρέατα που έχουν υποστεί ζύμωση, ελιές που έχουν υποστεί ζύμωση και γαλακτοκομικά προϊόντα (Hammes and Vogel, 1995, Leroy and De Vuyst, 2004). Φυτικοί ή μικροβιακοί πολυσακχαρίτες χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων. Είναι γνωστό ότι αυξάνουν το ιξώδες και τη σταθερότητα, βελτιώνουν την υφή και συμβάλλουν στη γεύση των προϊόντων χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Η επί τόπου παραγωγή εξωπολυσακχαριτών αναφέρεται σε αρκετούς Lactobacilli (Leroy and De Vuyst, 2004). Αυτά τα παραδείγματα υποδηλώνουν ότι οι Lactobacilli είναι πολυλειτουργικά βακτήρια με σημαντικές βιομηχανικές επιπτώσεις.

3.1.1. Lactobacilli ως προβιοτικά

Τα προβιοτικά ορίζονται από τον FAO/WHO (2002) ως «ζωντανοί μικροοργανισμοί οι οποίοι, όταν χορηγούνται σε επαρκή ποσά, προσφέρουν όφελος για την υγεία αυτού που τα καταναλώνει». Υπάρχουν επιστημονικά στοιχεία που υποστηρίζουν την ιδέα ότι μπορούν να διατηρήσουν την υγιή μικροχλωρίδα του εντέρου προσφέροντας προστασία έναντι των γαστρεντερικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένων των γαστρεντερικών λοιμώξεων και των φλεγμονώδων ασθενειών του εντέρου. Πολλές μελέτες έχουν επίσης αποδείξει την αποτελεσματικότητα των προβιοτικών στην προσφορά μιας κατάλληλης εναλλακτικής λύσης στη χρήση αντιβιοτικών στη θεραπεία της εντερικής μόλυνσης (Marteau et al., 2001) ή στη μείωση των συμπτωμάτων της διάρροιας που σχετίζεται με αντιβιοτικά (Rastall et al., 2005). Οι προβιοτικές καλλιέργειες ρυθμίζουν την ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας, καταστέλλουν δυνητικά επιβλαβή βακτήρια και ενισχύουν τους φυσικούς αμυντικούς μηχανισμούς του σώματος (Mattila-Sandholm et al., 2002; Millette et al., 2008; O'May and MacFarlane, 2005; Parvez et al., 2006).

Οι Lactobacilli είναι τα πιο εκτεταμένα μελετημένα και ευρέως διαδεδομένα χρησιμοποιούμενα προβιοτικά γαλακτικά βακτήρια. Τα περισσότερα στελέχη Lactobacillus ανήκουν στην ομάδα του *L. acidophilus*, *L. (para) casei*, *L. plantarum*, *L. reuteri* και *L. salivarius*, τα οποία είναι γνωστό ότι περιέχουν προβιοτικά στελέχη. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα, είναι από τα πιο διαδεδομένα τρόφιμα-φορείς για την παροχή προβιοτικών. Οι συνηθέστεροι προβιοτικοί μικροοργανισμοί ανήκουν στους *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. (para) casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* και *L. fermentum* (Tamime et al., 2005).

3.1.2. Lactobacilli ως εκκινητές γαλακτοκομικών

Οι καλλιέργειες εκκίνησης είναι μικροοργανισμοί που σκόπιμα προστέθηκαν στην πρώτη ύλη για να δημιουργήσουν ένα επιθυμητό αποτέλεσμα στο τελικό προϊόν, συνήθως μέσω των μεταβολικών τους δραστηριοτήτων. Η πιο συνηθισμένη χρήση καλλιεργείων εκκίνησης είναι η παραγωγή γαλακτικού οξέος από τη λακτόζη, το οποίο στις περισσότερες περιπτώσεις προκαλεί ή βοηθά στην πήξη της πρωτεΐνης του γάλακτος μειώνοντας το pH του.

Ορισμένοι μικροοργανισμοί εκκίνησης προστίθενται ειδικά για την ικανότητα παραγωγής ενώσεων γεύσης όπως το διακετύλιο. Οι μικροοργανισμοί μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη γεύση και την υφή των προϊόντων μέσω της διάσπασης πρωτεϊνών, λιπών και άλλων συστατικών του γάλακτος επιπλέον της μείωσης του pH. Μία μείωση του pH των προϊόντων μπορεί να είναι ανασταλτική για την αλλοίωση ορισμένων μικροοργανισμών, αν και η αναστολή συνδέεται επίσης με άλλα παραπροϊόντα όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (Chamba, 2008). Οι σύγχρονες καλλιέργειες εκκίνησης έχουν αναπτυχθεί από τη διατήρηση μικρών ποσοτήτων ορού γάλακτος ή κρέμας γάλακτος από την επιτυχημένη παρασκευή ενός προϊόντος που έχει υποστεί ζύμωση σε προηγούμενη ημέρα και χρησιμοποιώντας αυτό ως ενοφθαλμισμό ή εκκινητή για την επόμενη ημέρα παραγωγής. Σε έναν άλλο τύπο ζύμωσης, που ονομάζεται «ελεγχόμενη» ή «ζυμώμενη καθαρή καλλιέργεια», οι μικροοργανισμοί καθαρίζονται πρώτα από το αρχικό προϊόν, ταυτοποιούνται και διατηρούνται στο εργαστήριο. Όταν απαιτούνται για ζύμωση, τα επιλεγμένα στελέχη αναπτύσσονται σε μεγάλες ποσότητες και προστίθεται στην πρώτη ύλη (π.χ. γάλα) σε πολύ μεγάλους αριθμούς.

Αυτές οι καλλιέργειες, όταν χρησιμοποιούνται σε ελεγχόμενη ζύμωση, αναφέρονται ως «αρχικές καλλιέργειες» (Parente and Cogan, 2004).

Το γένος *Lactobacillus* χρησιμοποιείται ως εκκινητές γαλακτοκομικών, όπως τυριά και γάλατα που έχουν υποστεί ζύμωση (συμπεριλαμβανομένων των προβιοτικών) (Leroy and De Vuyst, 2004) και στην παραγωγή γιαουρτιού και τυριού μοτσαρέλα. Χρησιμοποιούνται επίσης ως πρόσθετα εκκίνησης για την προώθηση της ταχύτερης ωρίμανσης του cheddar και παρόμοιων τυριών, για να μειωθεί η επίπτωση πικρίας (Parente and Cogan, 2004). Ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* χρησιμοποιείται ευρέως μαζί με τον *Streptococcus thermophilus* ως εκκινητές στο γιαούρτι. Ο *L. casei* χρησιμοποιείται ως προβιοτικό, αλλά βρίσκεται επίσης σε μερικές αρχικές καλλιέργειες και ανήκει συνήθως στα μη αρχικά γαλακτικά βακτήρια (NSLAB) που βρέθηκαν στο τυρί Cheddar. Ο *L. helveticus* χρησιμοποιείται συχνά μαζί με άλλα θερμοφιλικά LAB στην παραγωγή μιας σειράς τυριών, συμπεριλαμβανομένων των Emmental, Grana Padano, Parmigiano Reggiano και μοτσαρέλα.

Η δραστηριότητα των καλλιεργειών εκκίνησης μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως από τις πρακτικές χειρισμού και αποθήκευσης, τη θερμοκρασία επώασης, την ποιότητα του νωπού γάλακτος, την προσβολή βακτηριοφάγου και την παρουσία αναστολέων όπως φάρμακα ή απολυμαντικά. Υψηλή απώλεια προϊόντος, ειδικά κατά την

παρασκευή του τυριού, συσχετίζεται συνήθως με βακτηριοφάγους (Parente and Cogan, 2004).

3.1.3. Lactobacilli ως εμβολιαστικά ενσίρωσης

Το φρέσκο χορτάρι είναι μια σημαντική ζωοτροφή για τα ζώα κατά τη διάρκεια της έλλειψης τροφίμων, όχι μόνο το χειμώνα σε κρύες και εύκρατες περιοχές, αλλά και κατά τη διάρκεια της ξηρής περιόδου στις τροπικές περιοχές (Mannetje, 1999). Ο σκοπός της παραγωγής ενσίρωσης είναι η διατήρηση φρέσκων ζωοτροφών, ενώ ελαχιστοποιείται η απώλεια των θρεπτικών συστατικών, αποφεύγοντας τις δυσμενείς αλλαγές στο περιβάλλον της χημικής σύνθεσης των ζωοτροφών. Είναι, συνεπώς μία κατάλληλη τροφή για τη διατήρηση της παραγωγικότητας του ζωικού κεφαλαίου. Η ενσίρωση είναι προϊόν ζύμωσης που διεξάγεται από τα LAB υπό αναερόβιες συνθήκες. Σε ένα τέτοιο περιβάλλον, τα LAB μετατρέπουν τους υδατοδιαλυτούς υδατάνθρακες των ζωοτροφών σε οργανικά οξέα, κυρίως γαλακτικό οξύ. Η παραγωγή αυτών των οξέων μειώνει το pH των σιτηρών και αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροβίων αερόβιας αλλοίωσης (McDonald et al., 1991). Η ζύμωση της ενσίρωσης απαιτεί αρκετές εβδομάδες για ολοκλήρωση και είναι μία σύνθετη και μερικές φορές απρόβλεπτη διαδικασία επειδή περιλαμβάνει πολλά είδη LAB με πολλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους (Oude Elferink et al., 1999).

3.1.4. Lactobacilli ως εργοστάσια μικροβιακών κυττάρων

Μέσω της μεταβολικής δραστηριότητάς τους, οι Lactobacilli μπορούν να δράσουν ως «κυτταρικά εργοστάσια» για την δημιουργία βιοδραστικότητας από μία σειρά πηγών πρωτεϊνικών τροφίμων. Οι πρωτεΐνες γάλακτος είναι αναγνωρισμένες ως η κύρια πηγή βιοδραστικών πεπτιδίων, οι οποίες μπορούν να κρυπτογραφούνται εντός της αλληλουχίας αμινοξέων των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών, απαιτώντας πρωτεόλυση για απελευθέρωση και ενεργοποίηση. Αυτές οι παρατηρήσεις επισημαίνουν το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη προστιθέμενης αξίας ζυμωμένα τρόφιμα που είναι επιλεκτικά εμπλουτισμένα με ενώσεις που είναι γνωστό ότι προσφέρουν ένα ιδιαίτερο όφελος για την υγεία του καταναλωτή, όπως το αντιυπερτασικό ένζυμο μετατροπής αγγειοτενσίνη (ACE), το οποίο παράγεται από

Lactobacillus μέσω του πρωτεολυτικού τους συστήματος (Broadbent, 2008, Hayes et al., 2007a).

3.1.5. Lactobacilli ως φορείς ζωντανού εμβολίου

Παρόμοια με άλλα LAB, οι Lactobacilli μπορούν επίσης να είναι αποτελεσματικοί ως φορείς εμβολίων που λαμβάνονται από το στόμα. Υπάρχει η χρήση των Lactobacilli για σκοπούς εμβολιασμού με τη λήψη θραύσματος C της τοξίνης του τετάνου ως πρότυπο αντιγόνο. Αυτό, μαζί με την κατανόηση του ανοσοποιητικού συστήματος και τις εξελίξεις στην κλωνοποίηση και στις τεχνικές, θα καταστήσει την ανάπτυξη Lactobacilli ως συστήματα μεταφοράς ζωντανών εμβολίων μια ρεαλιστική προοπτική (Seegers, 2002).

4. Γιαούρτι

4.1. Ιστορία της παρασκευής γιαουρτιού

Η ζύμωση γάλακτος είναι μια από τις παλαιότερες μεθόδους που εφαρμόζουν οι άνθρωποι για να διατηρούν το γάλα με παρατεταμένη διάρκεια ζωής. Η ακριβής προέλευση της ζύμωσης γάλακτος δεν είναι σαφής. Ωστόσο, φαίνεται ότι χρονολογείται από την αυγή του πολιτισμού. Έχει αναφερθεί ότι οι πρώτοι πολιτισμοί, όπως οι Σουμέριοι, οι Βαβυλώνιοι και οι Ινδιάνοι, είχαν προχωρήσει αρκετά στις πρακτικές γεωργίας και κτηνοτροφίας (Tamime and Robinson, 1999). Είναι γενικά αποδεκτό από τους ιστορικούς ότι η ζύμωση του γάλακτος ανακαλύπτεται τυχαία από τους νεολιθικούς κατοίκους της Κεντρικής Ασίας όταν αποθήκευαν το γάλα με πρωτόγονες μεθόδους όπως σε στομάχια προβάτων σε ζεστά κλίματα (Dairy Goodness, 2013a). Τα πρώτα συγγράμματα σχετικά με το γιαούρτι είναι εκείνα του Πλίνιου που έζησε τον 1^ο αιώνα μ.Χ. και έγραψε για τα αρχαία βάρβαρα έθνη που ήξεραν πώς να πυκνώσουν το γάλα σε μια ουσία με μια ευχάριστη οξύτητα. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο ιδρυτής της Μογγολικής Αυτοκρατορίας, ο Τζινγκις Χαν και οι στρατοί του ζούσαν καταναλώνοντας γιαούρτι γεγονός που συνέβαλε στην εξάπλωση του σε όλη την Ανατολή.

Επιπλέον, σύμφωνα με την περσική παράδοση, ο Αβραάμ όφειλε τη γονιμότητα και τη μακροζωία του στην τακτική κατανάλωση γιαουρτιού αλλά και ο αυτοκράτορας Francis I της Γαλλίας λέγεται ότι θεραπεύτηκε από μία βαριάς μορφής διάρροια λόγω κατανάλωσης γιαουρτιού από γάλα κατσίκας, γεγονός που οδήγησε στην εισαγωγή του γιαουρτιού και των ωφελειών που είχε στην υγεία, στον δυτικό κόσμο το 1542 (Tamine and Robinson, 1999; Danone, 2013). Η πρώτη βιομηχανοποιημένη παραγωγή γιαουρτιού πραγματοποιήθηκε το 1919, στη Βαρκελώνη, στην Ισπανία στην εταιρεία με την επωνυμία Danone (Dairy Goodness, 2013a). Το γιαούρτι εισήχθη για πρώτη φορά στις ΗΠΑ στις αρχές του 20^{ου} αιώνα με τη μορφή δισκίων ειδικά σχεδιασμένων για άτομα με δυσπεψία (Danone, 2013). Ωστόσο, έγινε δημοφιλής στη Βόρεια Αμερική, όταν το εργοστάσιο γιαουρτιού μικρής κλίμακας Danpon ξεκίνησε την παρασκευή γιαουρτιού στη Νέα Υόρκη το 1940. Παρόλο που το γιαούρτι έχει εξελιχθεί για αιώνες, αυτό υποβλήθηκε σε μια σημαντική και δυναμική διαδικασία εξέλιξης τον 20^ο αιώνα, από το οποίο προέρχονται μία τεράστια ποικιλία προϊόντων. Για παράδειγμα, το γιαούρτι με φρούτα και το αναδευόμενο γιαούρτι που εισήχθησαν το 1937 και το 1963 αντίστοιχα (Danone, 2013; Dairy Goodness, 2013a). Φαίνεται ότι η διαδικασία εξέλιξης του γιαουρτιού έλαβε χώρα σε διάφορες περιοχές του κόσμου. Αυτός μπορεί να είναι και ο λόγος που υπάρχουν διαφορετικοί τύποι γιαουρτιών και προϊόντων που μοιάζουν με το γιαούρτι με διαφορετικά ονόματα, τα οποία και συνοψίζονται στον Πίνακα 5.

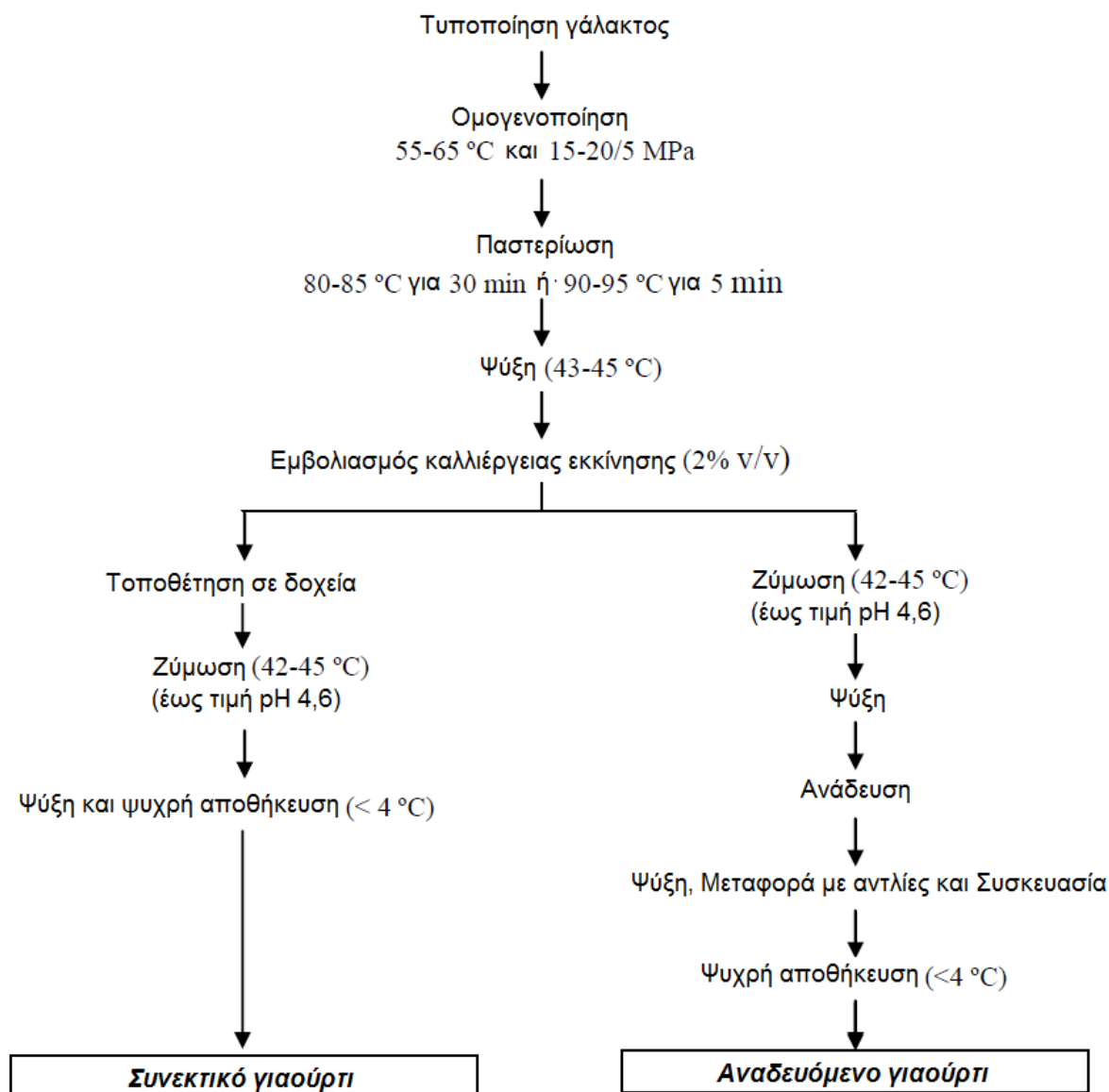
Πίνακας 5: Προϊόντα γιαουρτιού και τύπου γιαουρτιού που προέρχονται από διαφορετικές περιοχές του κόσμου (Tamine and Robinson, 1999).

Περιοχή	Χώρα/Νησί προέλευσης	Παραδοσιακό όνομα προϊόντος γιαουρτιού ή τύπου γιαουρτιού
Ευρώπη	Τουρκία Βαλκάνια Βουνά των βαλκανίων Ελλάδα Ιταλία Σικελία Σαρδηνία Ουγγαρία Φινλανδία Σκανδιναβία Ισλανδία Γιουγκασλαβία Πορτογαλία	Jugurt/eyra/ayran Kisselmleka/naja/yaourt Urgotnic Yiaourti Cieddu Mezzoradu Gioddu Tarho/taho Viili Filmjolk/fillbunke/filbunk/surmelk/taettem Skyr Gruzoviz Iogurte

Ευρασία	Ρωσία Τουρκιστάν Καυκάσια (Αρμενία, Αζερμπατζάν, Γεωργία) Αρμενία	Donskaya/varenetes/kurugna/ryzhenka/guslyanka Busa Katyk Mazun/matsoon,matsun, matsoni, madzoon
Μέση Ανατολή και Ασία	Λιβάνος Αίγυπτος και Σουδάν Ιράν και Αφγανιστάν Ιράκ Ινδία Μογγολία Νεπάλ	Leban/laban Zabady/zabade Mast/dough/doogh Roba/rob Dahi/dadhi/dahee Tarag Shosim/sho/thara

4.2. Γενική διαδικασία παραγωγής γιαουρτιού

Η παραγωγή του γιαουρτιού είναι μια αρχαία τεχνική, η οποία χρονολογείται πριν από χιλιάδες χρόνια, και η γνώση έχει μεταφερθεί από γενιά σε γενιά. Ωστόσο, κατά τις τελευταίες δεκαετίες, έγινε πιο ορθολογική λόγω της βελτίωσης διαφόρων τομέων όπως η μικροβιολογία, η βιοχημεία και η τεχνολογία τροφίμων. Σήμερα είναι μια σύνθετη δραστηριότητα συνδυάζοντας την τέχνη και την επιστήμη (Tamine and Robinson, 1999). Η γενικευμένη διαδικασία παρασκευής γιαουρτιού συνίσταται στην τροποποίηση της αρχικής σύνθεσης του γάλακτος, στην παστερίωση του μείγματος γιαουρτιού, στη ζύμωση σε θερμοφιλικές θερμοκρασίες (40-45°C), στην ψύξη και στην προσθήκη φρούτων και γεύσεων. Τα στάδια παραγωγής στην παρασκευή αναδευόμενου και συνεκτικού γιαουρτιού απεικονίζονται στο Σχήμα 4.



Σχήμα 4: Τα στάδια παραγωγής στην παρασκευή αναδευόμενου και συνεκτικού γιαουρτιού (Lee and Lucey, 2010).

4.2.1. Συστατικά για την παρασκευή γιαουρτιού

Το γιαούρτι παρασκευάζεται με διάφορα συστατικά όπως γάλα, γλυκαντικά, σταθεροποιητές, φρούτα, γεύσεις και βακτηριακές καλλιέργειες. Το γάλα είναι το κύριο συστατικό που χρησιμοποιείται στην παρασκευή γιαουρτιού. Ο τύπος του γάλακτος που θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από την ποικιλία ή τον τύπο του γιαουρτιού που θα παρασκευαστεί. Για παράδειγμα, το πλήρες γάλα χρησιμοποιείται για το πλήρες λίπος/κανονικό γιαούρτι, το μερικώς αποκορυφωμένο γάλα χρησιμοποιείται για γιαούρτι με

χαμηλά λιπαρά και το αποκορυφωμένο γάλα χρησιμοποιείται για το γιαούρτι χωρίς λιπαρά. Το λίπος κρέμας/βουτύρου χρησιμοποιείται για την προσαρμογή της περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες ενώ η σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος, το συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος χρησιμοποιούνται για την ανύψωση του ολικού στερεού περιεχομένου του μείγματος γιαουρτιού. Συνήθως προστίθενται σταθεροποιητές στο μείγμα για να αυξηθεί το σώμα και η υφή οδηγώντας σε αύξηση της σφριγηλότητας, αποτρέποντας τον διαχωρισμό ορού γάλακτος/συναίρεση και βοηθώντας στην ομοιόμορφη κατανομή των συστατικών. Επιπλέον, προστίθενται γλυκαντικά για να αυξηθεί η γεύση και η προσέλκυση των καταναλωτών.

4.2.2. Τυποποίηση γάλακτος

Η περιεκτικότητα των στερεών συστατικών του γάλακτος του γιαουρτιού φαίνεται να ποικίλλει από 14-15% στα εμπορικά προϊόντα γιαουρτιού και η ελάχιστη περιεκτικότητα σε μη λιπαρά στερεά του γάλακτος κυμαίνεται από 8,2 έως 8,6% σύμφωνα με τα πρότυπα και τους κανονισμούς πολλών χωρών (Tamime and Robinson, 1999). Σύμφωνα με το Codex Alimentarius Commission το γιαούρτι πρέπει να έχει ελάχιστη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες 2,7% και μέγιστη περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες 15% (Codex Alimentarius Commission, 2010). Για να επιτευχθεί αυτό, τα πρότυπα του FAO/WHO καθορίζουν ότι το γάλα πρέπει να τυποποιηθεί με το ελάχιστο ποσοστό SNF (Solid Non Fat) και περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες γάλακτος 8,2% και 3% αντίστοιχα για την παρασκευή γιαουρτιού. Η μέση σύνθεση γάλακτος βοοειδών περιλαμβάνει 4,5% λακτόζη, 3,3% πρωτεΐνη, 3,5% λίπος και 0,7% ανόργανη ύλη. Ως εκ τούτου, είναι προφανές ότι η σύνθεση του γιαουρτιού ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία και το μείγμα γιαουρτιού θα πρέπει να τυποποιηθεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε να παράγει ένα τελικό προϊόν με όχι λιγότερο από 2,7% πρωτεΐνη και λιγότερο από 15% λίπος γάλακτος με τιτλοδοτημένη οξύτητα όχι μικρότερη από 0,3%, εκφραζόμενη ως ποσοστό του γαλακτικού οξέος (Codex Alimentarius Commission, 2010). Οι σταθεροποιητές όπως η πηκτίνη και η ζελατίνη προστίθενται στο μείγμα γιαουρτιού προκειμένου να επιτευχθούν οι χαρακτηριστικές ιδιότητες του γιαουρτιού δηλαδή η υφή, η αίσθηση στο στόμα, η εμφάνιση, το ιξώδες και η παρεμπόδιση του διαχωρισμού του ορού γάλακτος (Tamime and Robinson, 1999; Lee and Lucey, 2010). Εντούτοις, τόσο η υπέρ-

σταθεροποίηση όσο και η υπο-σταθεροποίηση μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα ποιότητας, καθώς η υπερ-σταθεροποίηση προκαλεί ένα ελαστοειδές σώμα με γιαούρτι "τύπου jello", ενώ η υπο-σταθεροποίηση προκαλεί "διαρροή σώματος" ή διαχωρισμό ορρού γάλακτος (Lee and Lucey, 2010).

4.2.3. Ομογενοποίηση

Η διαδικασία της ομοιογενοποίησης μειώνει τη διάμετρο των σφαιριδίων λίπους σε λιγότερο από 1 μm και εξασφαλίζει ομοιόμορφη κατανομή σε ολόκληρο το τρόφιμο, αποτελώντας έτσι ένα σημαντικό στάδιο επεξεργασίας ειδικά για παρασκευή γιαουρτιού με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά. Κατά συνέπεια, δεν προκύπτει ξεχωριστό κρεμώδες στρώμα στην επιφάνεια του γιαουρτιού και βελτιώνεται η συνοχή του γιαουρτιού (Chandan and Kilara, 2013). Η ομογενοποίηση επιτυγχάνεται με τη χρήση ενός ομογενοποιητή ή ιξωδοποιητή, όπου το γάλα ωθείται μέσω μικρών ανοιγμάτων σε υψηλή πίεση, κατά την οποία τα σφαιρίδια λίπους διασπώνται λόγω των δυνάμεων διάτμησης (Dairy Consultant, 2013). Τυπικά, το γάλα ομοιογενοποιείται χρησιμοποιώντας πιέσεις 10-20 και 5 MPa σε πρώτο και δεύτερο στάδιο, αντίστοιχα για πάνω από 10-17 λεπτά (Lee and Lucey, 2010). Πιο πρόσφατα, στην παρασκευή γιαουρτιού του εμπορίου εισήχθη ομογενοποίηση υψηλής πίεσης που οδήγησε σε αύξηση της σταθερότητάς του και της ικανότητας συγκράτησης νερού συγκριτικά με εκείνη της συμβατικής διαδικασίας ομογενοποίησης (Serra et al., 2008; Serra et al., 2009).

4.2.4. Θερμική επεξεργασία

Θεωρείται γενικά ότι η θερμική επεξεργασία του γάλακτος είναι ένα ουσιαστικό βήμα στη διαδικασία παρασκευής γιαουρτιού που επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη μικροδομή και τις φυσικές ιδιότητες του γιαουρτιού. Η θερμική επεξεργασία έχει μια σειρά ωφέλιμων αποτελεσμάτων καθώς θα καταστρέψει τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο γάλα ή το μίγμα γιαουρτιού που μπορούν ενδεχομένως να επηρεάσουν την ελεγχόμενη διαδικασία ζύμωσης, θα μετουσιώσει τις πρωτεΐνες του ορού γάλακτος που θα δώσουν στο τελικό προϊόν ένα καλύτερο σώμα και υφή και θα απελευθερώσει τις ενώσεις στο γάλα που

διεγείρουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών της καλλιέργειας εκκίνησης. Επιπλέον, θα βοηθήσει ορισμένα συστατικά να επιτύχουν την απαιτούμενη κατάσταση για να σχηματίσουν γέλες και πλέγμα πρωτεϊνών, που επηρεάζει την τελική υφή και το ιξώδες του προϊόντος ενώ βοηθά στην απομάκρυνση του διαλυμένου οξυγόνου στο γάλα, βοηθώντας έτσι την ανάπτυξη της καλλιέργειας εκκίνησης καθώς είναι ευαίσθητες σε οξυγόνο (Lee and Lucey, 2010; Dairy Consultant, 2013). Η θερμική επεξεργασία είναι μια διαδικασία συνεχούς λειτουργίας ή κατά παρτίδες που περιλαμβάνει τη θέρμανση του γάλακτος σε σχετικά υψηλή θερμοκρασία και την παραμονή του εκεί για προκαθορισμένη χρονική περίοδο. Οι συνδυασμοί χρόνου-θερμοκρασίας για τις θερμικές επεξεργασίες κατά παρτίδες που χρησιμοποιούνται συνήθως στην παρασκευή εμπορικού γιαουρτιού περιλαμβάνουν 85°C για 30 λεπτά και 90-95°C για 5 λεπτά (Tamime and Robinson, 1999). Οι εναλλακτικοί συνδυασμοί χρόνου και θερμοκρασίας που είναι διαθέσιμοι για την παστερίωση του γάλακτος συνοψίζονται στον Πίνακα 6. Παρά τον συνδυασμό χρόνου-θερμοκρασίας που χρησιμοποιείται, είναι απαραίτητο να εκπληρώνεται η ελάχιστη απαίτηση για καταστροφή του παθογόνου *Coxiella burnetii* αναγνωρισμένος στο γάλα και που είναι ανθεκτικός στη θερμότητα και προκαλεί τον πυρετό Q στους ανθρώπους (Dairy Consultant, 2013). Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος είναι σημαντική για την καταστροφή παθογόνων οργανισμών και ενζύμων που υπάρχουν στο γάλα.

Πίνακας 6: Συνδυασμοί χρόνου-θερμοκρασίας για παστερίωση γάλακτος (FDA, 2011).

Τύπος παστερίωσης	Επεξεργασία	Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος
Χαμηλή Θερμοκρασία Μεγάλος Χρόνος (LTLT)	Κατά παρτίδες	62.8	30 min
Υψηλή Θερμοκρασία Μικρός Χρόνος (HTST)	Συνεχούς	71.7	15 s
Υψηλότερη Θερμότητα Μικρότερος Χρόνος (HHST)	Συνεχούς	88.3	1 s
Υψηλή παστερίωση	Συνεχούς	137.8	2 s
Αποστείρωση (UHT)	Ασηπτικές	135-150	4-15 s

4.2.5. Εμβολιασμός και ζύμωση

Μετά τη θερμική επεξεργασία, το μίγμα γιαουρτιού ψύχεται στους 43-46°C πριν από την προσθήκη βακτηρίων καλλιέργειας εκκίνησης γιαουρτιού σε συγκέντρωση περίπου 2% v/v. Αυτή η περιοχή θερμοκρασιών είναι βέλτιστη για τους θερμοφίλους μικροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια εκκίνησης στο γιαούρτι (Chandan and Kilara, 2013).

Η τυπική καλλιέργεια γιαουρτιού συνίσταται από *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* σε αναλογία 1:1. Ο εμβολιασμός καλλιεργειών εκκίνησης συνήθως λαμβάνει χώρα σε σφραγισμένο καθαρό δοχείο από ανοξείδωτο χάλυβα. Ωστόσο, ο τόπος ζύμωσης είναι διαφορετικός για την παρασκευή του παρασκευασμένου και του αναδευόμενου γιαουρτιού. Συνήθως συμβαίνει σε επιμέρους δοχεία και σε μεγάλες δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα υψηλής καθαρότητας σε διεργασίες παρασκευής και ανάδευσης γιαουρτιού, αντίστοιχα. Η θερμοκρασία επώασης διατηρείται και παρακολουθείται σε βέλτιστο επίπεδο καθόλη τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης για λίγες ώρες (2,5-3 h) έως ότου το pH και η οξύτητα φθάσουν στα επιθυμητά επίπεδα πριν διακόψουν τη διαδικασία ζύμωσης με ταχεία ψύξη. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης, λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας των χρησιμοποιούμενων γαλακτικών βακτηρίων, η λακτόζη μετατρέπεται σε γαλακτικό οξύ που πήζει τις πρωτεΐνες γάλακτος και οδηγεί στην παραγωγή ορισμένων πτητικών ενώσεων που δίνουν τη χαρακτηριστική γεύση και άρωμα.

4.2.6. Ψύξη

Όταν το γιαούρτι έχει φτάσει στο επιθυμητό pH (4,5-4,6), τότε συχνά τοποθετείται σε ψυχρές θερμοκρασίες (<10°C) προκειμένου να σταματήσει η διαδικασία της ζύμωσης και έτσι να σταματήσει η περαιτέρω ανάπτυξη οξέων (Tamime and Robinson, 1999). Έτσι, μεταφέρεται απευθείας σε μια ψυκτική αποθήκη ή ψύχεται σε σήραγγες ψύξης. Από την άλλη πλευρά, στην παρασκευή του αναδευόμενου γιαουρτιού, η ψύξη πρώτα πραγματοποιείται με ανάδευση του πηκτώματος στη δεξαμενή ζύμωσης επενδυμένο με μανδύες, προκειμένου να παραχθεί μαλακό προϊόν πριν από την πλήρωση σε δοχεία (Lee and Lucey, 2010). Σύμφωνα με τις προδιαγραφές του USDA, μετά τα τελικά στάδια κατασκευής ή/και συσκευασίας, το γιαούρτι πρέπει να ψύχεται και να διατηρείται σε θερμοκρασίες μικρότερες από 7.2°C (USDA, 2001).

4.3. Διατροφικό προφίλ του γιαουρτιού

Το γιαούρτι είναι ένα εξαιρετικά θρεπτικό και εύπεπτο γαλακτοκομικό προϊόν, το οποίο αποτελεί πλούσια πηγή περισσότερων από δέκα βασικών θρεπτικών συστατικών,

κυρίως ανόργανων συστατικών και βιταμινών. Η διατροφική σύνθεση του γιαουρτιού μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τα στελέχη της αρχικής καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται στη ζύμωση, τον τύπο του χρησιμοποιούμενου γάλακτος (ολόκληρο, ημιαποβουτυρωμένο ή αποβουτυρωμένο γάλα), το είδος του ζώου από όπου προέρχεται το γάλα (βοοειδή, κατσίκια, πρόβατα), τα μη λιπαρά στερεά, τα γλυκαντικά και τα φρούτα που προστέθηκαν πριν από τη ζύμωση, καθώς και την έκταση της διαδικασίας ζύμωσης (Πίνακας 7).

Πίνακας 7: Διατροφική σύσταση διαφορετικών ποικιλιών γιαουρτιού (ανά 100g)

(The Dairy Council, 2013).

Συστατικό	Γιαούρτι με πλήρη λιπαρά	Γιαούρτι χαμηλών λιπαρών	Γιαούρτι χωρίς λιπαρά	Γιαούρτι ελληνικού τύπου	Υγρό γιαούρτι
Ενέργεια (kcal)	79	56	54	133	62
Πρωτεΐνη (g)	5.7	4.8	5.4	5.7	3.1
Υδατάνθρακες (g)	7.8	7.4	8.2	4.8	13.1
Λίπος (mg)	3.0	1.0	0.2	10.2	Ίχνη
Θειαμίνη (mg)	0.06	0.12	0.04	0.12	0.03
Ριβοφλαβίνη (mg)	0.27	0.22	0.29	0.13	0.16
Νιασίνη (mg)	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
Βιταμίνη B ₆ (mg)	0.10	0.01	0.07	0.07	0.05
Βιταμίνη B ₁₂ (mg)	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2
Φολικό οξύ (μg)	18	18	8	6	12
Καροτένιο (μg)	21	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη	Ίχνη
Βιταμίνη D (mg)	0	0.1	Ίχνη	0.1	Ίχνη
Κάλιο (mg)	280	228	247	184	130
Ασβέστιο (mg)	200	162	160	126	100
Φώσφορος (mg)	170	143	151	138	81

Ωστόσο, η γενική σύνθεση του γιαουρτιού είναι περισσότερο ή λιγότερο παρόμοια με εκείνη του γάλακτος. Έτσι, το γιαούρτι είναι μια πλούσια πηγή σε πρωτεΐνες γάλακτος, σε υδατάνθρακες, σε μεταλλικά στοιχεία όπως ασβέστιο και φώσφορο και σε βιταμίνες όπως ριβοφλαβίνη (B₂), θειαμίνη (B₁), κοβαλαμίνη (B₁₂), φολικό (B₉), νιασίνη (B₃) και βιταμίνη Α. Οι πρωτεΐνες γάλακτος που διατίθενται στο γιαούρτι είναι υψηλής ποιότητας λόγω της

υψηλής βιολογικής τους αξίας και παρέχουν σχεδόν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα για τη διατήρηση της καλής υγείας (Mckinley, 2005). Επιπλέον, οι πρωτεΐνες γάλακτος που υπάρχουν στο γιαούρτι περιέχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε αμινοξέα προλίνη και γλυκίνη από ότι στο πλήρες γάλα ενώ εκτελούν πρόσθετες λειτουργίες του σώματος όπως ενίσχυση της απορρόφησης του ασβεστίου και ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος (Mckinley, 2005). Η λακτόζη είναι ο κύριος υδατάνθρακας που βρίσκεται στο γιαούρτι, όπως και σε άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η περιεκτικότητα σε λακτόζη στο νωπό γάλα είναι περίπου 4,6%. Ωστόσο, η αρχική περιεκτικότητα σε λακτόζη στο γάλα μειώνεται κατά 20-30% κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ζύμωσης καθώς η λακτόζη μετατρέπεται στις απλές μορφές γλυκόζης και γαλακτόζης λόγω της μεταβολικής δραστηριότητας των γαλακτικών βακτηρίων. Η περιεκτικότητα σε λιπαρά του γιαουρτιού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την περιεκτικότητα σε λιπαρά του αρχικού μείγματος γιαουρτιού. Σύμφωνα με τις προδιαγραφές του USDA για το γιαούρτι, στο γιαούρτι χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος και στο γιαούρτι χωρίς λιπαρά, η περιεκτικότητα σε λίπος κυμαίνεται από 0,5 έως 3,25% (USDA, 2001). Ωστόσο, η περιεκτικότητα σε λίπος του γιαουρτιού είναι εξαιρετικά υποκειμενική, όπως για παράδειγμα σε ορισμένα προϊόντα, όπως το γιαούρτι ελληνικού τύπου που περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος έως και 10%. Σε αντίθεση με το γάλα, οι διεργασίες που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή γιαουρτιού, όπως η ομογενοποίηση και η ζύμωση, καταλήγουν σε διάσπαση κάποιας ποσότητας λίπους σε εύκολα εύπεπτα και απορροφήσιμα λιπαρά οξέα (Mckinley, 2005). Οι βιταμίνες και τα ανόργανα συστατικά που περιέχονται στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα βρίσκονται σε βιο-διαθέσιμη μορφή όπου είναι διαθέσιμα για απορρόφηση και χρήση από τον οργανισμό. Το γιαούρτι και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι μια εξαιρετική πηγή αρκετών βιταμινών και ειδικότερα του συμπλέγματος Β, όπως ριβοφλαβίνη και θειαμίνη. Αναφέρεται ότι μια μερίδα 150 g απλού πλήρους γιαουρτιού και απλού χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά γιαουρτιού θα παράσχει το 31% και 30% αντίστοιχα της ημερήσιας απαίτησης σε ριβοφλαβίνη και το 23% και 45% αντίστοιχα της ημερήσιας απαίτησης σε θειαμίνη για ενήλικες (Mckinley, 2005). Ωστόσο, οι βιταμίνες B₁₂ και B₆ βρίσκονται σε σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις από αυτές του γάλακτος, καθώς ο *Streptococcus thermophilus* χρησιμοποιεί αυτές τις βιταμίνες για το μεταβολισμό του. Η περιεκτικότητα σε φυλλικό οξύ του γιαουρτιού μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τη σύνθεση των γαλακτικών βακτηρίων που χρησιμοποιούνται, διότι μερικά από

τα είδη LAB όπως *S. thermophilus* και *Bifidobacteria* συνθέτουν ορισμένες βιταμίνες συμπεριλαμβανομένου του φυλλικού οξέος από μόνοι τους (Mckinley, 2005).

4.4. Ποικιλίες και τύποι γιαουρτιού

Το γιαούρτι μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε δύο διαφορετικές ομάδες, συγκεκριμένα το απλό γιαούρτι με καλλιέργεια και το βιολογικό ή προβιοτικό γιαούρτι. Το απλό γιαούρτι αναφέρεται σε αυτό που γίνεται με *L. bulgaricus* και *S. thermophilus*. Αυτά τα βακτήρια είναι ικανά να διεγείρουν τη μικροχλωρίδα που υπάρχει ήδη στο έντερο βοηθώντας στη γενική διατήρηση της εντερικής υγείας (Dowden, 2013). Από την άλλη πλευρά, τα βιολογικά γιαούρτια παρασκευάζονται καλλιεργώντας ευεργετικούς μικροοργανισμούς που ισχυρίζεται ότι έχουν πολυάριθμα οφέλη για την υγεία όταν καταποθούν, συνήθως τα προβιοτικά στελέχη των *Bifidobacteria* και *L. acidophilus*. Σε αντίθεση με τις συνήθεις καλλιέργειες γιαουρτιού, αυτά τα προβιοτικά στελέχη ισχυρίζεται ότι διαθέτουν πιο συγκεκριμένα οφέλη για την υγεία και αντιπροσωπεύουν τους τύπους της μικροχλωρίδας που υπάρχουν στο έντερο (Dowden, 2013). Αυτός ο τύπος γιαουρτιού είναι πιο δημοφιλής και έχει μία πιο ήπια, κρεμώδη γεύση και είναι λιγότερο όξινο. Επιπλέον, τα βιολογικά γιαούρτια ισχυρίζονται ότι βοηθούν στην πέψη και προάγουν την καλή υγεία. Ωστόσο, αυτά τα προβιοτικά στελέχη πρέπει να παραμείνουν ζωντανά σε επαρκείς αριθμούς για να διεκδικήσουν οποιαδήποτε επίδραση στην υγεία (Dairy UK, 2009). Εξαιτίας αυτού, έχει εισαχθεί πρόσφατα ένας όρος που ονομάζεται "Live and Active Cultures", ο οποίος αναφέρεται στους ζωντανούς μικροοργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των τυπικών καλλιεργειών γιαουρτιού και των προβιοτικών καλλιεργειών που υπάρχουν στο γιαούρτι κατά το χρόνο της παρασκευής. Προκειμένου να προσδιοριστούν τα προϊόντα γιαουρτιού με επαρκείς ποσότητες ευεργετικών ζωντανών μικροοργανισμών, η Εθνική Ένωση για το Γιαούρτι (National Yogurt Association) εισήγαγε τη σφραγίδα Live and Active Cultures Seal. Ως εκ τούτου, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές της Εθνικής Ένωσης για το Γιαούρτι, τα ψυκτικά προϊόντα πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον 100 εκατομμύρια ζωντανές καλλιέργειες ανά γραμμάριο και τα κατεψυγμένα προϊόντα να περιέχουν τουλάχιστον 10 εκατομμύρια ζωντανές καλλιέργειες ανά γραμμάριο κατά τη στιγμή της παρασκευής, ώστε να αποκτήσουν αυτή τη σφραγίδα καλλιέργειας (National Yogurt Association, 2013b). Εκτός

από αυτή την ταξινόμηση, τα προϊόντα γιαουρτιού που διατίθενται στην αγορά είναι σε μεγάλη ποικιλία γεύσεων, υφών και μορφών που ταιριάζουν σε μια τεράστια ποικιλία γευστικών προτιμήσεων και γευμάτων. Αυτά μπορούν να καταναλωθούν είτε ως σνακ, επιδόρπιο είτε ως μέρος γεύματος. Διαφορετικές ποικιλίες γιαουρτιού μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη φυσική και χημική φύση, τις πρόσθετες γεύσεις και τις διεργασίες μετά την επώαση, και αναφέρονται παρακάτω.

4.4.1. Με βάση τη χημική σύνθεση του προϊόντος

Με βάση την περιεκτικότητα σε λίπος του γιαουρτιού, μπορεί να ταξινομηθεί σε τρεις μεγάλες κατηγορίες, συγκεκριμένα το κανονικό γιαούρτι, το γιαούρτι με χαμηλά λιπαρά και το γιαούρτι χωρίς λιπαρά. Το κανονικό γιαούρτι παράγεται από το πλήρες γάλα που περιέχει λίπος τουλάχιστον 3,25% (FDA, 2013). Από την άλλη πλευρά, το γιαούρτι με χαμηλά λιπαρά και το γιαούρτι χωρίς λιπαρά παράγονται από γάλα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά ή μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα και αποβουτυρωμένο γάλα αντίστοιχα. Η περιεκτικότητα σε λίπος μαζί με το pH και η τιτλοδοτούμενη οξύτητα αυτών των τριών ποικιλιών γιαουρτιού παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 8: Σύσταση των κανονικού, με χαμηλά λιπαρά και χωρίς λιπαρά γιαουρτιών (FDA 2013a, b, c).

Παράμετρος	Γιαούρτι κανονικό	Γιαούρτι χαμηλών λιπαρών	Γιαούρτι χωρίς λιπαρά
Λίπος (%)	≥3.25	0.5-2.0	≤0.5
Στερεά μη λιπαρά (%)	≥8.25	≥8.25	≥8.25
Τιτλοδοτούμενη οξύτητα (%)	≥0.9	≥0.9	≥0.9
pH	≤4.5	≤4.5	≤4.5

4.4.2. Με βάση τη φυσική κατάσταση του προϊόντος

Η φυσική κατάσταση του γιαουρτιού μπορεί να είναι στερεή, ημιστερεή ή ρευστή. Τα γιαούρτια που είναι στερεά (ζελατινοειδή υφή) καλούνται ως μη αναμιγμένο γιαούρτι που επωάζεται και ψύχεται στην τελική συσκευασία. Ενώ τα γιαούρτια που είναι σε ημιστερεή κατάσταση και ρευστά χαρακτηρίζονται ως αναμεμιγμένο γιαούρτι και υγρό/πόσιμο γιαούρτι, αντίστοιχα. Αναμεμιγμένα γιαούρτια παράγονται με επώαση του μίγματος σε

δεξαμενή και στη συνέχεια ανάδευση πριν την ψύξη και τη συσκευασία (Dairy Consultant, 2013). Οι μέθοδοι παρασκευής του μη αναμιγμένου και αναμεμιγμένου γιαουρτιού απεικονίζονται στο Σχήμα 1. Τα υγρά γιαούρτια συνήθως περνούν από μια διαδικασία ομογενοποίησης προκειμένου να μειωθεί το μέγεθος των σωματιδίων που εξασφαλίζει την υδροκολλοειδή κατανομή και τη σταθεροποίηση του εναιωρήματος της πρωτεΐνης.

4.4.3. Με βάση τη γεύση του προϊόντος

Η προσθήκη διαφόρων γεύσεων θα ενισχύσει τις προτιμήσεις των καταναλωτών ενώ παράλληλα παράγεται και ποικιλία προϊόντων. Γεύσεις μπορεί να προστεθούν είτε αμέσως πριν από την ομογενοποίηση είτε μετά την ομογενοποίηση. Τα γιαούρτια μπορούν να ταξινομηθούν σε απλό, με φρούτο και αρωματισμένο γιαούρτι ανάλογα τη γεύση του γιαουρτιού.

Απλό/Φυσικό Γιαούρτι. Αυτή είναι η απλούστερη και η ελάχιστα νοθευμένη μορφή του γιαουρτιού που παρασκευάζεται με γαλακτική ζύμωση παστεριωμένου γάλακτος για να παράγει τη χαρακτηριστική υφή και γεύση του. Με άλλα λόγια, μπορεί να οριστεί ως απλό και μη σακχαρούχο ζυμώμενο προϊόν γάλακτος που δεν περιέχει πρόσθετο χρώμα ή άλλα πρόσθετα (Dairy UK, 2009). Ως εκ τούτου, είναι πιο κοντά στη θρεπτική αξία του γάλακτος από το οποίο είναι φτιαγμένο και παρέχει όλα τα οφέλη που σχετίζονται με τη ζύμωση ενώ παράγει λιγότερες ποσότητες θερμίδων. Επιπλέον, το απλό γιαούρτι δίνει την καθαρή γεύση γιαουρτιού και περιέχει πλουσιότερη περιεκτικότητα σε ασβέστιο μεταξύ των προϊόντων γιαουρτιού (Dowden, 2013; Daily Australia, 2013).

Αρωματισμένο γιαούρτι. Τα γιαούρτια είναι διαθέσιμα σε μια μεγάλη ποικιλία γεύσεων, συμπεριλαμβανομένων των φρούτων (μήλο, βερίκοκο, κεράσι, μαύρη σταφίδα, μπλε μούρο, λεμόνι, μανταρίνι, βατόμουρο, φράουλα, ροδάκινο), δημητριακά, λαχανικά, σοκολάτα, βανίλια, καραμέλα, κτλ (Goodness Direct, 2013). Σε γενικές γραμμές, οι γεύσεις προστίθενται στο γιαούρτι κατά τη διάρκεια της παραγωγής και η προσθήκη γεύσεων δεν οδηγεί μόνο σε μεγάλη ποικιλία, αλλά αυξάνει και τη γλυκύτητα του προϊόντος (Daily Australia, 2013).

4.4.4. Προϊόντα που σχετίζονται με το γιαούρτι

Μετά τη βασική διαδικασία επώασης στην παρασκευή γιαουρτιού, η οποία εξαρτάται από τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους παρασκευής, όπως ανάμιξη με άλλα μείγματα, θερμική επεξεργασία και ξήρανση, μπορεί να προκύψει μια σειρά προϊόντων γιαουρτιού, συγκεκριμένα, παστεριωμένο γιαούρτι, γιαούρτι UHT, αποξηραμένο γιαούρτι κλπ.

Παστεριωμένο και UHT γιαούρτι. Αυτοί οι τύποι γιαουρτιών παράγονται μετά τη ζύμωση υποβάλλοντας σε θερμική επεξεργασία με διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου-θερμοκρασίας (Dairy UK, 2009). Αν και αυτοί οι τύποι προϊόντων γιαουρτιού παράγονται προκειμένου να παρατείνουν τη διάρκεια ζωής τους ή και να μειώσουν τη φυσική οξύτητα του γιαουρτιού, η θερμική επεξεργασία μπορεί να καταστρέψει έναν σημαντικό αριθμό ζωντανών και ενεργών καλλιεργειών, πράγμα που θα αποτελούσε μειονέκτημα όσον αφορά τα οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση γιαουρτιού.

Παγωμένο γιαούρτι. Το παγωμένο γιαούρτι θα μπορούσε να οριστεί ως τρόφιμο το οποίο παρασκευάζεται με κατάψυξη ενώ αναμειγνύεται ένα παστεριωμένο μείγμα που αποτελείται από τα συστατικά που επιτρέπονται για το παγωτό και πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 3,25% λιπαρές ύλες γάλακτος, όχι λιγότερο από 8,25% σε μη λιπαρά στερεά γάλακτος και έχει τιτλοδοτούμενη οξύτητα τουλάχιστον 0,3% εκφρασμένη σε γαλακτικό οξύ (The Pennsylvania Code, 1992a). Ενώ η έκδοση με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά αφορά περισσότερο από 0,5% αλλά λιγότερο από 2% λίπος γάλακτος με την ίδια ποσότητα μη λιπαρών στερεών γάλακτος (The Pennsylvania Code, 1992b). Προκειμένου να αποκτηθεί η σφραγίδα ζωντανών και ενεργών καλλιεργειών της Εθνικής Ένωσης Γιαουρτιού, το παγωμένο γιαούρτι πρέπει να είναι προϊόν που παράγεται με τη ζύμωση παστεριωμένου γάλακτος χρησιμοποιώντας παραδοσιακές καλλιέργειες γιαουρτιού μέχρις ότου επιτευχθεί η κατάλληλη οξύτητα ακολουθούμενη από ανάμιξη με παστεριωμένο μίγμα παγωτού συμπεριλαμβανομένης της κρέμας, κ.λ.π. σύμφωνα με τις προκαθορισμένες συνταγές των κατασκευαστών που μπορεί στη συνέχεια να αναμειχθεί με φρούτα και στη συνέχεια να κατεψυχθεί (National Yogurt Association, 2013a).

Αποξηραμένο γιαούρτι/σκόνη γιαουρτιού. Η σκόνη γιαουρτιού παράγεται με τη ζύμωση γάλακτος χωρίς λιπαρά με χρήση καθορισμένων καλλιεργείων γιαουρτιού μέχρις ότου επιτευχθεί το επιθυμητό pH που ακολουθείται από ένα στάδιο ξήρανσης, πιθανότατα με ξήρανση με κατάψυξη. Επιπλέον, η ανάμιξη σκόνης γιαουρτιού παρασκευάζεται με ανάμιξη γάλακτος χωρίς λιπαρά, ορού γάλακτος, συμπυκνωμένου πρωτεϊνικού ορού γάλακτος, γαλακτοκομικών στερεών, ξηρού γάλακτος χωρίς λιπαρά και γαλακτικού οξέος που είναι παρόμοια με τη γεύση και τη λειτουργικότητα με εκείνη της παραδοσιακής σκόνης γιαουρτιού (Childs and Drake, 2008). Οι σκόνες γιαουρτιού προσθέτουν μια μοναδική γεύση γαλακτοκομικών σε εφαρμογές τροφίμων, όπως ποτά, γλυκίσματα και βουτήματα. Το κύριο πλεονέκτημα της παρασκευής σκόνης γιαουρτιού είναι η αποθήκευση του προϊόντος σε σταθερή και εύκολα χρησιμοποιήσιμη κατάσταση και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει το φρέσκο γιαούρτι στα ποτά και στη βιομηχανία ζαχαροπλαστικής ως υλικό επικάλυψης σε ξηρά φρούτα, σε κουλουράκια, σε δημητριακά και άλλα είδη σνακ (Childs and Drake, 2008; Krasaekoort and Bhatia, 2012). Η σύνθεση της εμπορικής σκόνης γιαουρτιού παρουσιάζεται στον Πίνακα 9. Το χρώμα της σκόνης γιαουρτιού κυμαίνεται από υπόλευκο έως ανοικτό κίτρινο ενώ το pH και η τιτλοδοτούμενη οξύτητα μπορεί να ποικίλλει μεταξύ 4.7-5.1 και 5.8-7.4, αντίστοιχα (Childs and Drake, 2008).

Πίνακας 9: Σύσταση εμπορικής σκόνης γιαουρτιού (Krasaekoort and Bhatia, 2012).

Συστατικό	Ποσοστό (%)
Υγρασία	3.0-5.0
Λίπος	1.2-2.0
Πρωτεΐνη	33.0-36.0
Λακτόζη	50.0-51.5
Τέφρα	7.0-8.0

Φυτικό γιαούρτι. Πολλά παραδοσιακά παρασκευάσματα με διάφορους συνδυασμούς βοτάνων έχουν χρησιμοποιηθεί για πάνω από 1500 χρόνια για τη θεραπεία παθήσεων του ανώτερου αναπνευστικού βοηθώντας στη μείωση της εμφάνισής τους και της σοβαρότητάς τους (Goonaratna and Sooriyarachchi, 2012). Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει μια αυξανόμενη τάση για την παραγωγή φυτικών γιαούρτων με την ενσωμάτωση των φυσικών πρόσθετων τροφίμων και των ουσιών που προάγουν την υγεία. Η προσθήκη του neem (*Azadirachta indica*) σε γιαούρτι έχει δείξει αυξημένη οξίνιση, ολικές φαινολικές ενώσεις, αντιοξειδωτική

δράση και αναστολή ενζύμων που σχετίζονται με τον διαβήτη και την υπέρταση (Shori and Baba, 2011a). Τα βιολογικά γιαούρτια που παρασκευάζονται από γάλα αγελάδας και γάλα καμήλας με *Cinnamomum verum* ανέφεραν ότι αναστέλλουν ένζυμα όπως α-αμυλάση και α-γλυκοσιδάση που σχετίζονται με τον διαβήτη, ενώ τα υψηλότερα ποσοστά *Lactobacilli* παρατηρήθηκαν στα φυτικά γιαούρτια που παρασκευάστηκαν με γάλα καμήλας από αυτό του απλού γιαουρτιού (Shori and Baba, 2011b; 2012). Τα φυτικά γιαούρτια που παρασκευάστηκαν με *Anethum graveolence* (άνηθος), *Mentha piperita* (μέντα) και *Ocimum basilicum* (βασιλικός) έδειξαν υψηλότερες ACE ανασταλτικές δραστηριότητες, δραστηριότητες α-αμυλάσης και α-γλυκοσιδάσης από εκείνες του απλού γιαουρτιού γεγονός που δείχνει ότι αυτά τα φυτικά γιαούρτια θα μπορούσαν να είναι ωφέλιμα για θεραπεία της υπέρτασης και του σακχαρώδη διαβήτη (Amirdivani, 2007). Επιπλέον, η συμπερίληψη του *Alliumsativum* και του *C. verum* έχει αυξήσει τον αριθμό των *Lactobacilli* περισσότερο σε γιαούρτι από γάλα καμήλας σε σχέση με τα γιαούρτια από αγελαδινό γάλα εκτός από τη διάρκεια της αποθήκευσης σε ψυγείο και δεν επηρεάζουν τις οργανοληπτικές ιδιότητες του γιαουρτιού (Shori and Baba, 2012). Οι Barrantes et al. (1996) έδειξαν τη δυνατότητα παρασκευής γιαουρτιών πλούσιων σε πολυ- και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία παρασκευάστηκαν από ανασυσταθέν αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη, χρησιμοποιώντας φυτικά έλαια (ελαιόλαδο, αραχιδέλαιο, ηλιέλαιο ή αραβοσιτέλαιο) για να αντικαταστήσουν το λίπος του γάλακτος (Barrantes et al., 1996).

4.4.5. Άλλοι τρόποι διαχωρισμού των γιαουρτιών

Τα γιαούρτια μπορούν να χωριστούν σε διάφορους τύπους με βάση το πώς αυτά παρασκευάζονται, όπως το γιαούρτι βαλκανικού τύπου, ελληνικού τύπου, ευρωπαϊκού τύπου, γαλλικού τύπου, γιαούρτι με φρούτα. Το γιαούρτι βαλκανικού τύπου έχει μια χαρακτηριστική παχιά υφή και κατασκευάζεται σε μικρές και ατομικές παρτίδες μετά την έκχυση του θερμού μίγματος που περιέχει καλλιέργεια σε δοχεία μετά από επώαση χωρίς ανάδευση για πάνω από 12 ώρες ή περισσότερο, μέχρι την επίτευξη επιθυμητού πάχους και κρέμας (Dairy Goodness, 2013b; Yogurt Page, 2012). Το γιαούρτι ελληνικού τύπου είναι επίσης γνωστό ως γιαούρτι μεσογειακού τύπου, κατασκευασμένο είτε από μερικώς συμπυκνωμένο γάλα είτε με απομάκρυνση ορού γάλακτος από απλό γιαούρτι για να γίνει πιο παχύρρευστο και πιο κρεμώδες. Εντούτοις, είναι πιθανό να είναι μια πλούσια πηγή

βιταμίνης Α, καθώς μια δόση 150 g θα παρέχει το ένα πέμπτο της συνιστώμενης ημερήσιας δόσης βιταμίνης Α (Dowden, 2013). Το γιαούρτι ευρωπαϊκού τύπου είναι ένας τύπος αναδευόμενου γιαουρτιού με χαρακτηριστική κρεμώδη και λεία υφή και παρασκευάζεται με επώαση του μείγματος γιαουρτιού σε μια μεγάλη δεξαμενή αντί για μεμονωμένα κύπελλα, ακολουθούμενη από ψύξη και κατόπιν ανάδευση για να αποκτήσουμε μια κρεμώδη υφή πιο συχνά με προσθήκη φρούτων (βατόμουρα, φράουλες, μάνγκο και ροδάκινο) και γεύσεις (Yogurt Page, 2012). Το γιαούρτι γαλλικού στυλ είναι επίσης γνωστό ως γιαούρτι κρέμας που παρασκευάζεται με άμεση καλλιέργεια και διαδικασία που χαρακτηρίζεται από μια υφή που μοιάζει με πουτίγκα (Dowden, 2013; Yogurt Page, 2012). Μερικές φορές τα γιαούρτια σε γαλλικό στυλ συνοδεύονται με κομμάτια φρούτων τα οποία αναδεύονται στο μείγμα, συνήθως με φράουλες και βατόμουρα ή μείγμα και των δύο (Dowden, 2013). Λέγεται ότι είναι μια ιδανική πηγή σιδήρου, πρωτεΐνης και βιταμίνης Α (Yogurt Page, 2012). Ακόμη, υπάρχουν δύο τύποι γιαουρτιών με φρούτα: ο ένας έχει τους καρπούς που βρίσκονται στο κάτω μέρος της συσκευασίας (γιαούρτι τύπου *sundae*) ενώ ο άλλος έχει ομοιόμορφα κατανεμημένο φρούτο μέσα στο ίδιο το γιαούρτι (γιαούρτι ελβετικού τύπου) (Yogurt Page, 2012). Τα τεμάχια φρούτων ή ο πολτός προστίθενται στο στάδιο της παραγωγής δίνοντας ποικιλία γεύσεων ενώ αυξάνουν τις επιθυμίες των καταναλωτών και τη γλυκύτητα τους (Daily Australia, 2013).

4.5. Κριτήρια επιλογής για καλλιέργειες γιαουρτιού

Για την παρασκευή γιαουρτιού, επιπλέον των φυσιολογικών καλλιιεργειών γιαουρτιού (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* και *S. thermophilus*) μπορούν να περιλαμβάνονται και άλλα γαλακτικά βακτήρια για να ικανοποιήσουν τα τεχνολογικά και θεραπευτικά χαρακτηριστικά. Οι καλλιέργειες εκκίνησης που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή γιαουρτιού πρέπει να διαθέτουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά (Sarkar, 2008):

- Ικανότητα παραγωγής βέλτιστης συνοχής, βελτιωμένου ιξώδους και καλής γεύσης.
- Εύκολη συντήρηση και σταθερότητα της καλλιέργειας.
- Να μην υπάρχει τάση να προκληθεί συναίρεση.

- Λογική ανοχή στα σάκχαρα.
- Να μην επηρεάζουν τις μεταβολικές δραστηριότητες παρουσία πενικιλίνης και άλλων αντιβιοτικών.
- Πρέπει να διατηρούν τη δραστηριότητα παρουσία βακτηριοφάγου (Tramer, 1973).
- Κατά προτίμηση πρέπει να περιέχουν γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά (Danielsen and Wind, 2003).
- Δυνατότητα ταχείας οξίνισης (Haddadin et al., 2004).
- Πρέπει να παραμείνουν ενεργά στο τέλος της προβλεπόμενης διάρκειας ζωής (Adolfsson et al., 2004).
- Πρέπει να είναι όξινα και χολικά ανεκτικά (Liong and Shah, 2006).
- Πρέπει να επιβιώνουν από τη διέλευση μέσω της ανθρώπινης γαστρεντερικής οδού (Mater et al., 2005).
- Να είναι ικανά να διατηρούν καλή γεύση μετά την παραγωγή του.
- Πρέπει να διατηρούν τη βιωσιμότητα στο τέλος της παραγωγής (Dilmi-Bouras, 2006).
- Δυνατότητα μείωσης την οξίνισης μετά την κύρια ζύμωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης υπό ψύξη (Ongol et al., 2007).

4.6. Επίδραση των προβιοτικών καλλιεργείων στα βιοτεχνολογικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού

Διάφορες προβιοτικές καλλιέργειες μπορεί να συμπεριφέρονται διαφορετικά σε συνδυασμό με τις καλλιέργειες του γιαουρτιού. Η βιοτεχνολογική συμπεριφορά των καλλιεργείων του γιαουρτιού με την παρουσία προβιοτικών πρέπει να εκτιμάται ότι μπορεί να επηρεάσει τα χαρακτηριστικά του προϊόντος. Παρακάτω αναφέρεται η επίδραση της συμπερίληψης των προβιοτικών καλλιεργείων σε διάφορα βιοτεχνολογικά (τεχνολογικά, διαιτητικά και προστασίας) χαρακτηριστικά του γιαουρτιού.

4.6.1. Επίδραση προβιοτικών καλλιιεργειών σε τεχνολογικά χαρακτηριστικά

4.6.1.1. Παραγωγή οξέος

Κατά τη διάρκεια της παρασκευής γιαουρτιού, οι καλλιέργειες γιαουρτιού μεταβολίζουν τη λακτόζη που υπάρχει στο γάλα σε γαλακτικό οξύ. Ο Patel et al. (1983) αναφέρει ότι η αρχική περιεκτικότητα της λακτόζης του γάλακτος (5,6%) μειώνεται σε μεγαλύτερο βαθμό λόγω των συνεταιριστικών δραστηριοτήτων του *S. thermophilus* και του *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* (3,58%) από αυτές που σημειώθηκαν κατά τη δραστηριότητα καθαρής καλλιέργειας του *S. thermophilus* (4,0%) ή του *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* (3,82%). Κατά τη διάρκεια της παραγωγής γιαουρτιού, παρατηρήθηκε αρχική ταχύτερη ανάπτυξη για τον *S. thermophilus* έως 6 ώρες, ακολουθούμενη από τον *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* (Patel et al., 1983) και μεγαλύτερη οξίνιση λόγω της συνεταιριστικής τους ανάπτυξης είναι ενδεικτική της συμβιωτικής ή συνεταιριστικής τους σχέσης (Prasad and Srinivas, 1987; Amoroso και Manca De Nadra, 1991). Ο Buono et al. (1990) αναφέρει ότι η αναλογία 1:1 g (μάζα) καθαρών καλλιιεργειών γιαουρτιού είναι ανώτερη από την αναλογία 1:1 (αριθμός κυττάρων) για εμβολιασμό μεικτής καλλιιεργειας. Οι Salvador and Fiszman (2004) αναφέρουν την ποικιλία στην έκταση της οξίνισης με καλλιιεργειες γιαουρτιού σε πλήρες γάλα (0,82-1,10% σε γαλακτικό οξύ) και αποβουτυρωμένο γάλα (0,82-1,15% σε γαλακτικό οξύ).

Η έκταση της οξίνισης με καλλιιεργειες γιαουρτιού ενισχύεται με τη συμπερίληψη του *B. bifidum* (0,76% έναντι 0,89% γαλακτικού οξέος) και αποδίδεται στην καλύτερη συνεργασία του *B. bifidum* (0,88% έναντι 0,43% γαλακτικού οξέος) με τον *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* από τον *S. thermophilus* (Misra and Kuila, 1994). Ο Khedker et al. (1994) σημείωσε ότι μία αύξηση της παραγωγής οξέων από τις καλλιιεργειες γιαουρτιού εξαρτάται από το στέλεχος και ο *S. thermophilus* σε συνδυασμό με το *B. adolescentis* παρήγαγε μεγαλύτερη οξύτητα (0,76% έναντι 0,77-0,88% γαλακτικού οξέος). Ο Murti et al. (1993) ανέφερε καλύτερη συσχέτιση του *B. adolescentis* με τον *S. thermophilus* παρά με τον *L. acidophilus* από την άποψη της παραγωγή οξέος. Ο Srinivas et al. (1997) κατέγραψε καλύτερη συνεργασία κατά την συν-καλλιιεργεια με *L. acidophilus* και *B. bifidum* (1,20% γαλακτικού οξέος) σε σύγκριση με εκείνα που σημειώνονται σε συνδυασμό είτε με *L. acidophilus* (1,10% γαλακτικού οξέος) ή *B. bifidum* (1,10% γαλακτικού οξέος). Ωστόσο, ο Yamamah et al. (2005) ανέφερε αύξηση της

οξύτητας λόγω της συμπερίληψης 5% του *B. bifidum* με καλλιέργειες γιαουρτιού (0,80-0,86% γαλακτικό οξύ), ωστόσο η περαιτέρω προσθήκη 2% *L. acidophilus* είχε ως αποτέλεσμα την χαμηλότερη παραγωγή οξέος (0,75% γαλακτικό οξύ). Οι Sarkar and Misra (1998) σημείωσαν επίσης ελαφρά αύξηση στην έκταση της οξίνισης με καλλιέργειες γιαουρτιού λόγω της συμπερίληψης των μικτών καλλιεργειών των *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*, (0.68% έναντι 0.70%) σε σχέση με το αποβουτυρωμένο γάλα (0.55% έναντι 0,56%).

Η έκταση της οξίνισης από διαφορετικές προβιοτικές καλλιέργειες όπως οι *L. acidophilus* La5, *L. acidophilus* 1748, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. reuterii* SD 2112 και *B. animalis* BB12 σε γάλα υψηλής θερμοκρασίας μετά από 48 ώρες επώασης στους 37°C κυμάνθηκε από 6949 έως 14.000 mg/kg (Ostlie et al., 2003). Άλλες προβιοτικές καλλιέργειες όπως οι *L. plantarum* και *L. paracasei* subsp. *tolerans* παρουσίασαν επίσης χαμηλότερο ποσοστό οξίνισης, όταν καλλιεργούνταν σε συνδυασμό με καλλιέργειες γιαουρτιού αλλά δεν αποκαλύπτεται οποιαδήποτε ανασταλτική δραστηριότητα προς ή από τους εκκινητές γιαουρτιού (Managkoudakis et al., 2006). Πρόβλημα βραδύτερης οξίνισης κατά τη διάρκεια της παρασκευής γιαουρτιού που χρησιμοποιεί προβιοτικές καλλιέργειες θα μπορούσε να λυθεί με την ενσωμάτωση 0,5% υδρολύματος πρωτεΐνης (Zhao and Zhang, 2006) ή 3% ινουλίνης στο γάλα (Kurien et al., 2005). Ο Awaisheh et al. (2005) συνέστησε την υιοθέτηση διεργασίας ζύμωσης δύο σταδίων με τη συμμετοχή καλλιεργειών γιαουρτιού στο αρχικό στάδιο για ταχεία οξίνιση, ακολουθούμενη από ζύμωση δεύτερου σταδίου με προβιοτικές καλλιέργειες όπως *L. gasseri* και *B. infantis*. Οι Hadadji and Bensoltane (2006) ανέφεραν μία αύξηση της έκτασης της οξίνισης από *B. longum* (82 mM γαλακτικό οξύ) και *L. acidophilus* (110 mM γαλακτικό οξύ) κατά τη διάρκεια μικτής καλλιέργειας (140 mM γαλακτικού οξέος) στους 45°C.

4.6.1.2. Παραγωγή γεύσης

Μεταξύ των καλλιεργειών γιαουρτιού, ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* παράγει σημαντικά υψηλότερες ποσότητες πτητικών οξέων (34,5 έναντι 9,0 mg 0,01 N NaOH/50 g πήγματος) από τον *S. thermophilus* (Dutta et al., 1973). Ο Dutta et al. (1971) σημείωσε αύξηση της έκτασης της παραγωγής του πτητικού οξέος με αυξανόμενες περιόδους επώασης από 24 ώρες (3,34 και 0,82 meq/kg, αντίστοιχα) σε 77 ώρες (8,26 και 0,88 meq/kg, αντίστοιχα). Μετά από 12 ώρες ανάπτυξης της καλλιέργειας, η περιεκτικότητα της ακεταλδεΐδης έφθασε μια

μέγιστη τιμή 28 ppm για μεικτές καλλιέργειες γιαουρτιού και μόνο σε 8,0 και 15,5 ppm, αντίστοιχα για τους *S. thermophilus* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, όταν αναπτύχθηκαν μόνοι (Singh et al., 1982). Ο Xanthopoulos et al., (2001) σημείωσε την παραγωγή ακετοΐνης από τον *S. thermophilus*, ενώ το διακετύλιο δεν ανιχνεύθηκε σε καμία από τις καλλιέργειες γιαουρτιού. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του γιαουρτιού έχει αναφερθεί μία μείωση των συγκεντρώσεων της ακεταλδεΐδης (Hruskar et al., 1995) αλλά και μια αύξηση στο διακετύλιο (Bozanic et al., 2003) και την ακετοΐνη (Hruskar et al., 1995). Η περιεκτικότητα σε ακεταλδεΐδη απλού γιαουρτιού αναφέρθηκε ότι αυξάνεται έως και για 6 ημέρες αποθήκευσης (Mehanna and Hefnawy, 1990), αλλά περαιτέρω αποθήκευση για 14 ημέρες έδειξε μία πτωτική τάση (Estevez et al., 1988).

Ο Ostlie et al. (2003) παρατήρησε ότι όλες οι προβιοτικές καλλιέργειες (*L. acidophilus* La5, *L. acidophilus* 1748, *L. rhamnosus* GG, *L. reuterii* SD 2112 και *B. animalis* BB12) δεν είναι ικανές να μεταβολίσουν το κιτρικό άλας και να παράγουν αρωματικές ενώσεις (mg/kg), όπως διακετύλιο (0,2-0,8), ακετοΐνη (6,5-10) και ακεταλδεΐδη (9,4 έως 12,6). Ο Bryan (1994) πρότεινε έναν αρχικό συνδυασμό αποτελούμενο από *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. και *S. thermophilus* για ήπια γεύση και μία πρόσθετη καλλιέργεια του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* για δημιουργία ισχυρότερης γεύσης. Ο Kwak et al. (1996) πρότεινε μία μικτή καλλιέργεια με *L. acidophilus*, *B. bifidum* και *S. thermophilus* για 5 h στους 40°C για να ληφθεί γιαούρτι με καλή γεύση. Η πτητική οξύτητα και η παραγωγή διακετυλίου στο γιαούρτι ενισχύθηκαν με την προσθήκη του *Leuconostoc cremoris* (Prasad and Srinivas, 1987) ή του *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* (Sarkar and Misra, 2001).

Συμπερίληψη των *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* προκάλεσε ενίσχυση στην πτητική οξύτητα (0.8 έναντι 1.10 mL 0.1N NaOH/50 g πήγματος) και συνδυασμό περιεκτικότητας διακετυλίου και ακετοΐνης (8,0 έναντι 16,0 ppm) στο γιαούρτι (Sarkar and Misra, 1998). Ο Adhikari et al. (2002) σημείωσε ότι η εισαγωγή των *Bifidobacterium* spp. στο γιαούρτι προκαλεί σύνθεση ορισμένων οργανικών οξέων όπως οξικό και προπιονικό, ενώ το κιτρικό οξύ παρέμεινε σταθερό κατά την αποθήκευση. Ο Yamamah et al. (2005) κατέγραψε αύξηση της περιεκτικότητας σε ακεταλδεΐδη του γιαουρτιού με την προσθήκη του *B. bifidum* (0,135 έως 0,150 MI/mol/mL), ωστόσο πρόσθετη συμπερίληψη του *L. acidophilus* οδήγησε σε χαμηλότερες τιμές (0,105 MI/mol/mL). Ο Baranowska (2006) πρότεινε την ενίσχυση του γάλακτος με θρεονίνη (1-3 g/L) για αύξηση της

παραγωγής της ακεταλδεΐδης στο γιαούρτι που περιέχει *Bifidobacterium* spp. ή/και *L. acidophilus*.

4.6.2. Επίδραση των προβιοτικών καλλιεργειών στα διαιτητικά χαρακτηριστικά

4.6.2.1. Πρωτεολυτική δράση

Οι πρωτεΐνες γάλακτος είναι γνωστές ως κύρια πηγή βιοδραστικών πεπτιδίων, τα οποία είναι κρυπτογραφημένα εντός της αλληλουχίας των αμινοξέων των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών και η πρωτεόλυση έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωσή τους και την ενεργοποίησή τους (Hayes et al., 2007a,b). Μεταξύ των καλλιεργειών γιαουρτιού, ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* φαίνεται να είναι πιο πρωτεολυτικός (820 μ τυροσίνη/mL) από τον *S. thermophilus* (240μ τυροσίνης/mL) και η συνδυασμένη εφαρμογή τους έχει πρωτεολυτική δράση 660μ τυροσίνης/mL (Patel et al., 1983). Ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* επεξεργάζεται περίπου το 50% των συνολικών αμινοξέων κατά την πρώτη ώρα ανάπτυξης και μέχρι το τέλος της πήξης του γάλακτος φτάνει στο 70%, ενώ ≤70% από αυτό αφομοιώνεται από τον *S. thermophilus* (Beshkova et al., 1998). Η επεξεργασία των αμινοξέων όπως λευκίνη, λυσίνη, κυστίνη, ασπαραγινικό οξύ, ισολευκίνη, τυροσίνη, γλουταμινικό οξύ, μεθειονίνη (Pette and Lolkema, 1950a,b), γλυκίνη και ισταδίνη (Bautista et al., 1966) από τον *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* λειτούργησαν διεγερτικά για την ανάπτυξη του *S. thermophilus*. Από την άλλη μεριά, η επεξεργασία του μυρμηκικού οξέος, του πυροσταφυλικού οξέος (Higashio et al., 1977, 1978) και του διοξειδίου του άνθρακα (Driessen et al., 1982) από τον *S. thermophilus* αποδείχθηκαν διεγερτικά για τον *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Οι Srinivas et al. (1997) ανέφεραν υψηλότερη αύξηση στην πρωτεολυτική δράση των καλλιεργειών γιαουρτιού λόγω συνδυαστικής εφαρμογής του *L. acidophilus* και του *B. bifidum* (0,49 mg τυροσίνη/mL) σε σύγκριση με τη συμπερίληψη είτε του *L. acidophilus* (0,29 mg τυροσίνης/mL) είτε του *B. bifidum* (0,43 mg τυροσίνης/mL). Οι Sarkar και Misra (1998) ανέφεραν μια βελτίωση στη πρωτεολυτική δραστηριότητα της καλλιέργειας γιαουρτιού κατά τη διάρκεια της συν-καλλιέργειας με *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*, σημειώνοντας μεγαλύτερη επίδραση στο τυποποιημένο γάλα (185 έναντι 195μ τυροσίνης/mL) σε σχέση με το αποβουτυρωμένο γάλα (130 έναντι 155 μ τυροσίνης/mL).

Η δοκιμή στη διατροφή ζώων (δέκα ημέρες) αποκάλυψε υψηλότερα οφέλη βάρους (20 έναντι 31 g), απόδοσης τροφής (0,066 έναντι 0,074), λόγου πρωτεΐνης (0,006 έναντι 4,22) και πρωτεϊνικής αποτελεσματικότητας (0,004 έναντι 3,16) σε αρουραίους που καταλάωναν διαιτητικό γιαούρτι που περιείχε *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* από εκείνους που τρέφονταν με ζωοτροφές (Sarkar and Misra, 2002). Ο Chianese et al. (2003) σημείωσε υψηλότερες ποσότητες μικρότερου μεγέθους διαλυτών πεπτιδίων σε γιαούρτι που παρασκευάζεται σε συνδυασμό με *Bifidobacterium* spp. και *L. acidophilus*. Η αυξημένη διατροφική ποιότητα της πρωτεΐνης θα μπορούσε να αποδοθεί στη βελτιωμένη βιοδιαθεσιμότητα της πρωτεΐνης στα ζυμώμενα γαλακτοκομικά προϊόντα (Hargrove and Alford, 1978), στην επεξεργασία μερικών πεπτιδίων που προκύπτουν από πρωτεόλυση πρωτεϊνών του γάλακτος (Goulet et al., 1989) και στο σχηματισμό λεπτότερου πηγματος (Renner, 1986).

4.6.2.2. Σύνθεση βιταμινών

Μεγαλύτερη ενίσχυση της περιεκτικότητας σε φολικό οξύ από καλλιέργειες γιαουρτιού (12-198 έναντι 3-7%) παρατηρήθηκαν λόγω παρατεταμένης επώασης (18 έναντι 6h) (Lin and Young, 2000), και το φαινόμενο μπορεί να αποδοθεί στη σύνθεσή του μετά από 3-5h επώασης με *S. thermophilus* (Friend et al., 1983). Ο Kneifel et al. (1989) σημείωσε την παραγωγή μικρότερης περιεκτικότητας σε φολικό οξύ αλλά αυξημένες συγκεντρώσεις θειαμίνης και νικοτινικού οξέος (20%) λόγω της υιοθέτησης μακροχρόνιας επώασης (30°C/14-16h) αντί για βραχυχρόνια επώαση (42°C/3-4h). Ο Reddy et al. (1976) κατέγραψε μείωση των περιεκτικότητων του φολικού οξέος (28,6%) και της βιταμίνης B₁₂ (59,5%) και μια αμελητέα αλλαγή στη βιοτίνη και στο παντοθενικό οξύ κατά τη διάρκεια 16 ημερών αποθήκευσης του γιαουρτιού στους 5°C. Οι Lin and Young (2000) ανέφεραν υψηλότερο βαθμό απώλειας φολικού οξέος λόγω του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (39%) από τον *S. thermophilus* (12%) μετά από τρεις εβδομάδες αποθήκευσης στους 4°C. Υπάρχουν περιορισμένες προσπάθειες για την αξιολόγηση της επίδρασης της ενσωμάτωσης των προβιοτικών καλλιεργειών σχετικά με την περιεκτικότητα των βιταμινών στο γιαούρτι. Μια ενίσχυση στο φολικό οξύ στο περιεχόμενο γιαουρτιού κατά 43% έχει καταγραφεί λόγω της συμπερίληψης του *Propionibacterium jensenii* (Wachol-Drewiek and Roczniak, 1982) ή εξαπλάσια λόγω της ενσωμάτωσης του *Bifidobacterium animalis* (Crittender et al., 2003).

4.6.2.3. Παραγωγή L(+) γαλακτικού οξέος

Το ζυμώμενο γάλα περιέχει L(+) και D(-) γαλακτικό οξύ και αν και τα δύο ισομερή βελτιώνουν την πεπτικότητα της καζεΐνης στο έντερο, το L(+) γαλακτικό οξύ έχει φυσιολογική σημασία γιατί χρησιμοποιείται από το ανθρώπινο σώμα ενώ το D(-) γαλακτικό οξύ δεν έχει φυσιολογική σημασία στο μεταβολισμό των κυττάρων (Sarkar and Misra, 2006). Μεταξύ των καλλιεργειών γιαουρτιού, ο *S. thermophilus* παράγει L(+) γαλακτικό οξύ ενώ το D(-) γαλακτικό οξύ χρησιμοποιείται από τον *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Bizzozero and Sprocati, 2001). Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, ο σχηματισμός του L(+) γαλακτικού οξέος σταματά μετά από 3-5h μέχρι pH 4.6-4.3, ακολουθούμενος από αυξημένη απελευθέρωση D(-) γαλακτικού οξέος μέχρι pH 3.7-3.8. Ο Anik (1996) ανέφερε το L(+) γαλακτικό οξύ ως κύρια μορφή γαλακτικού οξέος, συμβάλλοντας στο 72% του συνολικού γαλακτικού οξέος που παράγεται κατά την επώαση των καλλιεργειών γιαουρτιού στο γάλα. Η επικράτηση του L(+) γαλακτικού οξέος (0,46-7,75g/g) από το D(-) γαλακτικό οξύ (0-0,84g/g) στο γιαούρτι (Bizzozero and Sprocati, 2001) μπορεί να οφείλεται στη μεγαλύτερη βιωσιμότητα του *S. thermophilus* από τον *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* κατά την αποθήκευση (Bozanic et al., 1998). Οι *L. acidophilus* και *B. bifidum* παρήγαγαν κυρίως L(+) γαλακτικό οξύ και σημειώθηκε επίσης μια αύξηση της περιεκτικότητάς τους (155 σε 165mg/mL) με την προσθήκη του *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* ή του *B. bifidum* στις καλλιέργειες του γιαουρτιού (Sarkar and Misra, 1998). Η συγκέντρωση του D(-) γαλακτικού οξέος στο γιαούρτι θα μπορούσε να μειωθεί είτε αυξάνοντας το σχετικό επίπεδο του *S. thermophilus* και την εισαγωγή του *L. casei* subsp. *casei* (θα ήταν πιο επωφελής από τα Bifidobacteria) είτε εισαγωγής του *L. acidophilus* λόγω της υψηλότερης ικανότητας του *S. thermophilus* να μειώσει το D(-) γαλακτικό οξύ (Garmiene et al., 2005).

4.6.3. Επίδραση των προβιοτικών καλλιεργειών στα χαρακτηριστικά προστασίας

4.6.3.1. β-γαλακτοσιδάσης

Μεταξύ των καλλιεργειών γιαουρτιού, ο *S. thermophilus* έχει υψηλότερη δραστικότητα της β-γαλακτοσιδάσης από ότι ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Lee, 1992) και η δραστικότητα ενισχύεται με μεικτή καλλιέργεια έναντι της καθαρής καλλιέργειας (Amoroso and Manca De Nadra, 1991). Ο Galvao et al. (1995) κατέγραψε μια πτωτική τάση στην

δραστικότητα της β-γαλακτοσιδάσης κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του γιαουρτιού. Πειράματα στη διατροφή αποκάλυψαν ότι η λακτόζη στο γιαούρτι απορροφάται καλύτερα από άτομα με έλλειψη λακτάσης εξαιτίας της παρουσίας αυτόχθονων μικροβίων β-γαλακτοσιδάσης (Cotz et al., 1994) ή της μείωσης της περιεκτικότητας σε λακτόζη κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (McDonough et al., 1987). Υψηλότερο επίπεδο δραστικότητας της β-γαλακτοσιδάσης σε γιαούρτι με *Bifidus* (Beena and Prasad, 1999) από το απλό γιαούρτι (Galvaio et al., 1995) λόγω των *Bifidobacterium* spp. Ωστόσο, ο Vese et al. (1996) κατέγραψε μείωση της δραστηριότητας της λακτάσης του εμπορικού γιαουρτιού λόγω συνδυασμένης ένταξης του *L. acidophilus* και των *Bifidobacteria*. Προσθήκη των *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* κατά την παρασκευή γιαουρτιού προκάλεσε αύξηση της δραστικότητας της β-γαλακτοσιδάσης κατά τη διάρκεια 7 ημερών στους 8±1°C (Sarkar and Misra, 1998). Οι προβιοτικές καλλιέργειες είναι λιγότερο αποτελεσματικές από τις καλλιέργειες γιαουρτιού για την προώθηση της πέψης της λακτόζης στο λεπτό έντερο (De Vrese et al., 2001) καθώς προβιοτικά όπως *Bifidobacteria* spp. και *L. acidophilus* κατέχουν χαμηλότερη δραστικότητα λακτάσης και είναι περισσότερο ανθεκτικές στα χολικά άλατα (Shah et al., 1992). Πρόσφατη έρευνα αποκάλυψε ότι η λήψη του γιαουρτιού που περιείχε *B. animalis* από άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη, προκάλεσε σημαντική αύξηση στον πληθυσμό των *Bifidobacteria* και εξάλειψε τη δυσανεξία στη λακτόζη (Zhong et al., 2006).

4.6.3.2. Αντιβακτηριακή δραστηριότητα

Οι Mel'nikova and Koroleva (1975) ανέφεραν ότι η ανασταλτική δράση του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* είναι ισχυρότερη από αυτή του *S. thermophilus*. Οι καλλιέργειες γιαουρτιού έδειξαν ανταγωνισμό κατά των *Yersenia enterocolitica* (Todorovic and Salatic, 1990), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (Noremark et al., 2002), *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* (Sarkar and Misra, 2001), *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis* (Pazakova et al., 2001) και *Listeria monocytogenes* (Massa et al., 1999). Οι Maity and Misra (2001) σημείωσαν μια βελτίωση στην αντιβακτηριακή δραστηριότητα των καλλιεργειών του γιαουρτιού έναντι των *E. coli* (7.5 έναντι 10.0), *S. aureus* (8.0 έναντι 10.5) και *Shigella dysenteriae* (8.0 έναντι 11,0) με την προσθήκη του *L. acidophilus*. Μελέτες αποθήκευσης έδειξαν ότι το γιαούρτι που περιέχει *L. casei* και *L. acidophilus* ήταν περισσότερο ανασταλτικό για τον *S. aureus* (Salvatierra et al., 2004) και *L. monocytogenes* (Barrantes et al., 2004) από το απλό γιαούρτι. Σημαντική μείωση των παθογόνων σημειώθηκε σε κόπρανα αρουραίων

που λάμβαναν τροφή που περιείχε γιαούρτι με ενσωματωμένο *B. bifidum* σε αντίθεση με εκείνους που τρέφονταν με γιαούρτι που δεν περιείχε *B. bifidum* (Christopher et al., 2006). Η προσθήκη *Bifidobacterium* spp. (Hussein and Kabary, 1999), *L. acidophilus* (Kasimoglu and Akgun, 2004), *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* (Sarkar and Misra, 1998), *Propionibacterium acidipropionici* (Warmi Ska-Radyko et al., 2003), *L. acidophilus*, *B. bifidum*, *L. reuterii* και *L. rhamnosus* (Sadek et al., 2000), *B. bifidum* και *L. acidophilus* (El-Rahman, 2000) στο γιαούρτι προτάθηκαν για ενίσχυση της αντιβακτηριδιακής του δράσης.

4.6.3.3. Βιωσιμότητα στο γιαούρτι

Το φρέσκο παρασκευασμένο γιαούρτι περιέχει lactobacilli και στρεπτόκοκκους από $5,5 \times 10^7$ έως $6,5 \times 10^8$ cfu/mL και $3,5 \times 10^7$ έως $1,2 \times 10^9$ cfu/mL, αντίστοιχα (Kneifel et al., 1993). Ο βιώσιμος πληθυσμός των καλλιεργειών γιαουρτιού αυξάνεται μέχρι την τρίτη ημέρα αποθήκευσης, μειώνεται στη συνέχεια και μέχρι την ένατη ημέρα οι στρεπτόκοκκοι παραμένουν περίπου 5% υψηλότεροι από τα βιώσιμα κύτταρα των lactobacilli (Bozanic et al., 1998). Η βιωσιμότητα των προβιοτικών στο γιαούρτι ποικίλει ανάλογα με το pH του μέσου (Vinderola et al., 2002) καθώς και ανάλογα με τα στελέχη της καλλιέργειας που χρησιμοποιούνται (Gilliland et al., 2002). Με προσθήκη στο βιώσιμο πληθυσμό των *Bifidobacteria* και *L. acidophilus* (McComas and Gilliland, 2003) δεν τεκμηριώθηκε καμία σημαντική μείωση των μετρήσεων τους στο γιαούρτι (Akshat et al., 2004). Το *B. bifidum* στο γιαούρτι προκάλεσε αύξηση του βιώσιμου πληθυσμού των *S. thermophilus* (8,37 σε 8,42 log cfu/mL) και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (8,17 σε 8,28 log cfu/mL) και ο *B. bifidum* ήταν 8,55 log cfu/mL. Περαιτέρω προσθήκη του *L. acidophilus* είχε ως αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση του βιώσιμου πληθυσμού των *S. thermophilus* (8,47 log cfu/mL), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (8,30 log cfu / mL) και ο *L. acidophilus* μετρήθηκε 8,42 log cfu/mL, ωστόσο ο αριθμός του *B. bifidum* μειώθηκε στα 8,52 log cfu/mL (Yamamah et al., 2005). Ο Guerin-Danan et al. (1998) παρατήρησε την αύξηση της βιωσιμότητας των πληθυσμών των *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (3×10^6 σε $3,9 \times 10^6$ cfu/g) και *S. thermophilus* ($1,7 \times 10^9$ σε $1,8 \times 10^9$ cfu/g) λόγω της προσθήκης του *L. casei* ($9,1 \times 10^7$ cfu/g) στο γιαούρτι. Ο Shakeri et al. (2006) σημείωσε μείωση του βιώσιμου πληθυσμού των *B. lactis*, *L. acidophilus* και *S. thermophilus* αλλά μια αύξηση στις μετρήσεις των *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* κατά τη διάρκεια αποθήκευσης γιαουρτιού που περιέχει γλυκό αποβουτυρωμένο γάλα. Ο Rogelj et al. (1998) κατέγραψε την επιβίωση των *S. thermophilus*, *L. acidophilus* και *B. bifidum*, αντίστοιχα σε

επίπεδο $>10^8$, $>10^6$ και $>10^6$ κατά την αποθήκευση γιαουρτιού στους $7\pm 1^\circ\text{C}$ για τέσσερις εβδομάδες. Για την εμφάνιση θεραπευτικών επιδράσεων μέχρι και 21 ημέρες στους 5°C , η αρχική συγκέντρωση των καλλιεργειών γιαουρτιού πρέπει να είναι σε επίπεδο $10^8 - 10^9$ κύτταρα/mL στο γάλα (Payne et al., 1998) καθώς οι συνιστώμενες ημερήσιες θεραπευτικές δόσεις είναι τουλάχιστον 10^8 cfu/mL (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001). Για καλύτερη επιβίωση του *L. acidophilus* και των *Bifidobacteria* spp. κατά την παρασκευή και αποθήκευση του γιαουρτιού, έχουν προταθεί ορισμένες προσεγγίσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν την ενσωμάτωση ορισμένων συστατικών σε μίγμα γιαουρτιού όπως το συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος (Reddy et al., 2005), οι ολιγοσακχαρίτες της ραφινόζης (Martinez-Villaluenga et al., 2006), η ινουλίνη (Varga et al., 2006), η κυστεΐνη (Guler-Akin and Akin, 2007) ή ο χειρισμός των τεχνολογικών παραμέτρων όπως η μείωση της θερμοκρασίας επώασης στους 37°C (Costello, 1993), ο τερματισμός της ζύμωσης σε $\text{pH}>5$ (Varnam Sutherland, 1994), η διατήρηση της θερμοκρασίας αποθήκευσης $<3-4^\circ\text{C}$ (Sakai et al., 1987), η υποβολή του γιαουρτιού σε υδροστατική πίεση στα 200-300 Μρα/10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (Tanaka and Hatanaka, 1992) ή θερμικό σοκ στους $58^\circ\text{C}/5$ min για να προληφθεί η μεταοξίνιση (Marshall, 1992).

4.6.3.4. Βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια της εντερικής διέλευσης

Τα in-vitro πειράματα αποκάλυψαν ότι η έκταση της επιβίωσης των LAB ή των προβιοτικών καλλιεργειών στην ανώτερη γαστρεντερική οδό εξαρτάται από διάφορους παράγοντες και πρέπει να προσαρμόζονται στο εντερικό περιβάλλον για την παρατεταμένη επιβίωσή τους (Pedrosa et al., 1995). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιωσιμότητα είναι το γαστρικό pH, τα πεπτικά ένζυμα (Conway et al., 1987), η οξύτητα του στομάχου, η διάρκεια έκθεσης σε όξινα και χολικά άλατα, η δραστηριότητα της υδρολάσης του χολικού άλατος και οι ιδιότητες των προβιοτικών καλλιεργειών (Noh and Gilliland, 1993; Ibrahim and Bezkoronainy, 1993; Gopal et al., 1996; Tannock et al., 1997). Παρουσία χολικών αλάτων οι καλλιέργειες γιαουρτιών και ο *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* απέτυχαν να αναπτυχθούν (Sarkar and Misra, 1998) αλλά ο *B. bifidum* και ο *L. acidophilus* (Brennan et al., 1986, Sarkar and Misra, 2006) επιβίωσαν. Μεταξύ των διαφόρων στελεχών *Bifidobacteria*, ο *B. infantis* εμφάνισε την υψηλότερη αντίσταση στα χολικά άλατα, ακολουθούμενος από τα *B. bifidum*, *B. breve* και *B. longum* (Ibrahim and Bezkoronainy, 1993). Η έκθεση διαφόρων στελεχών *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* σε χολικό άλας (0-1,5% για 3 ώρες) αποκάλυψε μεγαλύτερη

ανοχή των *B. longum*, *B. infantis*, *B. pseudolongum* και *L. acidophilus* (Lankaruthra and Shah, 1995). Ο Marteau et al. (1997) χρησιμοποιώντας ένα τεχνητό μοντέλο για την ανθρώπινη γαστρεντερική οδό, δήλωσε ότι τα *B. bifidum* και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ήταν πιο ανθεκτικά στα οξέα του στομάχου (περίοδος ημιζωής 140 λεπτά) από τα *S. thermophilus* και *L. acidophilus* (περίοδος ημιζωής 40 λεπτά). Ο Collado et al. (2005) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η αποτελεσματικότητα των στελεχών *Bifidobacterium* τόσο ως εκκινητές γαλακτοπαραγωγής όσο και ως προβιοτικοί μικροοργανισμοί καθορίζεται από την προσαρμογή και την επιβίωσή τους σε χαμηλό pH. Η δυνατότητα του γιαουρτιού να επιβιώσει κατά τη γαστρεντερική διέλευση επιβεβαιώθηκε από την παρουσία των *S. thermophilus* ($6,3 \times 10^4$ cfu/g) και *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ($7,2 \times 10^4$ cfu/g) στα κόπρανα (Mater et al., 2005). Ο Elli et al. (2006) επιβεβαίωσε επίσης ότι οι καλλιέργειες γιαουρτιού, ιδιαίτερα ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* θα μπορούσε να ανακτηθεί από τα κόπρανα υγιών ατόμων μετά από μερικές ημέρες μετά την κατανάλωση του γιαουρτιού. Η ανίχνευση *Lactobacillus* F-16 και *B. animalis* subsp. *lactis* Bb 12 σε δείγματα κοπράνων (100% και 79% αντίστοιχα) μετά την κατανάλωση του γιαουρτιού που περιέχει αυτούς τους οργανισμούς υποδηλώνει την βιωσιμότητά τους κατά τη διάρκεια διέλευση τους από το έντερο (Matto et al., 2006).

4.6.3.5. Εντερικός αποικισμός

Τόσο η ειδική προσκόλληση όσο και ο πολλαπλασιασμός στην επιφάνεια της μεμβράνης των επιθηλιακών κυττάρων του γαστρεντερικού συστήματος συμμετέχουν σε ένα μηχανισμό για τη εγκατάσταση των προβιοτικών οργανισμών στην εντερική οδό. Ο Schillinger et al. (2005) σημείωσε την ικανότητα του *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. paracasei* και *L. rhamnosus* να προσκολλώνται σε εκκρινόμενα βλεννικά HT 29MTX κύτταρα και στο ανθρώπινο κολλαγόνο. Η ενσωμάτωση του *B. bifidum* στο γιαούρτι αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική για τη βελτίωση του εντερικού περιβάλλοντος από το απλό γιαούρτι (Ogato et al., 1999) και προκαλεί σημαντική ένταξη στον πληθυσμό των *Bifidobacteria* στο έντερο (Chen et al., 1999) και στα κόπρανα (Yaeshima et al., 1997, Katasuno et al., 2003). Έχει αναφερθεί ότι η κατανάλωση γιαουρτιού που περιέχει *L. acidophilus* ή *Lactobacillus* GG δεν προκαλεί σημαντική αλλαγή στην εντερική χλωρίδα (Wiest et al., 2003). Ωστόσο, έχει αναφερθεί χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης της διάρροιας (13 έναντι 23%) λόγω της κατανάλωσης του γιαουρτιού που περιέχει τον *L. acidophilus* (Donabedian, 2006). Οι Sarkar

and Misra (2002) ανέφεραν επίσης μία αύξηση των βιώσιμων πληθυσμών των Bifidobacteria (0 σε $28,72 \times 10^6$ cfu/g κοπράνων) και των Lactobacilli ($1,52 \times 10^6$ σε $14,91 \times 10^6$ cfu/g κοπράνων) και μείωση των κολοβακτηριδίων ($1,58 \times 10^7$ σε $0,48 \times 10^7$ cfu/g κοπράνων) κατά τη διάρκεια της διατροφής αρουραίων με γιαούρτι που περιείχε *B. bifidum* και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*.

4.6.3.6. Ανοσολογικές ιδιότητες

Το γιαούρτι προσδίδει μία δύναμη ασυλίας έναντι των ασθενειών (McBean, 1990). Η διεγερτική δραστηριότητα του γιαουρτιού ως προς την άμυνα του ανοσοποιητικού μπορεί να ενισχυθεί με την εισαγωγή *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuterii* και *B. longum* (Merlo, 1999) ή ως προς τη διάρροια με τη συμπερίληψη του *L. casei* (Pedone et al., 1999). Σύμφωνα με επιστημονικά στοιχεία, τα προβιοτικά μπορούν να παρουσιάζουν οφέλη για την υγεία, εμποδίζοντας τον αποικισμό, την κυτταρική προσκόλληση και την εισβολή από παθογόνους οργανισμούς μέσω της τροποποίησης της ανοσοποιητικής απόκρισης του ξενιστή (Doron and Gorbach, 2006) ή με ρύθμιση της εντερικής χλωρίδας ή με διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος (Belkahlia et al., 2005). Ο Tejada-Simon et al. (1999) ανέφερε μία ενίσχυση της απόκρισης του βλεννογόνου και μία συστηματική απόκριση της ανοσοσφαιρίνης στο ανοσογόνο της τοξίνης της χολέρας λόγω της συμπερίληψης του *L. acidophilus* και των Bifidobacteria spp. στο γιαούρτι.

4.6.3.7. Αντι-καρκινικές ιδιότητες

Το γιαούρτι είναι γνωστό ότι διαθέτει αντι-καρκινογόνες δραστηριότητες. Μεταξύ των καλλιιεργειών γιαουρτιού, ο *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* έχει αναφερθεί ότι είναι πιο αποτελεσματικός από τον *S. thermophilus* ως προς την αναστολή όγκων (Shahani and Chandan, 1979) και η κατανάλωση γιαουρτιού προκάλεσε μείωση του κινδύνου καρκίνου του μαστού και καρκίνου του παγκρέατος (Strnad and Babus, 1997). Προβιοτικές καλλιέργειες όπως *L. acidophilus* (Ogawa et al., 2001), *L. plantarum* (Kishino et al., 2002), Bifidobacteria spp. (Roseberg-Cody et al., 2004) και *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* (Jiang et al., 1998) μπορούν να μετατρέψουν το λινελαϊκό οξύ σε συζευγμένο λινολεϊκό οξύ, το οποίο μπορεί να είναι αποτελεσματικό στην πρόληψη του καρκίνου (Ip et al., 1994). Ο Xu et al. (2005) σημείωσε αυξημένη παραγωγή συζευγμένου λινολεϊκού οξέος με καλλιέργειες γιαουρτιού

σε συνδυασμό με *L. rhamnosus* ή *propionibacteria*. Οι Matsumoto and Benno (2004) ανέφεραν σημαντική μείωση της μεταλλαξιγένεσης (79,2 έναντι 47,9%) στα υποκείμενα-άνθρωποι λόγω κατανάλωσης γιαουρτιού συμπληρωμένου με *B. lactis* LKM512.

4.6.3.8. Υποχοληστερολαιμικές ιδιότητες

Έρευνα έδειξε ότι ορισμένα στελέχη του *S. thermophilus* και του *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* είναι σε θέση να αφομοιώσουν σημαντική ποσότητα χοληστερόλης και να μειώσουν την ολική χοληστερόλη, την υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη (HDLP) και την χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών χοληστερόλη (LDLP) (Dilmi-Bourgas, 2006). Η συμπερίληψη του *B. bifidum* στο γιαούρτι μειώσε κατά 17-31% το επίπεδο χοληστερόλης και ο οργανισμός ήταν πιο αποτελεσματικός στην απομάκρυνση της εστεροποιημένης από την ελεύθερη χοληστερόλη (Ghaleb et al., 1998). Ο Christopher et al. (2006) δεν παρατήρησε σημαντική μείωση στον ορό χοληστερόλης μετά τη σίτιση των αρουραίων με τροφή με απλό γιαούρτι ή προβιοτικό γιαούρτι που περιείχε *B. bifidum*. Ωστόσο, η ενσωμάτωση του *L. acidophilus* στο γιαούρτι προκάλεσε μείωση του επιπέδου της χοληστερόλης στον ορό από 266,46 σε 124,23 mg/dL. Επίσης δοκιμές στη διατροφή των ανθρώπων έδειξαν σημαντική μείωση στην ολική χοληστερόλη στον ορό (Van Poppel and Schaafsma, 1996, Xiao et al., 2003, Jaafari et al., 2005), στην LDLP και στην αναλογία, LDLP:HDLP (Van Poppel και Schaafsma, 1996), στα ηπατικά λιπίδια, τριγλυκερίδια και μια αύξηση των LDLP (Chiang et al., 2005) και HDLP (Kießling et al., 2002, Fabian και Elmadfa, 2006) λόγω της συμπερίληψης διαφόρων προβιοτικών καλλιεργειών όπως *L. acidophilus*, *B. longum*, *L. plantarum* ή/και *B. lactis* σε γιαούρτι.

4.7. Οφέλη υγείας του γιαουρτιού

Τα οφέλη υγείας από το γιαούρτι περιλαμβάνουν παροχή ανοσοποιητικής υποστήριξης για την καταπολέμηση λοιμώξεων ή καρκίνου, παροχή υγιούς αντικατάστασης με καλά βακτήρια στην εντερική οδό μετά από αντιβιοτική θεραπεία, μείωση της εμφάνισης διάρροιας, βοήθεια στη μείωση της χοληστερόλης και βελτίωση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη (O'Hara and Shanahan, 2007; Sheil et al., 2007). Πολλά οφέλη για την υγεία έχουν συσχετιστεί με την κατανάλωση γιαουρτιού, συμπεριλαμβανομένων:

4.7.1. Δυσανεξία στη λακτόζη

Η λακτόζη είναι ο κύριος υδατάνθρακας που βρίσκεται στο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα και διασπάται από το ένζυμο λακτάση στα απορροφήσιμα συστατικά γλυκόζη και γαλακτόζη, τα οποία στη συνέχεια χρησιμοποιούνται ως καύσιμο από το σώμα. Η δυσανεξία στη λακτόζη ή αλλιώς μη ανοχή στη λακτόζη εμφανίζεται όταν δεν υπάρχουν επαρκείς ποσότητες του ενζύμου λακτάσης στο έντερο για την πέψη της λακτόζης (Kolars et al., 1984). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, σε μερικά άτομα, η άπεπτη λακτόζη περνώντας μέσα στο παχύ έντερο να ζυμωθεί από τα βακτήρια προκαλώντας δυσμενή γαστρεντερικά συμπτώματα, όπως φούσκωμα, διάρροια και κοιλιακό άλγος (McFarland, 2006; Sazawal et al., 2006). Το πρόβλημα αυτό είναι γνωστό ως δυσανεξία στη λακτόζη και ορίζεται ως "η εμφάνιση συμπτωμάτων σε άτομα με κλινικά διαγνωσμένη δυσλειτουργία λακτόζης (δυσανεξία στη λακτόζη) όταν καταναλώσουν μια επαρκή ποσότητα λακτόζης". Αν και η περιεκτικότητα σε λακτόζη στο γιαούρτι είναι φυσικώς χαμηλότερη από το γάλα, έρευνα έδειξε ότι η λακτόζη που υπάρχει στο γιαούρτι είναι καλύτερα ανεκτή από άτομα με χαμηλή παραγωγή λακτάσης από ότι ισοδύναμη ποσότητα λακτόζης στο γάλα. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της δραστηριότητας των ζωντανών βακτηρίων στο γιαούρτι ή της πεπτικής δράσης άλλων ενζύμων στη λακτόζη όπως η βακτηριακή β-γαλακτοσιδάση. Ως πιθανή εξήγηση μπορεί επίσης να προταθεί και το αυξημένο ιξώδες του γιαουρτιού συγκρινόμενο με του γάλακτος, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε βραδύτερη εκκένωση από το στομάχι και έτσι μία μακρύτερη διέλευση μέσω της γαστρεντερικής οδού, η οποία με τη σειρά της μπορεί να βελτιώσει την απορρόφηση και να μειώσει την ποσότητα της λακτόζης που εμφανίζεται στο έντερο (De Vrese et al., 2001). Το γιαούρτι είναι αρκετά ανεκτό και αυτό είναι σημαντικό για όσους υποφέρουν από τη δυσανεξία στη λακτόζη, οι οποίοι συχνά αποκλείουν όλες τα γαλακτοκομικά προϊόντα από τη διατροφή, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε φτωχή πρόσληψη ασβεστίου. Μελέτες έχουν υποδείξει (Kolars et al., 1984) ότι ακόμη και σε άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη, η κατανάλωση μικρών ποσοτήτων οποιονδήποτε γαλακτοκομικών τροφίμων, εάν συνδυάζεται με γεύμα, είναι συχνά αρκετά ανεκτό και η τακτική κατανάλωση μπορεί ακόμη και να μειώσει τα συμπτώματα.

4.7.2. Έλεγχος βάρους

Η παχυσαρκία αποτελεί ένα αυξανόμενο πρόβλημα δημόσιας υγείας. Ο φόβος για αύξηση του βάρους αναφέρεται συχνά ως ο λόγος για τη μείωση της κατανάλωσης γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Ωστόσο, σε αντίθεση με την κοινή πεποίθηση, η έρευνα έχει δείξει (Krauss et al., 2006) ότι οι άνθρωποι που καταναλώνουν γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα είναι πιθανό να είναι πιο αδύναμοι από αυτούς που δεν το κάνουν. Επίσης, η κατανάλωση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων ως μέρος μιας διατροφής ελεγχόμενης θερμίδων σχετίζεται με αυξανόμενη απώλεια βάρους, ιδιαίτερα από την περιοχή της κοιλιάς, καθώς το υπερβολικό λίπος γύρω από την περιοχή του κορμού του σώματος συνδέεται με μεγαλύτερους κινδύνους για την υγεία (Krauss et al., 2006). Οι συγκεκριμένοι εμπλεκόμενοι μηχανισμοί είναι ασαφείς, αλλά οι μελέτες (Guyonnet et al., 2007) υποδεικνύουν ότι είναι πιθανό να εμπλέκεται το ασβέστιο που βρίσκεται στο γάλα, στο γιαούρτι και σε άλλες γαλακτοκομικές τροφές.

4.7.3. Υγεία του πεπτικού συστήματος και ανοσία

Ικανοποιητικά επίπεδα των καλών βακτηρίων προάγουν την πεπτική υγεία και ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα δημιουργώντας ένα περιβάλλον όπου τα βλαβερά βακτήρια δεν μπορούν να αναπτυχθούν (Reid et al., 2003).

4.7.4. Καλύτερη απορρόφηση θρεπτικών ουσιών

Τα στελέχη των καλών βακτηρίων που βρίσκονται στο φρέσκο γιαούρτι μπορούν επίσης να βοηθήσουν τον οργανισμό να αφομοιώσει και να απορροφήσει σημαντικά θρεπτικά συστατικά που υπάρχουν στο φαγητό. Αυτό κάνει την κατανάλωση γιαουρτιού πιο ευεργετική από την κατανάλωση γάλακτος. Μόλις καταναλωθούν τα προβιοτικά βακτήρια, αυτά βοηθούν στην προ-πέψη και προκαλούν τη βελτίωση της κατάστασης των θρεπτικών που υπάρχουν στο τρόφιμο για πέψη και απορρόφηση στο σώμα.

4.7.5. Προβιοτικά

Οι προβιοτικοί οργανισμοί είναι «ζωντανοί μικροοργανισμοί οι οποίοι, όταν καταναλώνονται σε επαρκείς ποσότητες, αποφέρουν όφελος για την υγεία σε αυτόν που τις καταναλώνει» (FAO/WHO, 2002). Για να παρατηρηθεί θετική επίδραση στην υγεία από την

κατανάλωσή τους, απαιτείται ένα ελάχιστο επίπεδο ζώντων μικροοργανισμών. Αυτό το επίπεδο, εξαρτάται από τα χρησιμοποιούμενα στελέχη και είναι συνήθως μεταξύ 10^8 και 10^{11} cfu/d (Vanderhoof, 2008). Τα ζυμώμενα γαλακτοκομικά προϊόντα όπως το γιαούρτι έχουν την ικανότητα να υποστηρίζουν τη βιωσιμότητα των προβιοτικών καλλιιεργειών και ως εκ τούτου να παρέχουν ένα κατάλληλο όχημα για τη μεταφορά στο σώμα και έτσι να ενσωματώνονται εύκολα στη διατροφή. Όλο και περισσότερο, τα γιαούρτια παρασκευάζονται με προβιοτικούς μικροοργανισμούς όπως ο *L. acidophilus* με μεταβαλλόμενη βιωσιμότητα σε ένα εύρος διάρκειας ζωής (Lourens-Hattingh and Viljoen, 2001). Τα μη παθογόνα εντερικά βακτήρια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κανονική λειτουργία του εντέρου και βελτιώνουν την αντοχή στις ασθένειες. Ωστόσο, παράγοντες όπως οι αλλαγές στον τρόπο ζωής, η διατροφή, το αυξημένο άγχος και η κατανάλωση αντιβιοτικών φαρμάκων μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγές στην ισορροπία των εντερικών βακτηρίων (Savino et al., 2007).

Οι μειωμένοι αριθμοί ευεργετικών βακτηρίων όπως *Lactobacilli* και *Bifidobacteria* και αυξημένοι αριθμοί παθογόνων βακτηρίων ενδέχεται να προκαλέσουν προβλήματα υγείας και λοιμώξεις και μπορεί να προδιαθέτουν τα άτομα σε ορισμένες απειλητικές για τη ζωή ασθένειες όπως ο καρκίνος του εντέρου και η φλεγμονώδης νόσο του εντέρου (Rasic and Kurmann, 1978). Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα προβιοτικά μπορούν να έχουν θετική επίδραση στην υγεία αποκαθιστώντας την ισορροπία των προαγωγών της υγείας και των παθογόνων βακτηρίων στον γαστρεντερικό σωλήνα (Lidbeck et al., 1992; Ouwehand et al., 1999). Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ευρέως ως προβιοτικά είναι τα γαλακτικά βακτήρια όπως *Lactobacilli* και *Bifidobacteria* τα οποία και τα δύο βρίσκονται φυσικώς στο έντερο. Πολλά οφέλη για την υγεία έχουν συνδεθεί με τη χρήση προβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων των εξής:

4.7.5.1. Διάρροια

Η διάρροια συχνά προκύπτει από διαταραχές της φυσικής ισορροπίας της μικροχλωρίδας του εντέρου μέσω μόλυνσης με στελέχη παθογόνων βακτηρίων. Η θεραπεία της διάρροιας με προβιοτικά είναι παραδοσιακά ένας από τους κύριους τομείς εφαρμογής των προβιοτικών. Στοιχεία τεκμηρίωσης υπάρχουν για τη μείωση της διάρκειας μιας μορφής διάρροιας σε παιδιά που είναι γνωστή ως "διάρροια ροταϊού" από επιλεγμένα προβιοτικά στελέχη (Marteau et al., 2002). Διαφορετικά στελέχη, συμπεριλαμβανομένων των *L. reuteri*

SD2112, *L. rhamnosus* GG, *L. casei* DN-114 001 και *S. cerevisiae* (boulardii) Lyo, που δοκιμάστηκαν σε ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές μείωσαν τη σοβαρότητα και τη διάρκεια της διάρροιας. Πολλές ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές έχουν δημοσιευθεί και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτά τα προβιοτικά είναι ασφαλή και αποτελεσματικά (Ouwehand et al., 1999). Η πρόληψη και η θεραπεία της διάρροιας μετά τη χρήση αντιβιοτικών, ιδιαίτερα στους ηλικιωμένους, έχει επίσης συνδεθεί με ορισμένα προβιοτικά στελέχη π.χ. *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* και *B. longum* (Szajewska et al., 2001). Βέβαια, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες με βελτιωμένο σχεδιασμό για τον προσδιορισμό του πλήρους αποτελέσματος των προβιοτικών για τη θεραπεία της διάρροιας.

4.7.5.2. Ανοσολογικές Επιδράσεις

Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι υπεύθυνο για την προστασία από λοιμώξεις και ασθένειες. Ορισμένες υποομάδες του πληθυσμού μπορεί να έχουν αδύναμη ανοσολογική λειτουργία όπως βρέφη, ηλικιωμένοι, χειρουργημένοι ασθενείς, άτομα που βρίσκονται υπό άγχος και άτομα με HIV, τα οποία έχουν μειωμένη φυσική προστασία από ασθένειες (Van Loo et al., 2005). Τα προβιοτικά έχουν συνδεθεί με τη βελτίωση της ανοσολογικής λειτουργίας σε αυτές τις ομάδες (Hatakka et al., 2001) και παρόλο που απαιτείται περαιτέρω έρευνα, τα αποτελέσματα των μελετών σε ανθρώπους δείχνουν ότι το γιαούρτι που περιέχει στελέχη προβιοτικών βακτηρίων μπορεί να ενισχύσει την ανοσία και να μειώσει τη συχνότητα εμφάνισης καταστάσεων όπως καρκίνος, γαστρεντερικές διαταραχές και συμπτώματα αλλεργίας.

4.7.5.3. Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου

Ο όρος φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (IBD) περιλαμβάνει διαταραχές όπως η νόσος του Crohn, η ελκώδης κολίτιδα και η ληκυθίτιδα (Rembacken et al., 1999). Αυτές οι καταστάσεις είναι συνήθως χρόνιες και περνούν από περιόδους επιδείνωσης ακολουθούμενες από περιόδους ύφεσης καθόλη τη διάρκεια ζωής των πασχόντων. Η αιτία της νόσου είναι ασαφής, αλλά πολλές θεωρίες υποδηλώνουν ότι μπορεί να οφείλεται σε μη φυσιολογικές αποκρίσεις σε ορισμένα βακτήρια στο έντερο. Η τρέχουσα θεραπεία για την IBD περιλαμβάνει την καταστολή ή τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος με στεροειδή φάρμακα για να προκληθεί ύφεση ή με χειρουργική επέμβαση για την

απομάκρυνση του νοσούντος τμήματος του εντέρου. Ωστόσο, και οι δύο θεραπείες έχουν ως αποτέλεσμα πολυάριθμες επιπλοκές για τον ασθενή. Προς το παρόν οι θεραπείες δεν απευθύνονται στη συμβολή της εντερικής μικροχλωρίδας (Kato et al., 2004), η οποία είναι μια περιοχή μελέτης όπου η προβιοτική παρέμβαση μπορεί να αποδειχθεί επωφελής. Θεωρητικά, τα προβιοτικά έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν τις ανοσοφλεγμονώδεις αποκρίσεις που προκαλούνται από τα βακτήρια που μπορεί να είναι υπεύθυνα για τη βλάβη του εντέρου και παρατηρούνται σε αυτές τις συνθήκες. Η θεραπεία με το προβιοτικό *Esherichia coli* Nissle 1917 αναφέρθηκε ότι είναι τόσο αποτελεσματική όσο και οι συνήθεις θεραπείες φαρμάκων διατηρώντας την ύφεση στην ελκώδη κολίτιδα (Kruis et al., 2004).

4.7.5.4. Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου

Το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) είναι μια γαστρεντερική κατάσταση που χαρακτηρίζεται από κοιλιακό άλγος, φούσκωμα, υπερβολικό αέριο, δυσκοιλιότητα και διάρροια (Kim et al., 2003; Nobaek et al., 2000). Ο τύπος και η σοβαρότητα των συμπτωμάτων που παρατηρούνται ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ατόμων και, γενικά, η κατάσταση είναι ελάχιστα κατανοητή (Whorwell et al., 2006). Δεν υπάρχει προς το παρόν δοκιμή (test) για το IBS και, ως εκ τούτου, μπορεί να διαγνωστεί μόνο με τον αποκλεισμό της παρουσίας άλλων γαστρεντερικών ανωμαλιών (Niedzielin et al., 2001). Οι πάσχοντες από IBS ευρέθη ότι συνήθως έχουν ασυνήθιστα εντερικά βακτήρια και αυτό είναι που πιστεύεται ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη της νόσου (O'Mahony et al., 2005).

Για το λόγο αυτό, η χρήση προβιοτικών για την επανόρθωση αυτών των ανωμαλιών έχει προταθεί ως πιθανή θεραπεία. Προς το παρόν, υπάρχουν ελάχιστες μελέτες που αφορούν προβιοτικά και IBS, πιθανώς επειδή οι πάσχοντες από IBS είναι μια πολύ διαφορετική ομάδα και είναι επομένως δύσκολο να μελετηθεί (Kajander et al., 2005).

4.7.5.5. Οργανοληπτικές ιδιότητες του προβιοτικού γιαουρτιού

Το γιαούρτι είναι το πλέον χρησιμοποιούμενο μέσο για την ενσωμάτωση προβιοτικών βακτηρίων στα τρόφιμα και, από την άποψη αυτή, μελέτες έρευνας (Hekmat and Reid, 2006) βελτιστοποίησαν τις οργανοληπτικές του ιδιότητες για να το καταστήσουν ένα εύγευστο προϊόν στους καταναλωτές. Οι Hekmat and Reid (2006) διεξήγαγαν γευσισγνωσία για να συγκρίνουν τις οργανοληπτικές ιδιοτήτων του προβιοτικού και του κανονικού γιαουρτιού με

αξιολόγηση από τους καταναλωτές. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εμφάνιση, η γεύση, η υφή και η συνολική ποιότητα του προβιοτικού γιαουρτιού με 1% λιπαρά ήταν συγκρίσιμα και παρόμοια με το πρότυπο γιαούρτι με 1% λιπαρά. Έτσι, το γιαούρτι που περιέχει τον *L. rhamnosus* και που ενισχύεται με *L. reuteri* έχει οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κατάλληλα για ανθρώπινη κατανάλωση. Το γιαούρτι που περιέχει *L. paracasei* παρουσίασε μια πλούσια, ομαλή και παραδοσιακή γεύση, όχι πολύ όξινη, παρόμοια με την κανονική της μορφή, δείχνοντας καλή αποδοχή μεταξύ των καταναλωτών.

4.8. Ενίσχυση του γιαουρτιού με πρόσθετες ουσίες που προάγουν την υγεία

Σε μια μελέτη, τα γιαούρτια εμπλουτίστηκαν με ίνες που ελήφθησαν από το μη εδώδιμο μέρος των βλαστών των σπαραγγιών με αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό του γιαουρτιού (Sanz et al., 2008). Υποπροϊόντα, πλούσια σε φυτικές ίνες και βιοδραστικές ενώσεις, συνεισφέρουν περίπου το 50% του συνολικού βάρους στη βιομηχανία μεταποίησης σπαραγγιών, η οποία τονίζει το ενδιαφέρον για πιθανή συμβολή στη διατροφή του ανθρώπου. Οι Hekmat and McMahon (1997), διαπίστωσαν ότι τα γευστικά αποτελέσματα των γιαουρτιών που είχαν εμπλουτιστεί με σίδηρο ήταν ελαφρώς υψηλότερα από το γιαούρτι ελέγχου και δεν υπήρξε ανιχνεύσιμη σημαντική διαφορά στην εμφάνιση, στην αίσθηση στο στόμα, στη γεύση ή στη συνολική ποιότητα των εμπλουτισμένων και μη ενισχυμένων γιαουρτιών, όπως παρατηρήθηκε από την ομάδα καταναλωτών.

Το απλό γιαούρτι περιέχει περίπου 120 mg ασβέστιο ανά 100 g (Ouwehand et al., 1999). Η ενίσχυση του γιαουρτιού με το ασβέστιο αναμένεται να είναι σε θέση να αντιμετωπίσει τις απαιτήσεις των ατόμων που κινδυνεύουν από ασθένειες που σχετίζονται με ανεπάρκεια ασβεστίου. Ακόμη και όταν τα άτομα δεν καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες γαλακτοκομικών προϊόντων για να καλύψουν τις ανάγκες τους σε ασβέστιο, η ενίσχυση θα παράσχει την απαιτούμενη ποσότητα ασβεστίου σε 1 ή 2 μερίδες. Η ενίσχυση του γιαουρτιού χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά με γλυκονικό ασβέστιο (Fligner et al., 1988) είναι δυνατή με μικρές φυσικές και χημικές μεταβολές και καμία επίδραση στις οργανοληπτικές ιδιότητες του γιαουρτιού (Ouwehand et al., 1999). Η αυξανόμενη έμφαση στη χρήση φυσικών πρόσθετων τροφίμων στη διατροφή έχει προωθήσει τη χρήση του μελιού, το οποίο κερδίζει ενδιαφέρον ως υποκατάστατο γλυκαντικό (Chick et al., 2001; Ustunol and Gandhi, 2001). Το χαμηλό pH (περίπου 3,9) και η ικανότητα να μειώνουν την οξύτητα των διαλυμάτων το

καθιστούν ένα ελκυστικό πρόσθετο για όξινα προϊόντα όπως το γιαούρτι. Ωστόσο, οι συνδυασμοί μελιού με γιαούρτι είναι συγκριτικά σπάνιο (Roumpan et al., 1996) λόγω των ανασταλτικών επιδράσεων στις καλλιέργειες γαλακτικού εκκινητή (Roumpan et al., 1996; Curda and Plockova, 1995). Μελέτες έχουν δείξει ότι κατά την αποθήκευση στους 4°C, οι *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* στο γιαούρτι δεν επηρεάζονται σημαντικά από την παρουσία μελιού σε 1,0% έως 5,0% (w/v) (Varga, 2006). Τα επίπεδα pH και γαλακτικού οξέος των τελικών προϊόντων βρέθηκαν ανεπηρέαστα από το μέλι, και βελτίωσε σημαντικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος, με περίπου 3,0% (w/v) μέλι, χωρίς να έχει αρνητική επίδραση στα γαλακτικά βακτήρια.

Έχει επίσης δοκιμαστεί ενίσχυση του γιαουρτιού χωρίς λιπαρά με απομονωμένη πρωτεΐνη τυρογάλακτος (WPI) (Isleten and Karagul-Yuceer, 2006) και ενίσχυση του γιαουρτιού με καζεϊνικό νάτριο και βελτιωτικό υψής γιαουρτιού (TI) και παρατηρήθηκε ότι το γιαούρτι με WPI δεν είχε επιθυμητές οργανοληπτικές ιδιότητες.

Εδώ και αρκετές δεκαετίες, τα ιχθυέλαια έλαβαν αυξανόμενο ενδιαφέρον λόγω των πολύτιμων επιπτώσεών τους στην υγεία (Nielsen et al., 2007). Πολλές μελέτες έδειξαν ότι το εικοσαπενταενοϊκό οξύ (EPA) και το εικοσιδυαεξανοϊκό οξύ (DHA) έχουν θετική επίδραση στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, σε ανοσολογικές και οφθαλμικές λειτουργίες (Schmidt et al., 1992; Werkman and Carlson, 1996) και σε νευρολογικές παθήσεις, για παράδειγμα κατάθλιψη και νόσο του Alzheimer (Morris et al., 2003). Η εικόνα των EPA και DHA και η ευρεία κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων όπως το γιαούρτι υποστηρίζουν τη δυνατότητα χρήσης του γιαουρτιού ως όχημα για την αύξηση της κατανάλωσης ιχθυελαίου. Ωστόσο, λόγω της παρουσίας υψηλής περιεκτικότητας σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, τα τρόφιμα με ιχθυέλαιο είναι επιρρεπή σε οξείδωση που μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ανεπιθύμητων ταγγισμένων γεύσεων και μπορεί ακόμη και να προωθήσει τις καρδιαγγειακές παθήσεις (Das, 1993; Jackson and Lee, 1992; Shimoni et al., 2003). Σε άλλη μελέτη (Chee et al., 2005), ένα γαλάκτωμα ελαίου φυκίου προστέθηκε στο μείγμα γιαουρτιού αρωματισμένο με βάση φράουλα, για την παροχή 500 mg ω-3 λιπαρών οξέων ανά 272 g γιαουρτιού. Τα μήλα ανακαρδιοειδών (cashew apples), αποτελούν πλούσια πηγή βιταμίνης C (Akinwale, 2000) και χρησιμοποιήθηκαν ως θρεπτικό πρόσθετο στην παρασκευή γιαουρτιού (Aroyeun, 2004). Το γιαούρτι αυτό συγκρίθηκε με το δείγμα αναφοράς με βάση όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά χωρίς να υπάρξουν σημαντικές διαφορές. Οι Hassan et al. (2010)

παρασκεύασαν ένα γιαούρτι χρησιμοποιώντας διαφορετικές συγκεντρώσεις υδατικού εκχυλίσματος σκόρδου, το οποίο μετά από 15 ημέρες αποθήκευσης, είχε υψηλότερες τιμές υφής και αρώματος από το δείγμα αναφοράς. Ο Foda et al. (2007) προετοίμασε γιαούρτι με γάλα βουβάλου ενισχύοντάς το με κουρκούμη σε διάφορες συγκεντρώσεις και βρήκε μια αύξηση στη σταθερότητα και το ιξώδες του γιαουρτιού καθώς αυξανόταν η συγκέντρωση του κουρκούμη.

5. Πίτουρο ρυζιού

Το πίτουρο ρυζιού έχει πολλές μοναδικές ιδιότητες που καθιστούν την καταλληλότητα του για εξειδικευμένες αγορές όπως η φαρμακευτική βιομηχανία. Ένα τέτοιο χαρακτηριστικό είναι η παρουσία σε σημαντικά επίπεδα ιχνοστοιχείων όπως ορυζανόλη, τοκοτριενόλη και φυτοστερόλες που έχουν μεγάλη φαρμακευτική εφαρμογή. Αυτά χρησιμοποιούνται στην ανάπτυξη προϊόντων υγείας με προστιθέμενη αξία (Anonymous, 2009). Η γ-ορυζανόλη έχει βρεθεί ότι έχει υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση σε σύγκριση με την τοκοφερόλη και περιλαμβάνει εστέρες φερουλικού οξέος από στερόλες και τριτερπενικές αλκοόλες. Οι εστέρες φερουλικού οξέος είναι η καμπεστερόλη, η στιγμαστερόλη και η β-κυτοστερόλη και οι τριτερπενικές αλκοόλες είναι η κυκλοαρτενόλη, η κυκλοαρτανόλη, η 24-μεθυλενοκυκλοαρτανόλη και η κυκλοβρανόλη (Bucci et al., 2002; Piironen et al., 2000). Λόγω της αντιοξειδωτικής της δράσης, αποτελεί τεράστιο ενδιαφέρον για τον κόσμο της έρευνας ως πρόσθετο τρόφιμο. Έχει αναφερθεί ως «αναστολέας οξείδωσης» στη λίστα των «πρόσθετων τροφίμων» (Wells, 1993; Hu et al., 1996; Bucci et al., 2003).

5.1. Αντιοξειδωτική ιδιότητα

Τα αντιοξειδωτικά σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο είναι γνωστό ότι απενεργοποιούν τα φυσικά παραπροϊόντα του οξειδωτικού μεταβολισμού που είναι ευρέως γνωστά ως ελεύθερες ρίζες (Higash-Okai et al., 2004; Graf and Eaton, 1990). Τα δευτερεύοντα συστατικά του πίτουρου ρυζιού, δηλαδή η γ-ορυζανόλη, οι φυτοστερόλες και οι άλλες συζευγμένες φυτοστερόλες εξετάζονται ώστε να έχουν αντιοξειδωτική ιδιότητα έναντι των ελεύθερων ριζών (Wang et al., 2002; Kochhar, 2000). Ο εστέρας φερουλικού οξέος της γ-ορυζανόλης είναι γνωστό ότι είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό το οποίο έχει σταθεροποιητικές

ιδιότητες σε αυξημένες θερμοκρασίες (Xu and Godber, 2001). Μελέτες έχουν δείξει ότι ένας δοκιμαστικός σωλήνας με γ-ορυζανόλη είναι τέσσερις φορές πιο αποτελεσματικός από την βιταμίνη E στην αναστολή της κυτταρικής οξειδωσης. Σε σύγκριση με τη βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη, β-τοκοφερόλη, α-τοκοτριενόλη και β-τοκοτριενόλη), η γ-ορυζανόλη έδειξε υψηλότερες αντιοξειδωτικές ικανότητες. Όλοι αυτοί οι παράγοντες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη θρεπτικών συστατικών και άλλων συστατικών τροφίμων από κατάλληλες χημικά και βιολογικά λειτουργικές ενώσεις του πίτουρου ρυζιού που είναι γνωστό ότι έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Patel and Naik, 2004; Wang et al., 2002; Nakatani et al., 2001; Xu et al., 2001).

5.2. Πίτουρο ρυζιού σε τρόφιμα

Το πίτουρο ρυζιού είναι εξαιρετικά θρεπτικό και επομένως χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων. Η κύρια χρήση του ως πρόσθετη ύλη στα τρόφιμα οφείλεται στις διαιτητικές ίνες που υπάρχουν σε αυτό και που του προσδίδουν τις ιδιότητες ενός καλού καθαρτικού (Nesaretnam et al., 1998; McCaskill and Zhang, 1999; Sharp and Kitchens, 1990). Ο Sekhon et al. (1997), πραγματοποίησε μελέτες που αποκάλυψαν ότι ο όγκος του ψωμιού μειώθηκε, αλλά ο όγκος του muffin αυξήθηκε με την προσθήκη διαφορετικών τύπων πίτουρου. Διαφορετικά προϊόντα μπορούν να παραχθούν που να περιέχουν 5-10% πίτουρο ρυζιού.

5.3. Ιατρικές χρήσεις

Το πίτουρο ρυζιού περιέχει μεγάλες συγκεντρώσεις αρκετών ενώσεις και έχει τη δυνατότητα να αποτρέψει μια σειρά χρόνιων ασθενειών. Το πίτουρο ρυζιού πιστεύεται ότι χρησιμεύει ως ένα σημαντικό λειτουργικό φαγητό που έχει ιδιότητες μείωσης της χοληστερόλης, με καρδιαγγειακά οφέλη για την υγεία και αντικαρκινική δραστηριότητα (Hu et al., 1996; Lichtenstein et al., 1994).

5.3.1. Μείωση της χοληστερόλης

Τα έλαια από το πίτουρο ρυζιού έχουν υποχοληστερολαιμική επίδραση που προκύπτει από επιλεκτική μείωση του κλάσματος χοληστερόλης (C) χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL). Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία υψηλής συγκέντρωσης

ασαπυνοποίητων, συμπεριλαμβανομένων των φυτοστερολών, των ορυζανολών και των τοκοτριενολών (Hu et al., 1996; Lichtenstein et al., 1994; Hegsted and Windhauser, 1993; Orthoefer, 1996). Επίσης, τα ασαπυνοποίητα που υπήρχαν στο πίτουρο ρυζιού φαίνεται να μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα χοληστερόλης στο ήπαρ (Kahlon et al., 1996; Nikolosi et al., 1991; Nakamura, 1966).

5.3.2. Η στεφανιαία νόσο (ΣΚΝ)

Η κατανάλωση των διαιτητικών ινών που υπάρχουν στα δημητριακά έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τον κίνδυνο θνησιμότητας της στεφανιαίας καρδιοπάθειας (ΣΚΝ) με τη μείωση της αρτηριακής πίεσης, τη μείωση των επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα και βελτιώνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Truswell et al., 2002; Mellen et al., 2008; Whelton et al., 2005; Rimm et al., 1996). Ο κίνδυνος θνησιμότητας από την ΣΚΝ σχετίζεται αντίστροφα με την κατανάλωση διαιτητικών ινών από σιτηρά ή φρούτα (Martinette et al., 2008; Pereira et al., 2004; Kromhout et al., 1982).

Για την αξιολόγηση της στεφανιαίας νόσου, τα επίπεδα της κυκλοφορίας της χοληστερόλης θεωρούνται πιο σημαντική από το σύνολο της χοληστερίνης. Η LDL σχετίζεται άμεσα με την ανάπτυξη του καρδιαγγειακών παθήσεων, ενώ η HDL έχει αντίστροφη σχέση (Sayre and Saunders, 1990; Margolis and Dods, 1989; Larakí et al., 1993). Στην ανθρώπινη δίαιτα, η συμπλήρωση με διαλυτή σιτοστανόλη μειώνει σημαντικά τη συνολική κυκλοφορία της χοληστερόλης και τα επίπεδα LDL κατά 7,5% και 10% αντίστοιχα (Brown et al., 1999; Vanhanen et al., 1993).

Η προσθήκη διαιτητικών φυτοστερολών έχει βρεθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα λεκιθίνης - Ακυλικής Τρανσφεράσης της Χοληστερόλης (LCAT) στο αίμα (Moghadasian and Frohlich, 1999; Larakí et al., 1991). Αυτό με τη σειρά του διευκολύνει την απομόνωση της χοληστερόλης στο εσωτερικό του υδρόφοβο πυρήνα της HDL χοληστερόλης (Vanhanen et al., 1993).

5.3.3. Καρκίνος του παχέος εντέρου

Οι φυτοστερόλες έχουν δείξει ότι αναστέλλουν όγκους που προκαλούνται από χημικές ουσίες σε ζώα. Η παραγωγή κοπροστανόλης και άλλων ουδέτερων στερολών και χολικών οξέων από τη μικροχλωρίδα του παχέος εντέρου από τη διατροφική χοληστερόλη,

έχουν καθιερωθεί ως παράγοντες καρκινογένεσης στο έντερο (Cummings and Macfarlane, 1997). Τα δευτερεύοντα προϊόντα χολικών οξέων βοηθούν επίσης στην ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου. Μελέτες έχουν προτείνει ότι οι διαιτητικές φυτοστερόλες μεταβάλλουν σημαντικά τα επίπεδα της χοληστερόλης στα περιττώματα, των προϊόντων διάσπασης της χοληστερόλης και των χολικών οξέων μειώνοντας τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων (Fuchs et al., 1999; Pietinen et al., 1999). Αυτό ενδέχεται να οφείλεται στην καταστολή του βακτηριακού μεταβολισμού της χοληστερόλης ή/και του δευτερογενούς χολικού οξέος στο έντερο και στην αύξηση της απέκκρισης της ίδιας της χοληστερόλης (Ling and Jones, 1995; Fairre and Bonithon-Kopp, 1999). Οι Bingham et al. (2003) μελέτησαν τη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης ινών και της συχνότητας εμφάνισης καρκίνου του παχέος εντέρου. Το ποσό της κατανάλωσης διαιτητικών ινών έδωσε τις σχετικές εκτιμήσεις κινδύνου σε άτομα που ομαδοποιήθηκαν ανάλογα με το φύλο και από τα γραμμικά μοντέλα που σχετίζονται με τον λόγο κινδύνου προς την κατανάλωση ινών εκφράστηκε ως συνεχής μεταβλητή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η πρόσληψη διαιτητικών ινών ήταν αντιστρόφως σχετιζόμενη με την εμφάνιση του καρκίνου του παχέος εντέρου. Το υψηλότερο προστατευτικό αποτέλεσμα παρουσιάστηκε στην αριστερή πλευρά του παχέος εντέρου όπου το λιγότερο προστατευτικό αποτέλεσμα ήταν στο ορθό. Ερμηνεύθηκε ότι κατά προσέγγιση διπλασιασμός της συνολικής πρόσληψης ινών σε άτομα με χαμηλό μέσο όρο διατροφής πρόσληψης ινών, ο κίνδυνος καρκίνου του εντέρου μειώθηκε σημαντικά κατά 40% (Bonithon-Kopp et al., 2000; Agudo et al., 2002).

5.3.4. Αντιγήρανση / Καλλυντικά και Προσωπική Φροντίδα

Το συστατικό ορυζανόλης δρα ως προστατευτικός παράγοντας έναντι του υπεριώδους φωτός προκαλώντας υπεροξειδωση των λιπιδίων και ως εκ τούτου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ισχυρό αντιηλιακό μέσο. Το φερουλικό οξύ και οι εστέρες του που βρίσκονται στη γ-ορυζανόλη μπορούν να τονώσουν την ανάπτυξη των μαλλιών και να αποτρέψουν τη γήρανση του δέρματος.

Το πίτουρο ρυζιού περιέχει περίπου 500 ppm τοκοτριενόλης (Eitenmiller et al., 1997). Οι τοκοτριενόλες όταν εφαρμόζονται στο δέρμα διεισδύουν και απορροφούνται ταχέως. Κυρίως συσσωρεύονται στο κεράτινο στρώμα του δέρματος και δρουν ως η πρώτη γραμμή άμυνας με την αντιοξειδωτική τους ιδιότητα. Σταθεροποιούν τις ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται στο δέρμα όταν εκτίθενται στις οξειδωτικές ακτίνες. Προστατεύουν το

δέρμα από βλάβες του δέρματος λόγω UV ακτινοβολίας και από τη γήρανση του δέρματος και έτσι βοηθούν στην επιδιόρθωση του δέρματος. Η αποτελεσματικότητα των αντιηλιακών που περιέχουν ενώσεις που μειώνουν τη διείσδυση ή απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία αυξάνεται χρησιμοποιώντας τοκοτριενόλες σε αυτά (Tomeo et al., 1995).

5.4. Οφέλη για την υγεία

Το έλαιο πίτουρου ρυζιού έχει δείξει αποτελέσματα ανοσοδιεγέρσεως. Είναι πλούσιο σε φυτοστερόλες, στερολίνες και γ-ορυζανόλη, μια ένωση με αντιοξειδωτικές ιδιότητες που μπορεί να τροποποιήσει το ανοσοποιητικό σύστημα (Sierra et al., 2005). Η γ-ορυζανόλη των πίτουρων ρυζιού μείωσε σημαντικά τα αυξημένα επιπέδα ορού σε υποθυρεοειδείς ασθενείς (Patel and Naik, 2004). Είναι γνωστό ότι έχει μία σημαντική επίδραση στην εμμηνόπαυση με την ελάφρυνση των συμπτωμάτων της (Yamuchi et al., 1981). Χρησιμοποιείται ως εργογόνο συμπλήρωμα από αθλητές (Fry et al., 1997). Τα παράγωγα από πίτουρα ρυζιού είναι πλούσια σε β-σιτοστερόλες που αναστέλλουν την ανάπτυξη και προκαλούν απόπτωση σε κύτταρα καρκίνου του μαστού (Awad et al., 2000). Πολλές χρωματιστές ποικιλίες ρυζιού περιέχουν μικροθρεπτικά συστατικά, συμπεριλαμβανομένου ενός πλούσιου αποθέματος β-καροτίνης, η οποία μπορεί να μετατραπεί σε βιταμίνη-A, η οποία απαιτεί την παρουσία ακόρεστων λιπαρών οξέων, τα οποία με τη σειρά τους είναι επίσης παρόντα στις έγχρωμες καλλιέργειες ρυζιού (Nagao, 2004).

5.5. Άλλες χρήσεις

Τα ορθο, μετα και παρα-διχλωροβενζένια χρησιμοποιήθηκαν ως εντομοκτόνα για αρκετά χρόνια. Μεταξύ αυτών το παρα-ισομερές έχει χρησιμοποιηθεί σε πολύ μεγάλη κλίμακα ενάντια σε έντομα και σκώρους που μολύνουν ρούχα, δέρματα, γούνες και δείγματα μουσείων. Είναι αξιοσημείωτο ότι το πίτουρο ρυζιού βρέθηκε ότι είναι ένας αποτελεσματικός προσροφητής παρα-διχλωροβενζολίου σε ένα ευρύ εύρος pH 1-12. Αυτή η ιδιότητα του πίτουρου ρυζιού αποδόθηκε στην πρόσληψη από τα ενδοκυτταρικά σωματίδια που ονομάζονται σφαιροσώματα (Adachi et al. 2007; Loeser and Litchfield, 1983).

6. *Lactobacillus plantarum*

Ο *L. plantarum* είναι ένα ευπροσάρμοστο γαλακτικό βακτήριο, το οποίο συναντάται σε διαφορετικά περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένων των γαλακτοκομικών προϊόντων, του κρέατος και πολλών ζυμώμενων φυτικών προϊόντων, καθώς και στο ανθρώπινο γαστρεντερικό σωλήνα. Επιπλέον, ο *L. plantarum* μπορεί να εμπλακεί στην αλλοίωση τροφίμων όπως το κρέας (Borcha et al., 1997), το κρασί (Beneduce et al., 2004) ή ο χυμός πορτοκαλιού (Alwazeer, Cachon, & Divies, 2002).

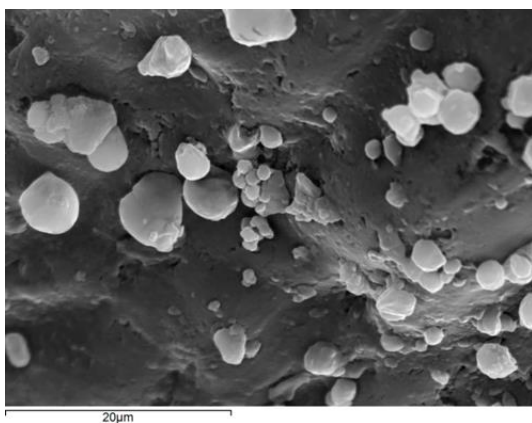
Ο *L. plantarum* έχει μακρά ιστορία φυσικής εμφάνισης και ασφαλής χρήσης σε ποικίλα προϊόντα διατροφής, συμπεριλαμβανομένης της γνωστής χρήσης του σε μεγάλους αριθμούς σε παρασκευάσματα για λάχανο και ελιές (De Vries et al., 2006). Μεταξύ των εκατοντάδων αναφορών σχετικά με την ασφαλή χρήση του, υπάρχουν μόνο περιορισμένες αναφορές που υποδηλώνουν ότι ορισμένα στελέχη του *L. plantarum* μπορεί να εμπλέκονται σε λοίμωξη. Μια από αυτές αφορά την απομόνωση του *L. plantarum* από μολυσματική ενδοκαρδίτιδα. Αυτά τα στελέχη θα μπορούσαν να συσσωματώσουν το αίμα *in vitro* με συσσωμάτωση ανθρώπινων αιμοπεταλίων (Harty et al., 1994). Ωστόσο, αυτό το *in vitro* χαρακτηριστικό μπορεί να μην αντανακλά κίνδυνο *in vivo*, καθώς ένας μεγάλος αριθμός γαλακτικών βακτηρίων φαίνεται να μοιράζονται αυτήν την ιδιότητα. Επιπλέον, η ταυτοποίηση του είδους βασίστηκε σε περιορισμένο μόνο αριθμό δοκιμών. Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι το απομονωμένο από ανθρώπινο σάλιο στέλεχος *L. plantarum* NCIMB 8826 δεν προκάλεσε μακροσκοπική ή ιστολογική φλεγμονή σε ποντίκια (Pavan et al., 2003). Τέλος, διάφορες κλινικές μελέτες υπογραμμίζουν την ασφαλή χρήση του *L. plantarum* στους ανθρώπους (De Vries et al., 2006).

Ο διπλός ρόλος, του *L. plantarum* ως μέρος του ανθρώπινου εντερικού πληθυσμού και ως ασφαλή αρχική καλλιέργεια στη ζύμωση των τροφίμων (De Vries et al., 2006), το κατέστησε μια προτιμώμενη επιλογή για χρήση στην ανάπτυξη νέων λειτουργικών προϊόντων. Πολλές προηγούμενες εργασίες έδειξαν ότι η κατανάλωση ζυμωμένου γάλακτος που περιέχει *L. plantarum* φέρνει *in vivo* λειτουργικότητα στον ξενιστή (Chiu et al., 2006, Nasrabadi et al., 2011). Επιπλέον πολλές πρόσφατες εργασίες έχουν χρησιμοποιήσει με επιτυχία τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό για την παρασκευή γιαουρτιού είτε σε ελεύθερη

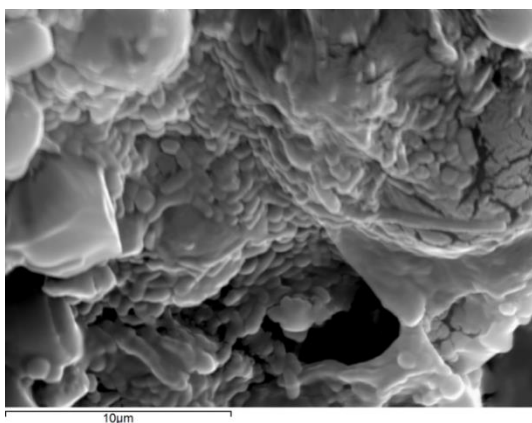
είτε σε ακινητοποιημένη μορφή, αναδεικνύοντας τα άριστα τεχνολογικά, και όχι μόνο, χαρακτηριστικά του (Sidira et al., 2017, Nishimura et al., 2016, Li et al., 2017).

7. Ακινητοποίηση κυττάρων *Lactobacillus plantarum* σε πίτουρο ρυζιού

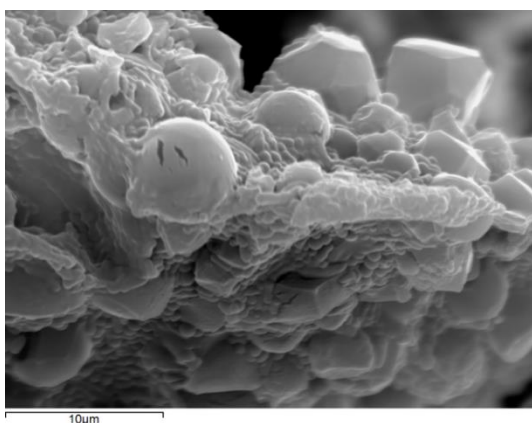
Στο πλαίσιο της παρούσης πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκαν και πειράματα για τη μελέτη της χρήσης του πίτουρου ρυζιού ως φορέα ακινητοποίησης κυττάρων για χρήση σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε ο μικροοργανισμός *L. plantarum* ο οποίος αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο MRS. Όταν αναπτύχθηκε ικανοποιητική ποσότητα από τον μικροοργανισμό προστέθηκε νέο θρεπτικό μέσο MRS καθώς και ποσότητα από πίτουρο ρυζιού. Το σύστημα αφέθηκε για ζύμωση στους 37°C, για 24 ώρες και στη συνέχεια απομακρύνθηκε το ζυμώμενο θρεπτικό και συλλέχθηκε το πίτουρο ρυζιού. Το πίτουρο στη συνέχεια ξεπλύθηκε με αποστειρωμένο θρεπτικό μέσο MRS για την απομάκρυνση ελεύθερων κυττάρων του μικροοργανισμού. Τέλος ξηράνθηκε με τη χρήση λυοφιλιωτή. Δείγμα από το ξηραμένο πίτουρο καθώς και πίτουρο χωρίς ακινητοποιημένα κύτταρα μελετήθηκαν με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM). Οι φωτογραφίες από το μικροσκόπιο παρουσιάζουν τα ακινητοποιημένα κύτταρα του *L. plantarum* στο πίτουρο ρυζιού (Εικόνα 1 - 3). Οι φωτογραφίες αυτές δίνουν μια πρώτη ένδειξη ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί το πίτουρο ρυζιού ως φορέας ακινητοποίησης γαλακτικών βακτηρίων αλλά χρειάζεται περισσότερη έρευνα για τη μελέτη της επίδρασής του κατά την παρασκευή και συντήρηση προϊόντων τροφίμων.



Εικόνα 1: Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου της επιφάνειας του πύτουρου ρυζιού πριν την ακινητοποίηση.



Εικόνα 2: Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου της επιφάνειας του πύτουρου ρυζιού μετά την ακινητοποίηση.



Εικόνα 3: Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου της επιφάνειας του πύτουρου ρυζιού μετά την ακινητοποίηση.

8. Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία έγινε εκτενής ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σχετικά με την παρασκευή γιαουρτιού χρησιμοποιώντας ακινητοποιημένα κύτταρα γαλακτοβακίλλων. Από την ανασκόπηση αυτή προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Η χρήση ακινητοποίησης βοηθά στην καλύτερη προστασία και βιωσιμότητα των καλλιεργειών εκκίνησης κατά την παρασκευή, την επεξεργασία και συντήρηση των γιαουρτιών και των γαλακτοκομικών προϊόντων γενικότερα.
- Η χρήση προβιοτικών καλλιεργειών σε ακινητοποιημένη και ελεύθερη μορφή επιδρά θετικά στα τεχνολογικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού όπως παραγωγή οξέος, παραγωγή γεύσης, εμπλουτισμό βιταμινών.
- Η χρήση προβιοτικών καλλιεργειών σε ακινητοποιημένη και ελεύθερη μορφή επιδρά θετικά στα διαιτητικά χαρακτηριστικά του γιαουρτιού μέσω της πρωτεολυτικής τους δράσης, της παραγωγής L (+) γαλακτικού οξέος.
- Το πίτουρο ρυζιού είναι ένας ιδανικός υποψήφιος φορέας για την ακινητοποίηση γαλακτικών βακτηρίων λόγω των χαρακτηριστικών όπως αντιοξειδωτική δράση, μείωση χοληστερόλης, αντιγηραντική δράση, αντικαρκινική δράση, προστασία έναντι της στεφανιαίας νόσου και πολλών άλλων.
- Το πίτουρο ρυζιού είναι ένα υπόστρωμα φθινό και κατάλληλο για τρόφιμα κάνοντάς το έτσι έναν ιδανικό φορέα ακινητοποίησης κυττάρων.

Στο τελευταίο μέρος της εργασίας έγινε μελέτη του πίτουρου ρυζιού ως φορέα ακινητοποίησης κυττάρων. Η ακινητοποίηση μελετήθηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν κύτταρα *L. plantarum* τα οποία ακινητοποιήθηκαν στην επιφάνεια του πίτουρου ρυζιού. Τα αποτελέσματα αυτά δίνουν μια πρώτη ένδειξη ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί το πίτουρο ρυζιού ως φορέας ακινητοποίησης γαλακτικών βακτηρίων αλλά χρειάζεται περισσότερη έρευνα για τη μελέτη της επίδρασής του κατά την παρασκευή και συντήρηση προϊόντων τροφίμων.

9. Βιβλιογραφία

- Adachi, A., Kunieda, K. and Okano, T. (2007). Efficiency of rice bran for removal of p-dichlorobenzene from water. *Journal of Health Science*, 53, 604–607.
- Adhikari, K., Grun, I. U., Mustapha, A. and Fernando, L. N. (2002). Changes in the profiles of organic acids in plain set and stirred yoghurt during manufacture and refrigerated storage. *Journal of Food Quality*, 25(5), 435–451.
- Adolfsson, O., Nikbin Meydani, S. and Russell, R. M. (2004). Yogurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 245-256.
- Agudo, A., Slimani, N., Ocke, M. C., Naska, A., Miller, A. B., Kroke, A., Bamia, C., Karalis, D., Vineis, P., Palli, D., Bueno-de-Mesquita, H. B., Peeters, P. H., Engeset, D., Hjartåker, A., Navarro, C., Martínez Garcia, C., Wallström, P., Zhang, J. X., Welch, A. A., Spencer, E., Stripp, C., Overvad, K., Clavel-Chapelon, F., Casagrande, C. and Riboli, E. (2002). Consumption of vegetables, fruit and other plant foods in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohorts from 10 European countries. *Public Health Nutrition*, 5, 1179–1196.
- Akhalaf, W., Piard, J. C., El Soda, M., Gripon, J. C., Desmazeaud, M. and Vassal, L. (1988). Liposomes as proteinase carriers for the accelerated ripening of Saint-Paulin type cheese. *Journal of Food Science*, 53, 1674–1679.
- Akinwale, T. O. (2000). Cashew apple juice: its use in fortifying the nutritional quality of some tropical fruits. *European Food Research and Technology*, 211, 205–207.
- Akshat, T., Miller, C. W., Kaila, K. and Nguyen, M. H. (2004). Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(6), 605–611.
- Alwazeer, D., Cachon, R. and Divies, C. (2002). Behavior of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* in fresh and thermally processed orange juice. *Journal of Food protection*, 65(10), 1586–1589.
- Amirdivani, S. (2007). Inclusion of *Mentha piperita*, *Anethum graveolence* and *Ocimum basilicum* in Yogurt and their effect on the Inhibition of Enzyme Relevant to Hypertension and type-2 Diabetes. Faculty of Science. University of Malaya. Available at: <http://dspace.fsktm.um.edu.my/handle/1812/514>
- Amoroso, M. J. and Manca De Nadra, M. C. (1991). Activities of enzymes involved in the utilization of lactose and sucrose in bacterial strains isolated from commercial yoghurts. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 9(2), 171–175.
- Anik, N. (1996). The amount of L(+) and D(-) acid in cultured milk products produced from cow, ewe and goat milk using different starter cultures. *Gida*, 21, 287–292.
- Anonymous (2009). Sea Handbook. 9th ed. *The solvent extractor's association of India: India*, 885–891.
- Aroyeun, S. O. (2004). Optimisation of the utilisation of cashew apple in yogurt production. *Nutrition & Food Science*, 34, 17–19.
- Awad, A. B., Downie, A. C. and Fink, C. S. (2000). Inhibition of growth & stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDA – MB-231 human breast cancer cells in culture. *International Journal of Molecular Medicine*, 5, 541–545.

- Awaisheh, S. S., Haddadin, M. S. Y. and Robinson, R. K. (2005). Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. *International Dairy Journal*, 15(11), 1184–1190.
- Baranowska, M. (2006). Intensification of the synthesis of flavour compounds in yoghurt by milk enrichment with their precursors. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15(1), 5–11.
- Baron, G. V. and Willaert, R. G. (2004). Cell immobilization in preformed porous matrices. In: *Fundamentals of cell immobilisation biotechnology* (eds V. Nedovic and R. Willaert), pp 229–244. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Barrantes, E., Tamime, A. Y., Sword, A. M., Muir, D. D., & Kalab, M. (1996). The manufacture of set-type natural yoghurt containing different oils—1. Compositional quality, microbiological evaluation and sensory properties. *International Dairy Journal*, 6(8), 811-826.
- Barrantes, X., Railey, D., Arias, M. L. and Chaves, C. (2004). Evaluation of the effect of probiotic cultures added to commercial yogurt over a known population of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 54(3), 293–297.
- Bautista, C. S., Dahya, R. S. and Speck, M. L. (1966). Identification of compounds causing symbiotic growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in milk. *Journal of Dairy Research*, 33, 299–307.
- Beena, A. K. and Prasad, V. (1999). b-galactosidase specific activity of yoghurt and bifidus yoghurt containing skim milk powder, condensed whey and lactose hydrolysed condensed whey. *Journal of Dairying Foods and Home Sciences*, 18, 37–40.
- Belitz, H. D. and Grosch, W. (1999). Milk and Dairy Products. In *Food Chemistry*. Belitz, H.-D. and Grosch W. (Ed.), (2nd English ed., translation from 4th German ed. by Burghagen, M. M., D. Hadziyev, P. Hessel, S. Jordan, and C. Sprinz) pp. 470–511. Springer, London.
- Belkahl, N., Maamouri, N., Ouerghi, H. and Ben Ammar, A. (2005). Role of intestinal flora in inflammatory bowel disease and probiotics place in their management. *La Tunisie Medicale*, 83(3), 132–136.
- Beneduce, L., Spano, G., Vernile, A., Tarantino, D. and Massa, S. (2004). Molecular characterization of lactic acid populations associated with wine spoilage. *Journal of Basic Microbiology*, 44(1), 10–16.
- Beshkova, D. M., Simova, E. D., Frengova, G. I., Simov, Z. I. and Adilov, E. F. (1998). Production of amino acid by yoghurt bacteria. *Biotechnology Progress*, 14(6), 963–965.
- Bickerstaff, G. F. (1995) Impact of genetic technology on enzyme technology. *Genetics Engineer Biotechnologist*, 15, 13–30.
- Bingham, S. A., Day, N. E., Luben, R., Ferrari, P., Slimani, N., Norat, T., Clavel-Chapelon, F., Kesse, E., Nieters, A., Boeing, H., Tjønneland, A., Overvad, K., Martinez, C., Dorransoro, M., Gonzalez, C. A., Key, T. J., Trichopoulou, A., Naska, A., Vineis, P., Tumino, R., Krogh, V., Bueno-de-Mesquita, H. B., Peeters, P. H., Berglund, G., Hallmans, G., Lund, E., Skeie, G., Kaaks, R., Riboli, E. and European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. (2003). Dietary fiber in food & protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer & Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet*, 361, 1496–1501.
- Bizzozero, N. and Sprocati, G. (2001). Chemical characteristics of yoghurt samples from the market. *Industria Alimentari*, 40, 7–10.

- Bonithon-Kopp, C., Kronborg, O., Giacosa, A., R  th, U. and Faivre, J. (2000). Calcium and fibre supplementation in prevention of colorectal adenoma recurrence: a randomised intervention trial. *Lancet*, 356, 1300–1306.
- Bony, M., Thines-Sempoux, D., Barre, P., and Blondin, B. (1997). Localization and cell surface anchoring of the *Saccharomyces cerevisiae* flocculation protein Flo1p. *Journal of Bacteriology*, 179, 4929–4936.
- Borcha, E., Kant-Muermansb, M. L. and Blixta, Y. (1997). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), 103–120.
- Bozanic, R., Tratnik, L. and Hruskar, M. (2003). Influence of culture activity on aroma compounds in yoghurt produced from goat’s and cow’s milk. *Acta Alimentaria*, 32(2), 151–160.
- Bozanic, R., Tratnik, L. and Maric, O. (1998). The influence of goat milk on the viscosity and microbiological quality of yoghurt during storage. *Mljekarstvo*, 48(2), 63–74.
- Br  nyik, T., Vicente, A., Oliveira, R., Teixeira, J. A. (2004). Physicochemical surface properties of brewing yeast influencing their immobilization onto spent grains in a continuous reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 88, 84–93.
- Brennan, M., Wanismail, B., Johnson, M. C. and Ray, B. (1986). Cellular damage in dried *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Protection*, 49(1), 47–53.
- Broadbent, J. R. (2008). Proteolysis in lactobacilli: applications in food and health. In: *Proceedings of the Ninth Symposium on Lactic Acid Bacteria*, August 31-September 4, Egmond aan Zee, The Netherlands.
- Brodelius, P. (1985). Immobilized plant cells. In: *Enzymes and Immobilized cells in Biotechnology*, (ed. A. I. Laskin), pp. 109–148. Benjamin Cummings, London.
- Broun, G. B. (1976). Chemically aggregated enzymes. In: *Methods in Enzymology*, (ed. K. Mosbach), vol. XLIV, pp. 263–280. Academic, New York.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, W. W. and Sacks, F. M. (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 30–42.
- Bryan, H. (1994). Yoghurt: single strains combine. *Dairy Industries International*, 59(3), 35–37.
- Bucci, R., Magr  , A. D., Magr  , A. L., Marini, D. and Marini, F. (2002). Chemical authentication of extra virgin olive oil varieties by supervised chemometric procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 413–418.
- Bucci, V., Magr  , A. D., Magr  , A. L. and Marini, F. (2003). Comparison of three spectrophotometric methods for the determination of γ -oryzanol in rice bran oil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375, 1254–1259.
- Bucke, C. (1983). Immobilized cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 300, 369–389.
- Buono, M. A., Erickson, L. E., Fung, D. Y. C. and Jeon, J. I. (1990). Carbohydrate utilization and growth kinetics in the production of yoghurt from soya milk. Part I experimental methods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 14(2), 135–153.
- Chamba, J. F. (2008). Application des bacteries lactiques lors des fabrication fromageres. In: Corrieu, G., Luquet, F.M. (Eds.), *Bacteries lactiques e De la genetique aux ferments*. Lavoisier, Paris, pp. 787-815.
- Chandan, R. C., & Kilara, A. (Eds.). (2013). Manufacturing yogurt and fermented milks. Wiley Blackwell Publishers.

- Chee, C. P., Gallaher, J. J., Djordjevic, D., Faraji, H., McClements, D. J., Decker, E. A., Hollender, R., Peterson, D. G., Roberts, R. F. and Coupland, J. N. (2005). Chemical and sensory analysis of strawberry-flavoured yogurt supplemented with an algae oil emulsion. *Journal of Dairy Research*, 72, 311–316.
- Chen, R. M., Wu, J. J., Lee, S. C., Huang, A. H. and Wu, H. M. (1999). Increase of intestinal bifidobacteria and suppress of coliform bacteria with short term yoghurt ingestion. *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2308–2314.
- Chianese, L., Caira, S., Pizzolongo, F., Melck, D., Ferranti, P., Merusi, P., Cagnasso, P. and Addeo, F. (2003). Production of probiotic yoghurt with increased levels of bioactive peptides. Fermented Milks Proceeding IDF Seminar on Aroma and Texture of Fermented Milk, Kolding, Denmark, June 2002.
- Chiang, M., Chen, K., Yao, H., Liu, K. and Pan, C. (2005). Effect of yoghurt fermented by *Lactobacillus plantarum* BCRC 12250 and *Lactobacillus plantarum* BCRC 10069 on plasma lipids and liver lipids in rats. *Taiwanese Journal of Agricultural Chemistry and Food Science*, 43(3), 175–181.
- Chick, H., Shin, H. S. and Ustunol, Z. (2001). Growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria grown in skim milk containing honey. *Journal of Food Science*, 66, 478–481.
- Childs, J.; and Drake, M. 2008. Sensory properties of yogurt powders. Poster presentation, IFT Annual Meeting, June 2008. Abstract 048-09.
- Chiu, C. H., Lu, T. Y., Tseng, Y. Y. and Pan, T. M. (2006). The effects of Lactobacillus-fermented milk on lipid metabolism in hamsters fed on high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71, 238–245.
- Christie, W. (1995). Composition and structure of milk lipids. In *Advanced Dairy Chemistry: Lipids*. P. F. Fox, ed. Vol 2. pp. 1-36. Chapman and Hall, London.
- Christopher, M. D., Reddy, V. P. and Venkateswarlu, K. (2006). Impact of feeding probiotic yoghurt containing Bifidobacterium bifidum DMS 20456 on growth performance in albino rats. *Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2, 154–157.
- Codex Alimentarius Commission (2010). Codex standard for fermented milks. Codex Stan 243-2003. Available at: www.codexalimentarius.org/input/download/.../400/CXS_243e.pdf
- Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M. and Vernoux, J. (2003). Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Le Lait*, 83(4), 269–306.
- Collado, M. C., Moreno, Y., Hernandez, E., Cobo, J. M. and Hernandez, M. (2005). In vitro viability of Bifidobacterium strains isolated from commercial dairy products exposed to human gastrointestinal conditions. *Food Science and Technology International*, 11, 307–314.
- Conway, P. L., Gorbach, S. L. and Goldin, B. R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 70(1), 1–12.
- Costello, M. (1993). Probiotic foods. *Proceedings in International Food Processing Machinery and Technology Exhibition and Conference*, 12-14 July, Sydney.
- Cotz, C. M., Furne, J. K., Savaiano, D. A. and Levitt, M. D. (1994). Factors affecting the ability of a high b-galactosidase yogurt to enhance lactose absorption. *Journal of Dairy Science*, 77(12), 3538–3544.

- Crittender, R. G., Martinez, N. R. and Playne, M. I. (2003). Synthesis and utilization of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 80, 217–222.
- Cummings, J. H. and Macfarlane, G. T. (1997). Colonic microflora: nutrition and health. *Nutrition*, 13, 476–478.
- Curda, L. and Plockova, M. (1995). Impedance measurement of growth of lactic acid bacteria in dairy cultures with honey addition. *International Dairy Journal*, 5, 727–733.
- Daily Australia (2013). Types of Yogurt. Available at: <http://www.dairyaustralia.com.au/Dairy-food-and-recipes/Dairy-Products/Yogurt/Types-of-Yogurt.aspx>
- Dairy Consultant (2013). Dairy Science Information. Available at: <http://www.dairyconsultant.co.uk/si-yoghurt.php#>
- Dairy Goodness (2013a). The history of yogurt. Available at: <http://www.dairygoodness.ca/yogurt/the-history-of-yogurt>
- Dairy Goodness (2013b). Types of yogurt. Available at: <http://www.dairygoodness.ca/yogurt/types-of-yogurt>
- Dairy UK (2009). Code of practice for the composition and labeling of yogurt. London: W1U 6QQ.
- Danielsen, M. and Wind, A. A. (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* ssp. to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82(1), 1–11.
- Danone (2013). A brief history of yogurt. Available at: <http://downtoearth.danone.com/2013/01/31/a-brief-history-of-yogurt/>
- Das, U. N. (1993). Oxyradicals and their clinical implications. *Current Science*, 65, 964–969.
- De Vrese, M. A., Stegelmann, A., Richter, B., Fenselau, S., Laue, C. and Schrezenmeir, J. (2001). Probiotics—compensation for lactase insufficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 421S–429S.
- De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M. and de Vos, W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16(9), 1018–1028.
- Dilmi-Bouras, A. (2006). Assimilation (in vitro) of cholesterol by yogurt bacteria. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 13, 49–53.
- Donabedian, H. (2006). Nutritional therapy and infectious diseases: a two-edged sword. *Nutrition Journal*, 5, 21–30.
- Doron, S. and Gorbach, S. L. (2006). Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 4(2), 261–275.
- Dowden, A., 2013. The good yoghurt guide. Daily Mail. Available at: <http://www.dailymail.co.uk/health/article-19005/The-good-yoghurt-guide.html>
- Driessen, F. M., Kingma, F. and Stadhouders, J. (1982). Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt is stimulated by carbon-dioxide produced by *Streptococcus thermophiles*. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 36(2), 135–144.
- Dutta, S. M., Kuila, R. K., Ranganathan, B. and Laxminarayana, H. (1971). Biochemical changes produced in milk by selected cultures of lactic acid bacteria. *Indian Journal of Dairy Science*, 41, 1.
- Dutta, S. M., Kuila, R. K., Ranganathan, B. and Laxminarayana, H. (1973). Effect of heat-treatment on acid and flavour production in milk by lactic acid bacteria. *Milchwiss*, 28, 231–233.

- Eitenmiller, R. R. (1997). Vitamin E Content of fats and oils: nutritional implications. *Food Technology*, 51, 78–81.
- Elli, M., Callegari, M. L., Ferrari, S., Bessi, E., Cattivelli, D., Soldi, S., Morelli, L., Goupil Feuillerat, N. and Antoine, J. M. (2006). Survival of yogurt bacteria in the human gut. *Applied Environmental and Microbiology*, 72(7), 5113–5117.
- El-Rahman, A. E. R. M. A. (2000). Survival of probiotic bacteria in yoghurt and their antimicrobial effects. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 45, 63–80.
- Estevez, C. R., Goicoechea, A. and Jimenez Pirez, S. (1988). Aroma development in yoghurt made by different methods. *Deutsche Molkerei-Zeitung*, 109, 733–735.
- Fabian, E. and Elmadfa, I. (2006). Influence of daily consumption of probiotic and conventional yoghurt on the plasma lipid profile in young healthy women. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 50(4), 387–393.
- Faivre, J. and Bonithon-Kopp, C. (1999), Chemoprevention of colorectal cancer. *Recent Results in Cancer Research*, 151, 122–133.
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. *Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food*. London, Ontario,, Canada.
- FDA (2013a). Yogurt. 21 CFR 131.200, Code of Federal Regulations. U. S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
- FDA (2013b). Lowfat Yogurt. 21 CFR 131.203, Code of Federal Regulations. U. S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
- FDA (2013c). Nonfat Yogurt. 21 CFR 131.206, Code of Federal Regulations. U. S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
- FDA (2011). Grade A pasteurized milk ordinance, 2011 revision. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration: New Hampshire.
- Fligner, K., Lindamoor, J. B. and Hansen, P. M. T. (1988). Fortification of low-fat plain yogurt with calcium gluconate. *Cultured Dairy Products Journal*, 23, 5–9.
- Foda, M. I., Abd El-Aziz, M. and Awad, A. A. (2007). Chemical, rheological and sensory evaluation of yoghurt supplemented with turmeric. *International Journal of Dairy Science*, 2, 252–259.
- Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. ed. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London: Chapman and Hall.
- Freeman, A. (1984). Gel entrapment of whole cells and enzymes in cross-linked, prepolymerized polyacrylamide hydrazide. *Annals of the New York Academy of Science*, 434, 418–426.
- Friend, B. A., Fiedler, J. M. and Shahani, K. M. (1983). Influence of culture selection on the flavour, antimicrobial activity, b-galactosidase and B-complex vitamins of yoghurt. *Milchwiss*, 38, 133–138.
- Fry, A. C., Bonner, E., Lewis, D. L., Johnson, R. L., Stone, M. H, and Kraemer, W. J. (1997). The effects of gamma-oryzanol supplementation during resistance exercise training. *International Journal of Sport Nutrition* 7, 318–329.
- Fuchs, C. S., Giovannucci, E. L., Colditz, G. A., Hunter, D. J., Stampfer, M. J., Rosner, B., Speizer, F. E., Willett, W. C. (1999). Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *The New England Journal of Medicine*, 340, 169–176.

- Galvao, L. C., Fernandes, M. I. M. and Sawamura, R. (1995). Lactose content and b-galactosidase activity in yoghurts, cheeses and cultured milk products in Brazil. *Arquivos de Gastroenterologia*, 32, 8–14.
- Garmiene, G., Saikauskienė, V. and Kulikauskienė, M. (2005). Lactic acid isomers in milk products. *Milchwiss*, 60, 259–262.
- Ghaleb, H. M., Hanafy, N. M. and El-Ghandour, A. A. (1998). Some trials to produce yoghurt of low cholesterol content (2): bacterial cholesterol assimilation. Proceedings in 7th Egyptian Conference of Dairy Science and Technology, Cairo, Egypt, 7-9 November, *Egyptian Society of Dairy Science*, pp. 251–260.
- Gilliland, S. E., Reilly, S. S., Kim, G. B. and Kim, H. S. (2002). Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacteria in a yoghurt-like product. *Journal of Food Science*, 67(8), 3091–3095.
- Gobetti, M. and Rossi, J. (1990). Milk prefermentation process in fresh cheese manufacture, 2: study of the effects of a continuous process on the quality and storage of the product. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 41, 455–471.
- Goodness Direct, 2013. Fruit and Flavored yogurt. Available at: http://www.goodnessdirect.co.uk/cgi-local/frameset/sect/CDYF-Fruit___Flavoured_Yogurt.html
- Goonaratna, C., & Sooriyarachchi, M. R. (2012). The effect of a herbal formulation on the incidence and severity of upper respiratory symptoms in healthy volunteers: an open-label, randomised controlled clinical trial. *Ceylon Medical Journal*, 57(1), 19-32.
- Gopal, A., Shah, P. and Roginski, H. (1996). Bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp. *Milchwiss*, 51(11), 619–623.
- Goulet, J., Saucier, L. and Moineau, S. (1989). Stimulation of the non-specific immune response of mice by fermented milks, in Chandan, R.C. (Ed.), *Yoghurt: Nutritional and Health Properties*, pp. 187–199.
- Graf, E. and Eaton, J. W. (1990). Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 8, 61–69.
- Gryta, M. (2002). The assessment of microorganism growth in the membrane distillation system. *Desalination*, 142, 79–88.
- Guerin-Danan, C., Chabanet, C., Pedone, C., Popot, F., Vaissade, P., Bouley, C., Szylit, O. and Andrieux, C. (1998). Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal microflora in healthy infants. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67(1), 111–117.
- Guler-Akin, M. B. and Akin, M. S. (2007). Effect of cysteine and different incubation temperature on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yoghurt made from goat's milk", *Food Chemistry*, 100(2), 788–793.
- Guyonnet, D., Chassany, O., Ducrotte, P., Picard, C., Mouret, M., Mercier, C. H. and Matuchansky, C. (2007). Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 26(3), 475–486.
- Hadadji, M. and Bensoltane, A. (2006). Growth and lactic acid production by *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* in goat's milk. *African Journal of Biotechnology*, 5(6), 505–509.

- Haddadin, M. S. Y., Awaisheh, S. S. and Robinson, R. K. (2004). The production of yoghurt with probiotic bacteria isolated from infants in Jordan. *Pakistan Journal Nutrition*, 3(5), 290-293.
- Hammes, W. P. and Vogel, R. F. (1995). The genus *Lactobacillus*. In: Wood, B. J. B., Holzapfel, W.H. (Eds.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, vol. 2. Blackie Academic and Professional, London, pp. 19–54.
- Hargrove, R. E. and Alford, J. A. (1978). Growth rate and feed efficiency of rats fed yoghurt and other fermented milks. *Journal of Dairy Science*, 61(1), 11–19.
- Harty, D. W., Oakey, H. J., Patrikakis, M., Hume, E. B. and Knox, K. W. (1994). Pathogenic potential of lactobacilli. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 179–189.
- Hassan, F. A. M., Helmy, W. A., Anab, A. K., Bayoumi, H. M. and Amer, H. (2010). Production of healthy yoghurt by using aqueous extract of garlic. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 18, 171–177.
- Hatakka, K., Savilahti, E., Pönkä, A., Meurman, J. H., Poussa, T., Näse, L., Saxelin, M. and Korpela, R. (2001). Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ*, 322, 1327.
- Hayes, M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. and Stanton, C. (2007a). Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part I: overview. *Biotechnology Journal*, 2(4), 426–434.
- Hayes, M., Stanton, C., Fitzgerald, G.F. and Ross, R.P. (2007b). Putting microbes to work: dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: bioactive peptide functions. *Biotechnology Journal*, 2(4), 435–449.
- Hegsted, M. and Windhauser, M. M. (1993). Reducing human heart disease risk with rice bran. *Louisiana Agriculture* 36, 22–23.
- Hekmat, S. and McMahon, D. J. (1997). Manufacture and quality of iron-fortified yogurt. *Journal of Dairy Science*, 80, 3114–3122.
- Hekmat, S. and Reid, G. (2006). Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition Research Reviews*, 26, 163–166.
- Heller, K. J (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 374S–379S.
- Higashio, K., Kikuchi, T. and Furuichi, E. (1978). The symbiosis between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yoghurt cultures. *XX International Dairy Congress*, E, 515–516.
- Higashio, K., Yoshioka, Y. and Kikuchi, T. (1977). Symbiosis in yoghurt cultures. I. Isolation and identification of a growth factor for *Streptococcus thermophilus* produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Agricultural Chemical Society of Japan*, 51, 203–208.
- Higash-Okai, K., Kanbara, K., Amano, K., Hagiwara, A., Sugita, C., Matsumoto, N. and Okai, Y. (2004). Potent antioxidative and antigenotoxic activity in aqueous extract of Japanese rice bran - association with peroxidase activity. *Phytotherapy Research*, 18b, 628–633.
- Hruskar, M., Vaheie, N. and Ritz, M. (1995). Aroma profiles and sensory evaluation of yoghurt during storage. *Mljekarstvo*, 45, 175–190.

- Hu, W., Wells, J. H., Tai-Sun, S. and Godber, J. S. (1996). Comparison of Isopropanol and Hexane for Extraction of Vitamin E and Oryzanols from Stabilized Rice Bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 1653–1656.
- Hussein, S. A. and Kebary, K. M. K. (1999). Improving viability of bifidobacteria by microentrapment of their effect on some pathogenic bacteria in stirred yoghurt. *Acta Alimentaria*, 28(2), 113–131.
- Ibrahim, S. A. and Bezkorovainy, A. (1993). Survival of bifidobacteria in the presence of bile salt. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(4), 351–354.
- Ip, C., Singh, M., Thonpson, H. J. and Scimeca, J. A. (1994). Conjugated linoleic acid suppress mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary glands in the rats. *Cancer Research*, 54, 1212–1215.
- Isleten, M. and Karagul-Yuceer, Y. (2006). Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt. *Journal of Dairy Science*, 89, 2865–2872.
- Jaafari, A. A., Farideh, T., Majd, H. A. and Hasan, J. (2005). Comparison of the effect of a probiotic yoghurt and ordinary yoghurt on serum cholesterol levels in subjects with mild to moderate hypercholesterolemia. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders*, 4(3), 43–48.
- Jackson, L. S. and Lee, K. (1992). Fortification of cheese with microencapsulated iron. *Cultured Dairy Products Journal*, 27, 4–7.
- Jiang, J., Bjorck, L. and Fonden, R. (1998). Production of conjugated linoleic acid by dairy starters. *Journal of Applied Microbiology*, 85(1), 95–102.
- Jin, Y. L. and Speers, A. R. (1998). Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Research International*, 31, 421–440.
- Kahlon, T. S., Chow, F. I., Chiu, M. M., Hudson, C. A. and Sayre, R. N. (1996). Cholesterol lowering by rice bran & rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. *Cereal Chemistry*, 73, 69–74.
- Kajander, K., Hatakka, K., Poussa, T., Färkkilä, M. and Korpela, R. (2005). A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: A controlled 6-month intervention. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 22, 387–394.
- Karel, S. F., Libicki, S. B. and Robertson, C. R. (1985). The immobilization of whole cells-engineering principles. *Chemical Engineering Science*, 40, 1321–1354.
- Kargupta, K., Datta, S. and Sanyal, S. K. (1998). Analysis of the performance of a continuous membrane bioreactor with cell recycling during ethanol fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 1, 31–37.
- Kasimoglu, A. and Akgun, S. (2004). Survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in the processing and post-processing stages of acidophilus yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(5), 563–568.
- Katasuno, S., Okada, M., Kawal, S., Hong, H., Kogune, S. and Nakazawa, Y. (2003). Effect of YP 97 yoghurt on the stool frequency, faecal characteristics and flora of human volunteer. *Journal of Intestinal Microbiology*, 17, 35–41.
- Kato, K. S., Mizuno, S., Umesaki, Y., Ishii, Y., Sugitani, M., Imaoka, A., Otsuka, M., Hasunuma, O., Kurihara, R., Iwasaki, A., Arakawa, Y. (2004). Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of

- bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 20, 1133–1141.
- Keoghane, J., Ryan, K. and Shanahan, F. (2009). Lactobacillus in the gastrointestinal tract. In: Ljungh, A., Wadström, T. (Eds.), *Lactobacillus Molecular Biology: From Genomics to Probiotics*. Caister Academic Press, Norfolk, pp. 169–181.
- Khedkar, J. N., Dave, J. M. and Sannabhadti, S. S. (1994). Associative relation of bifidobacteria with lactic cultures. *Indian Journal of Dairy Science*, 47(8), 692–694.
- Kiessling, G., Schneider, J. and Jahreis, G. (2002). Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(9), 843–849.
- Kim, H. J., Camilleri, M., McKinzie, S., Lempke, M. B., Burton, D. D., Thomforde, G. M. and Zinsmeister, A. R. (2003). A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 17, 895–904.
- Kim, K., Naveh, D. and Olson, N. F. (1985a). Continuous acidification of milk before UF by an immobilized cell bioreactor, 1: development of the bioreactor. *Milchwissenschaft*, 40, 605–607.
- Kim, K., Naveh, D. and Olson, N. F. (1985b). Continuous acidification of milk before UF by an immobilized cell bioreactor, 2: factors affecting the acid production of the bioreactor. *Milchwissenschaft*, 40, 645–649.
- Kirby, C. J., Brooker, B. E. and Law, B. A. (1987). Accelerated ripening of cheese using liposomes-encapsulated enzyme. *International Journal of Food Science and Technology*, 22, 355–375.
- Kishino, S., Ogawa, J., Omura, Y., Matsumura, K. and Shimizu, S. (2002). Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* bacteria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(2), 159–163.
- Kneifel, W., Holud, S. and Wirthmann, M. (1989). Monitoring of B-complex vitamins in yoghurt during fermentation. *Journal of Dairy Research*, 56(4), 651–656.
- Kneifel, W., Jaros, D. and Erhard, F. (1993). Microflora and acidification properties of yoghurt and yoghurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 18(3), 179–189.
- Kochhar, S. P. (2000). Stable and healthful frying oil for the 21st century. *INFORM*, 11, 642–647.
- Kolars, J. C., Levitt, M. D., Aouji, M. and Savaiano, D. A. (1984). Yogurt—An autodigesting source of lactose. *The New England Journal of Medicine*, 310, 1–3.
- Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I. M., Marchant, R. and Koutinas, A. A. (2004). Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*, 21, 377–397.
- Kourkoutas, Y., Psarianos, C., Koutinas, A. A., Kanellaki, M., Banat, I. M. and Marchant, R. (2002). Continuous whey fermentation using kefir yeast immobilized on delignified cellulosic material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2543–2547.
- Krasaekoopt, W., & Bhatia, S. (2012). Production of Yogurt Powder Using Foam-Mat Drying. *AU Journal of Technology* 15 (3), 166-171.

- Krauss, R. M., Blanche, P. J., Rawlings, R. S., Fernstrom, H. S. and Williams, P. T. (2006). Separate effects of reduced carbohydrate intake and weight loss on atherogenic dyslipidemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1025–1031.
- Kromhout, D., Bosschieter, E. B. and de Lezenne Coulander, C. (1982). Dietary fibre & 10-year mortality from coronary heart disease, cancer & all causes-The Zutphen Study. *Lancet*, 320, 518–522.
- Kruis, W.P., Fric, P., Pokrotnieks, J., Lukás, M., Fixa, B., Kascák, M., Kamm, M. A., Weismueller, J., Beglinger, C., Stolte, M., Wolff, C. and Schulze, J. (2004). Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*, 53, 1617–1623.
- Kurien, A., Puniya, A. K. and Singh, K. (2005). Selection of a prebiotic and *Lactobacillus acidophilus* for synbiotic yoghurt preparation. *Indian Journal of Microbiology*, 45(1), 45–50.
- Kwak, H. S., Ahn, J. J., Lee, K. W. and Suh, D. (1996). Foods and sensory attributes in yoghurt fermentation. *Food Biotechnology*, 5, 94–98.
- Kyriakopoulos, P. I. ed. (1995). *The cheese making in practice: Applicative technology of cheeses, cream, butter, traditional and modern*. Triena publishing, Athens.
- Laloy, E., Vuilleumard, J. C., Dufour, P. and Simard, R. (1998). Release of enzymes from liposomes during cheese ripening. *Journal of Controlled Release*, 54, 213–222.
- Lankaputhra, W. E. V. and Shah, N. P. (1995). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp. in the presence of acid and bile salts. *Cultured Dairy Products Journal*, 30(3), 2–7.
- Laraki, L., Pelletier, X. and Derby, G. (1991). Effects of dietary cholesterol & phytosterol overload on Wistar Rat plasma lipids. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 35, 221–225.
- Laraki, L., Pelletier, X., Mourot, J. and Derby, G. (1993). Effects of Dietary Phytosterols on Liver Lipids and Lipid Metabolism Enzymes. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 37, 129–133.
- Lebeau, T., Jouenne, T., Junter, G. A. (1998). Diffusion of sugars and alcohols through composite membrane structures immobilizing viable yeast cells. *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 434–438.
- Lee, K. H. (1992). Lactase activity in yoghurt and lactic acid bacteria. *Journal of the Korean Society of Food Nutrition*, 21, 61–63.
- Lee, W. J. and Lucey, J. A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(9), 1127–1136.
- Leroy, F. and De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67–78.
- Li, C., Song, J., Kwok, L. Y., Wang, J., Dong, Y., Yu, H., Hou, Q., Zhang, H. and Chen, Y. (2017). Influence of *Lactobacillus plantarum* on yogurt fermentation properties and subsequent changes during postfermentation storage. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 2512–2525.
- Lichtenstein, A. H., Ausman, L. M., Carrasco, W., Gualtieri, L. J., Jenner, J. L., Ordovas, J. M., Nicolosi, R. J., Goldin, B. R. and Schaefer, E. J. (1994). Rice bran oil consumption & plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb*, 14, 549–556.
- Lidbeck, A., Nord, C. E., Gustafsson, J. A. and Rafter, J. (1992). *Lactobacilli*, anticarcinogenic activities and human intestinal microflora. *European Journal of Cancer Prevention*, 1, 341–353.

- Lin, M. Y. and Young, C. M. (2000). Folate levels in culture of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 10(Nos 5-6), 409–413.
- Ling, W. H. and Jones, P. J. H. (1995). Dietary Phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sciences*, 57, 195–206.
- Liong, M. T. and Shah, N. P. (2006). Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *Journal of Dairy Science*, 88(1), 55-66.
- Loeser, E. and Litchfield, M. H. (1983). Review of recent toxicology studies on p-dichlorobenzene. *Food and Chemistry Toxicology*, 21, 825–832.
- Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B. (2001). Yoghurt as a probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11(Nos1-2), 1–17.
- Maity, T. K. and Misra, A. K. (2001). Antibacterial activity of soya-based fermented beverage (acido-soy milk) using *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* as starters. *Journal of Interacademia*, 5, 232–235.
- Managkoudakis, P. A., Miaris, C., Rojez, P., Manalis, N., Magkanari, F., Kalantzopoulos, G. and Tsakalidou, E. (2006). Production of traditional Greek yoghurt using lactobacillus strains with probiotic potential as starter adjuncts. *International Dairy Journal*, 16(1), 52–60.
- Mannetje, L. (1999). Introduction to the conference on silage making in the tropics. In: Mannetje, L. (Ed.), *Silage Making in the Tropics with Particular Emphasis on Smallholders*. Proceedings of the FAO Electronic Conference on Tropical Silage, 1 September–15 December, Rome, Italy.
- Margolis, S. and Dobs, A. S. (1989). Nutritional management of plasma lipid disorders. *The Journal of the American College of Nutrition*, 8, 33S–45S.
- Marshall, V. M. (1992). Inoculated ecosystems in a milk environment. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(S21), 127–135.
- Marteau, P. and Boutron-Ruault, M. C. (2002). Nutritional advantages of probiotics and prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87, S153–S157.
- Marteau, P. R., De Vrese, M., Cellier, C. J. and Schrezenmeir, J. (2001). Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 430–436.
- Marteau, P., Minekus, M., Havenaar, R. and Huis in't Veld, J. H. J. (1997). Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. *Journal of Dairy Science*, 80(6), 1031–1037.
- Martin, A. M. (1991). *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*, pp. 63–116. Elsevier Applied Science, London.
- Martinette, T. S., Marga, C. O., Hendrick, C. B., Frans, J. K., and Daan, K. (2008). Dietary fiber intake in relation to coronary heart disease and all-cause mortality over 40 yr: the Zutphen Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 1119–1125.
- Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez, R. and Vidal-Valverde, C. (2006). Influence of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 16(7), 768–774.

- Massa, S., Trovatelli, L. D. and Canganella, F. (1999). Survival of *Listeria monocytogenes* in yoghurt during storage at 48°C. *Letters in Applied Microbiology*, 13, 112–114.
- Masschelein, C. A. (1994). State-of-the-art and future developments in fermentation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 52, 28–35.
- Mater, D. D. G., Bretigny, L., Firmesse, O., Flores, M. J., Mogenet, A., Bresson, J. L. and Corthier, G. (2005). *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yoghurt. *FEMS Microbiology Letters*, 250(2), 185–187.
- Matsumoto, M., Hara, K. and Benno, Y. (2007). The influence of the immunostimulation by bacterial cell components derived from altered large intestinal microbiota on probiotic anti-inflammatory benefits. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 49(3), 387–390.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R. and Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12, 173–182.
- Matto, J., Fonden, R., Tolvanen, T., von Wright, A., Vilpponen-Salmela, T., Satokari, R. and Saarela, M. (2006). Intestinal survival and persistence of probiotic lactobacillus and Bifidobacterium strains administered in triple-strain yoghurt. *International Dairy Journal*, 16(10), 1174–1180.
- McBean, L. D. (1990). Yoghurt – its nutritional and health benefits. *Dairy Council Digest*, 61, 7–12.
- McCaskill, D. R. and Zhang, F. (1999). Use of rice bran oil in foods. *Food Technology*, 53, 50–54.
- McComas, K. A. Jr and Gilliland, S. E. (2003). Growth of probiotics and traditional yoghurt cultures in milk supplemented with whey protein hydrolysate. *Journal of Food Science*, 68(6), 2090–2095.
- McDonald, P., Henderson, N. and Heron, S. (1991). *The Biochemistry of Silage*, 2nd ed. Chalcombe Publications, Southampton.
- McDonough, F. E., Hitchins, A. D., Wong, N. P., Wells, P. and Bodwell, C. E. (1987). Modifications of sweet acidophilus milk to improve utilization by lactose-intolerant persons. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 45(3), 570–574.
- McFarland, L. V. (2006). Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(4), 812–822.
- Mckinley, M. C. (2005). The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 58(1), 1–12.
- Mehanna, A. S. and Hefnawy, S. A. (1990). A study to follow the chemical changes during processing and storage of zabady. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 18, 425–434.
- Mel'nikova, E. V. and Koroleva, N. S. (1975). Capacity of *Lbm. bulgaricum* and *Str. Thermophiles* starter to produce antibiotic substances. *Dairy Science Abstracts*, 37(7), 4329.
- Mellen, P. B., Walsh, T. F. and Herrington, D. M. (2008). Whole grain intake & cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18, 283–290.
- Merlo, B. (1999). Starters for life. *Latte*, 24, 22–28.
- Millette, M., Luquet, F. M., Ruiz, M. T. and Lacroix, M. (2008). Characterization of probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *Dairy Science and Technoogy*, 88, 695–705.

- Misra, A. K. and Kuila, R. K. (1994). Use of *Bifidobacterium bifidum* for the manufacture of bio-yoghurt and fruit bio-yoghurt. *Indian Journal of Dairy Science*, 47(3), 192–197.
- Mistler, M. and Breitenbücher, K. (1995). Continuous fermentation of beer with yeast immobilized on porous glass carriers. *Brewers Digest*, July:48–51.
- Moghadasian, M. H. and Frohlich, J. J. (1999). Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism & atherosclerosis: clinical & experimental evidence. *The American Journal of Medicine*, 107, 588–594.
- Morris, M. C, Evans, D. A., Bienias, J. L., Tangney, C. C., Bennett, D. A., Wilson, R. S., Aggarwal, N. and Schneider, J. (2003). Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 60, 940–946.
- Murti, T. W., Bouillanne, C., Landon, M. and Desmazeaud, M. J. (1993). Bacterial growth and volatile compounds in yoghurt type products from soymilk containing *Bifidobacterium* sp. *Journal of Food Science*, 58(1), 153–157.
- Nagao, A. (2004). Oxidative conversion of carotenoids to retinoids and other products. *Journal of Nutrition*, 134, 237S–240S.
- Nakamura, H. (1966). Effect of γ -oryzanol on hepatic cholesterol biosynthesis & fecal excretion of cholesterol metabolites. *Radioisotopes*, 25, 371–374.
- Nakatani, N., Tachibana, Y. and Kikuzaki, H. (2001). Establishment of a model substrate oil for antioxidant activity assessment by oil stability index method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 19–23.
- Nasrabadi, M. H., Aboutalebi, H., Ebrahimi, M. T. and Zahedi, F. (2011). The healing effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from Iranian traditional cheese on gastric ulcer in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5, 1446–1451.
- National Yogurt Association (2013a). Yogurt varieties. Available at: <http://aboutyogurt.com/index.asp?bid=27>
- National Yogurt Association (2013b). Live and Active Culture Yogurt. Available at: <http://www.aboutyogurt.com/Live-Culture>
- Navarro, J. M. and Durand, G. (1977). Modification of yeast metabolism by immobilization on to porous glass. *European Journal of Applied Microbiology*, 4, 243–254.
- Nedovic, V. A., Cukalovic, I. L., Bezbradica, D., Obradovic, B. and Bugarski, B. (2005). New porous matrices and procedures for yeast cell immobilisation for primary beer fermentation. In: *Proceedings of the 30th European Brewery Convention*, pp. 401–413. Prague.
- Nesaretnam, K., Stephen, R., Dils, R. and Darbre, P. (1998). Tocotrienols inhibit the growth of human breast cancer cells irrespective of estrogen receptor status. *Lipids*, 33, 461–469.
- Nicolosi, R. J., Austrain, L. M. and Hegsted, D. M. (1991). Rice bran oil lowers serum total and low density lipoprotein cholesterol and apo B levels in nonhuman primates. *Atherosclerosis*, 88, 133–142.
- Niedzielin, K., Kordecki, H. and Birkenfeld, B. (2001). A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13, 1143–1147.
- Nielsen, N. S., Debnath, D. and Jacobsen, C. (2007). Oxidative stability of fish oil enriched drinking yoghurt. *International Dairy Journal*, 17(12), 1478–85.

- Nighswonger, B. D., Brashears, M. M. and Gilliland, S. E. (1996). Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 79, 212–219.
- Nishimura, M., Ohkawara, T., Tetsuka, K., Kawasaki, Y., Nakagawa, R., Satoh, H., Sato, H. and Nishihira, J. (2016). Effects of yogurt containing *Lactobacillus plantarum* HOKKAIDO on immune function and stress markers. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(3), 275–280.
- Nobaek, S., Johansson, M. L., Molin, G., Ahrné, S. and Jeppsson, B. (2000). Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. *The American Journal of Gastroenterology*, 95, 1231–1238.
- Noh, D. O. and Gilliland, S. E. (1993). Influence of bile on cellular integrity and beta-galactosidase activity of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*, 76(5), 1253–1259.
- Noremark, M., Nilsson, L. and Waller, K. P. (2002). The effect of fermented milk products on growth of udder pathogenic bacteria. *Svensk Veterinartidning*, 54, 305–310.
- Norton, S. and D'Amore, T. (1994). Physiological effects of yeast immobilization: applications for brewing. *Enzyme and Microbial Technology*, 16, 365–375.
- O'Brien, D. J., Roth, L. H., McAloon, A. J. (2000). Ethanol production by continuous fermentation–pervaporation: a preliminary economic analysis. *Journal of Membrane Science*, 166, 105–111.
- O'Connor, D. L. (1994). Folate in goat milk products with reference to other vitamins and minerals: A review. *Small Ruminant Research*, 14, 143–149.
- O'Driscoll, K. F. (1976). Techniques of enzyme entrapment in gels. In: *Methods in Enzymology*, (ed. K. Mosbach), vol. XLIV, pp. 19–45. Academic, New York.
- O'Hara, A. M. and Shanahan, F. (2007). Mechanisms of action of probiotics in intestinal diseases. *The Scientific World Journal*, 7, 31–46.
- O'Mahony, L., Feeney, M., O'Halloran, S., Murphy, L., Kiely, B., Fitzgibbon, J., Lee, G., O'Sullivan, G., Shanahan, F. and Collins, J. K. (2005). Probiotic impact on microbial flora, inflammation and tumour development in IL-10 knockout mice. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 15, 1219–1225.
- O'May, G. A. and MacFarlane, G. T. (2005). Health claims associated with probiotics. In: Tamime, A. Y. (Ed.), *Probiotic Dairy Products*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp. 138–166.
- Ogato, T., Kingaku, M., Yaeshima, T., Teraguchi, S., Fukuwatari, Y., Ishibashi, N., Hayasawa, H., Fujisawa, T. and Iino, H. (1999). Effect of *B. longum* BB 536 Yoghurt administration on the intestinal environment of healthy adults. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 11(1), 41–46.
- Ogawa, J., Matsumura, K., Kishino, S., Omura, Y. and Shimizu, S. (2001). Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecanoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 67(3), 1246–1252.
- Oliveira R. (1997). Understanding adhesion: a means for preventing fouling. *Experimental Thermal and Fluid Science*, 14, 316–322.
- Ongol, M.P., Sawatari, Y., Ebina, Y., Sone, T., Tanaka, M., Tomita, F., Yokota, A. and Asano, K. (2007). Yoghurt fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* H⁺-ATPase-defective mutants exhibits

- enhanced viability of *Bifidobacterium breve* during storage. *International Journal of Food Microbiology*, 116(3), 358-366.
- Orthofer, F. T. (1996). Rice Bran Oil: Healthy Lipid Source. *Food Technology*, 50, 62–64.
- Ostlie, H. M., Helland, M. H. and Narvhus, J. A. (2003). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 87(1-2), 17–27.
- Oude Elferink, S. J. W. H., Dreiehuis, F., Gottschal, J. C. and Spoelstra, S. F. (1999). Silage fermentation processes and their manipulation. In: Mannetje, L. (Ed.), *Silage Making in the Tropics with Particular Emphasis on Smallholders*. Proceedings of the FAO Electronic Conference on Tropical Silage, 1 September-15 December, Rome, Italy.
- Ouwehand, A. C., Kirjavainen, P. V., Shortt, C. and Salminen, S. (1999). Probiotics: Mechanisms and established effects. *International Dairy Journal*, 9, 43–52.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S. and Isolauri, E. (2002). Probiotics: an overview on beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 279e289
- Parente, E. and Cogan, T. M. (2004). Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, vol. I. Chapman and Hall, London, pp. 123-148.
- Park, J. K. and Chang, H. N. (2000). Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnology Advances*, 18, 303–319.
- Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S. and Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 1171–1185.
- Passos, F. M. L. and Swaisgood, H. E. (1993). Development of a spiral mesh bioreactor with immobilized lactococci for continuous inoculation and acidification of milk. *Journal of Dairy Sciences*, 76, 2856–2867.
- Patel, A.M., Dave, J. M. and Sannabhadti, S. S. (1983). Acid production by yoghurt starters and their effect on proteolytic and lactose utilization in buffalo skim milk. *Food Science and Technology*, 20(6), 317–319.
- Patel, M. and Naik. S. N. (2004). Gamma-oryzanol from rice bran oil-A Review. *J Sci Ind Research* 63, 569–578.
- Pavan, S., Desreumaux, P. and Mercenier, A. (2003). Use of mouse models to evaluate the persistence, safety, and immune modulation capacities of lactic acid bacteria. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 10(4), 696–701.
- Payne, J. F., Morris, A. E. J. and Beers, P. J. (1998). Viability of bifidobacteria in fermented milk products, in Sadler, M. J. and Saltmarsh, M. (Eds), *Functional Foods: The Consumer, The Products and The Evidence*, pp. 143–148.
- Pazakova, J., Pipova, M., Nagy, J., Turek, P. and Burdova, O. (2001), “The influence of yoghurt on the survival of *Salmonella enteridis* and *Salmonella typhimurium*”, *Folia Veterinaria.*, Vol. 45 No. 3, pp. 118–121.
- Pedone, C. A., Bernabeu, A. O., Postaire, E.R., Bouley, C.F. and Reinert, P. (1999), “The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (Strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres”, *Int. J. Clin. Practice*, Vol. 53 No. 3, pp. 179–184.
- Pedrosa, M. C., Golner, B. B., Goldin, B. R., Barakat, S., Dallal, G. E. and Russell, R. M. (1995). Survival of yogurt-containing organisms and *Lactobacillus gasseri* (ADH) and their effect on bacterial enzyme activity in the

- gastrointestinal tract of healthy and hypochlorhydric elderly subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(2), 353–39.
- Pereira, M. A., O'Reilly, E., Augustsson, K., Fraser, G. E., Goldbourt, U., Heitmann, B. L., Hallmans, G., Knekt, P., Liu, S., Pietinen, P., Spiegelman, D., Stevens, J., Virtamo, J., Willett, W. C. and Ascherio, A. (2004). Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies. *Archives of Internal Medicine*, 164, 370–376.
- Pette, J.W. and Lolkema, H. (1950a). Acid production and aroma formation in yoghurt. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 4, 261–273.
- Pette, J.W. and Lolkema, H. (1950b). Yoghurt I. Symbiosis and antibiosis in mixed cultures of *Lb. bulgaricus* and *Str. Thermophiles*. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 4, 197–208.
- Pietinen, P., Malila, N., Virtanen, M., Hartman, T. J., Tangrea, J. A., Albanes, D. and Virtamo, J. (1999). Diet and the risk of colorectal cancer in a cohort of Finnish men. *Cancer Causes Control*, 10, 387–396.
- Piironen, V., Lindsay, D. G., Miettinen, T. A., Toivo, J. and Lampi, A. (2000). Plant sterols: biosynthesis, biological function & their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 939–966.
- Pilkington, P. H., Margaritia, A., Mensour, N. A. and Russell, I. (1998). Fundamentals of immobilized yeast cells for continuous beer fermentation: a review. *Journal of the Institute of Brewing* 104:19–31.
- Pirkul, T., Temiz, A and Erdem, Y. K. (1997). Fortification of yoghurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yoghurt quality. *International Dairy Journal*, 7, 547–552.
- Posati, L. P. and Orr, M. L. (1976). *Composition of foods. Dairy and egg products: Raw, processed, prepared*. Agric. Handbook No. 8. ARS-IUSDA, Washington, DC.
- Prasad, D. N. and Srinivas, K. (1987). Performance of *Leuconostoc* species in the manufacture of yoghurt. *Cultured Dairy Products Journal*, 22(3), 10–12.
- Prévost, H. and Diviès, C. (1987). Fresh fermented cheese production with continuous pre fermented milk by a mixed culture of mesophilic lactic streptococci entrapped in Ca-alginate. *Biotechnology Letters*, 11, 789–794.
- Prévost, H. and Diviès, C. (1988a). Continuous pre-fermentation of milk by entrapped yoghurt bacteria, 1: development of the process. *Milchwissenschaft*, 43, 621–625.
- Prévost, H. and Diviès, C. (1988b). Continuous pre-fermentation of milk by entrapped yoghurt bacteria, 2: data for optimization of the process. *Milchwissenschaft*, 43, 716–719.
- Prévost, H., Diviès, C. and Rousseau, E. (1985). Continuous yoghurt production with *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* entrapped in Ca-alginate. *Biotechnology Letters*, 7: 247–252.
- Ramakrishna, S. V. and Prakasham, R. S. (1999). Microbial fermentations with immobilized cells. *Current Science*, 77, 87–100.
- Ramon-Portugal, F., Silva, S., Taillandier, P. and Strehaiano, P. (2003). Immobilized yeasts: actual oenologic utilizations. *Wine Internet Technical Journal*, (1), (www.vinidea.net).

- Rasic, J. and Kurmann, J. (1978). Flavor and aroma in yoghurt. In: Rasic J, Kurmann J, editors. *Yoghurt. Scientific grounds, technology, manufacture and preparations*. Copenhagen, Denmark, Tech Dairy Publ House distributors, 90-98.
- Rastall, R. A., Gibson, G. R., Gill, H. S., Guarner, F., Klaenhammer, T. R., Pot, B., Reid, G., Rowland, I. R. and Sanders, M. E. (2005). Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiology Ecology*, 52, 145–152.
- Reddy, K. P., Shahani, K. M. and Kulkarni, S. M. (1976). B-complex vitamins in cultured and acidified yoghurts. *Journal of Dairy Science*, 59(2), 191–195.
- Reddy, V. P., Reddy, I. S. and Christopher, M. D. (2005). Influence of whey protein concentrate on the viability of *Lactobacillus acidophilus* in probiotic yoghurt. *Indian Journal of Dairy Science*, 58, 333–336.
- Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M. T. and McCormick, J. K. (2003). Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 658–672.
- Rembacken, B. J., Snelling, A. M., Hawkey, P. M., Chalmers, D. M. and Axon, A. T. (1999). Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: A randomized trial. *Lancet*, 354, 635–639.
- Renner, E. (1986). Nutritional aspects of fermented milk products. *Cultured Dairy Products Journal*, 21, 116–122.
- Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J., et al. (1996). Vegetable, fruit & cereal fiber intake & risk of coronary heart disease among men. *The Journal of the American Medical Association*, 275, 447–451.
- Rincon, F., Moreno, R., Zurera, G. and Amaro, M. (1994). Mineral composition as a characteristic for the identification of animal origin of raw milk. *Journal of Dairy Research*, 61, 151–154.
- Rogelj, I., Miklic-Anderlic, A. and Bogovic-Matijasic, B. (1998). The survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. during the storage of fermented milk. *Mljekarstvo*, 48(1), 27–36.
- Roseberg-Cody, E., Roso, R. P., Hussey, S., Ryan, C. A., Murphy, B. P., Fitzgerald, G. F., Devery, R. and Stanton, C. (2004). Mining the microbiota of the neonatal gastrointestinal tract for conjugated linoleic acid producing bifidobacteria. *Applied Environmental and Microbiology*, 70(8), 4635–4641.
- Rossi, J., Gobetti, M. and Soccio, P. (1990). Milk prefermentation process in fresh cheese manufacture, 1: study of immobilized lactic acid bacteria. *Scienza e Tecnica Lattiero Casearia*, 41, 401–413.
- Roumyan, N., Zapryanov, P., Kondareva, S. and Georgiev, G. (1996). On some aspects of a new fermented milk product medina. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 10, 86–89.
- Sadek, Z. L., Hosny, L. M. and Effat, B. A. (2000). Evaluation of antibacterial activity of some probiotic bacteria against *E. coli* O157:H7 and *Aeromonas hydrophila*. *Arab Universities Journal of Agricultural Research*, 8, 663–676.
- Sakai, K., Mishima, C., Tachiki, T., Kumagi, H. and Tochikura, T. (1987). Mortality of bifidobacteria in boiled yoghurt. *Journal of Fermentation Technology*, 65(2), 215–220.

- Salvador, A. and Fiszman, S. M. (2004). Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavoured set-type yoghurt during long storage. *Journal of Dairy Science*, 87(12), 4033–4041.
- Salvatierra, M., Molina, A., del Gamboa, M. M. and Arias, M. L. (2004). Evaluation of the effect of probiotic cultures on two different yogurt brands over a known population of *Staphylococcus aureus* and the production of thermonuclease. *Archivos Latinoamericanos de Nutrition*, 54(3), 298–302.
- Sampermans, S., Mortier, J., Soares, E. V. (2005). Flocculation onset in *Saccharomyces cerevisiae*: the role of nutrients. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 525–531.
- Sanz, T., Salvador, A., Jiménez and Fiszman, S. M. (2008). Yogurt enrichment with functional asparagus fibre. Effect of fibre extraction method on rheological properties, colour, and sensory acceptance. *European Food Research and Technology A*, 227, 1515–1521.
- Sarkar, S. (2008). Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt: A review. *British Food Journal*, 110(7), 717 – 740.
- Sarkar, S. and Misra, A. K. (1998). Selection of starter cultures for the manufacture of probiotic yoghurt. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 26, 295–307.
- Sarkar, S. and Misra, A. K. (2001). Characteristics of dietetic yoghurt. *Indian Journal of Dairy Bioscience*, 12, 76–79.
- Sarkar, S. and Misra, A. K. (2002). Effect of feeding dietetic yoghurt on the nutritional status and excretory pattern in rats and infants. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 30, 63–73.
- Sarkar, S. and Misra, A. K. (2006). Use of probiotic cultures in the manufacture of dietetic yoghurt for infants and children. *Indian Journal of Dairy Science*, 59(4), 213–220.
- Savino, F. E., Pelle, E., Palumeri, E., Oggero, R. and Miniero, R. (2007). *Lactobacillus reuteri* (American Type Culture Collection Strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic: A prospective randomized study. *Pediatrics*, 119, e124–130.
- Sayre, B. and Saunders, R. (1990). Rice bran & rice bran oil. *Lipid Technology*, 2, 72–76.
- Sazawal, S. G., Hiremath, G., Dhingra, U., Malik, P., Deb, S. and Black, R. E. (2006). Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: A meta-analysis of masked, randomised, placebocontrolled trials. *The Lancet Infectious Disease*, 6, 374–382.
- Schillinger, U., Guigas, C. and Holzapfel, W. H. (2005). In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like product. *International Dairy Journal*, 15, 1289–1297.
- Schmidt, E. B, Varming, K., Pedersen, J. O., Lervang, H. H., Grunner, N., Jersild, C. and Dyerberg, J. (1992). Long-term supplementation with n-3 fatty acids, II: effect on neutrophil and monocyte chemotaxis. *Scandinavia Journal of Clinical Laboratory Investigation*, 52, 229–36.
- Scott, J. A. and O'Reilly, A. M. (1995). Use of a flexible sponge matrix to immobilize yeast for beer fermentation. *Journal of the Americal Society of Brewing Chemists*, 53, 67–71
- Seegers, J. F. M. L. (2002). Lactobacilli as live vaccine delivery vectors: progress and prospects. *Trends in Biotechnology*, 12, 508-515.
- Sekhon, K. S., Dhillon, S. S., Singh, N. and Singh, B. (1997). Functional suitability of commercially milled rice bran in India for use in different food products. *Plant foods for human nutrition*, 50, 127–140.

- Serra, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., & Ferragut, V. (2009). Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 82-91.
- Serra, M., Trujillo, A. J., Jaramillo, P. D., Guamis, B., & Ferragut*, V. (2008). Ultra-high pressure homogenization-induced changes in skim milk: impact on acid coagulation properties. *Journal of Dairy Research*, 75(1), 69.
- Shah, N. P., Fedorak, R. N. and Jelen, P. J. (1992). Food consistency effects of quarg in lactose malabsorption. *International Dairy Journal*, 2(4), 257–269.
- Shahani, K.M. and Chandan, R.C. (1979). Nutritional and healthful aspects of cultured and culture containing dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 62(10), 1685–1694.
- Shakeri, M., Shahidi, F., Mortazavi, A., Mahallati, M. N. and Tossi, S. B. (2006). Evaluation of buttermilk effect on physico-chemical, microbial and organoleptic properties of probiotic yoghurt. *Agricultural Science and Technology*, 20, 185–195.
- Sharp, C. Q. and Kitchens, K. J. (1990). Using rice bran in yeast bread in a home baker. *Cereal Foods World* 35, 1021–1024.
- Sheil, B. F., Shanahan, F. and O'Mahony. L. (2007). Probiotic effects on inflammatory bowel disease. *Journal of Nutrition*, 137, 819S–824S.
- Shen, H. Y., Moonjai, N., Verstrepren, K. J. and Delvaux, F. R. (2003). Impact of attachment immobilization on yeast physiology and fermentation performance. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61, 79–87.
- Shimoni, N., Kaplan, M. and Keidar, S. (2003). Cardiovascular diseases in patients with high levels of plasma high-density lipoprotein: association with increased plasma oxidative state. *The Israel Medicine Association Journal*, 5, 702–705.
- Shori, A. B., & Baba, A. S. (2011a). Antioxidant activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by *Azadirachta indica*-yogurt. *Journal of Saudi Chemical Society of Agricultural Sciences*, 17(3), 295–301.
- Shori, A. B., & Baba, A. S. (2011b). *Cinnamomum verum* improved the functional properties of bioyogurts made from camel and cow milks. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(2), 101-107.
- Shori, A. B., & Baba, A. S. (2012). Viability of lactic acid bacteria and sensory evaluation in *Cinnamomum verum* and *Allium sativum*-bio-yogurts made from camel and cow milk. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 11(1), 50-55.
- Sidira, M., Santarmaki, V., Kiourtzidis, M., Argyri, A. A., Papadopoulou, O. S., Chorianopoulos, N., Tassou, C., Kaloutsas, S. and Kourkoutas, Y. (2017). Evaluation of immobilized *Lactobacillus plantarum* 2035 on whey protein as adjunct probiotic culture in yoghurt production. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 137–146.
- Sierra, S., Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Jiménez, J., Boza, J. and Xaus, J. (2005). Increased immune response in mice consuming rice bran oil. *European Journal of Nutrition*, 44, 509–516.

- Singh, J., Sharma, D. K. and Jain, L. K. (1982). Acid and flavour production and proteolytic activity of yoghurt starters. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 10, 125–128.
- Sodini, I., Corrieu, G., Boquien, C. Y., Latrille, E. and Lacroix, C. (1995). Process performance for continuous inoculation and acidification of milk with immobilized lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 78, 1407–1420.
- Sooch, B. S. and Singh, R. S. (2002). Characterization of cheese whey and its suitability for ethanol production by alginate entrapped yeast cells. *Journal of Food Science and Technology*, 39(1), 21–25.
- Srinivas, H., Prabha, R. and Shankar, P. A. (1997). Characteristics of cultured milks, yoghurt and probiotic yoghurts prepared from pre-refrigerated milks. *Journal of Food Science and Technology*, 34(2), 162–164.
- Strnad, M. and Babus, V. (1997). Anti-tumour actions of cultured milk products. *MljeKarstvo*, 47(3), 201–207.
- Szajewska, H.M., Kotowska, M., Mrukowicz, J. Z., Armańska, M. and Mikołajczyk, W. (2001). Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *Journal of Pediatrics*, 138, 361–365.
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (1999). *Yoghurt: science and technology*. Woodhead Pub Limited.
- Tamime, A. Y., Saarela, M., Korslund Søndergaard, A., Mistry, V. V. and Shah, N. P. (2005). Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. In: Tamime, A. Y. (Ed.), *Probiotic Dairy Products*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp. 39–72.
- Tanaka, T. and Hatanaka, K. (1992). Application of hydrostatic pressure to yoghurt to prevent its after acidification. *Journal of Japanese Society for Food Science and Technology*, 39(2), 173–177.
- Tannock, G. W., Bateup, J. M. and Jenkinson, H. F. (1997). Effect of sodium taurocholate on the in vitro growth of lactobacilli. *Microbial Ecology*, 33(2), 163–167.
- Tata, M., Bower, P., Bromberg, S., Duncombe, D., Fehring, J., Lau, V., Ryder, D. and Stassi P. (1999). Immobilized yeast bioreactor systems for continuous beer fermentation. *Biotechnology Progress*, 15, 105–113.
- Tejada-Simon, M. V., Lee, J. H., Ustunol, Z. and Pestka, J. J. (1999). Ingestion of yoghurt containing L. acidophilus and Bifidobacterium to potentiate immunoglobulin A responses to cholera toxin in mice. *Journal of Dairy Science*, 82(4), 649–660.
- The Dairy Council (2013). *The Nutritional Composition of Dairy Products*. London.
- The Pennsylvania Code (1992a). *Frozen yogurt*. *Common wealth of Pennsylvania*. 22 Pa.B. 5019 § 39.23. Available at: <http://www.pacode.com/secure/data/007/chapter39/s39.23.html>
- The Pennsylvania Code (1992b). *Frozen lowfat yogurt or lowfat frozen yogurt*. *Common wealth of Pennsylvania*. 22 Pa.B. 5019 § 39.24. Available at: <http://www.pacode.com/secure/data/007/chapter39/s39.24.html>
- Todorovic, M. and Salatic, Z. (1990). Inhibitory activity of yoghurt culture on the growth of the food microflora. *XXIII International Dairy Congress*, Montreal. Belgium.
- Tomeo, A. C., Geller, M., Watkins, T. R., Gapor, A. and Bierenbaum, M. L. (1995). Antioxidant effects of tocotrienols in patients with hyperlipidemia and carotid stenosis. *Lipid*, 30, 1179–1183.
- Tramer, J. (1973), Yoghurt cultures. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 26(1), 16–21.
- Truswell, A. S. (2002). Cereal grains & coronary heart diseases. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 1–14.
- USDA (2001). *USDA Specifications for Yogurt, Nonfat Yogurt and Lowfat Yogurt*. Dairy Programs. Agricultural Marketing Services. United States Department of Agriculture: Washington, DC.

- Ustunol, Z. and Gandhi, H. (2001). Growth and viability of commercial Bifidobacterium spp. in honey-sweetened skim milk. *Journal of Food Protection*, 64, 1775–1779.
- Van Loo, J., Clune, Y., Bennett, M. and Collins, J. K. (2005). The SYNCAN project: goals, set-up, first results and settings of the human intervention study. *British Journal of Nutrition*, 92, 91–98.
- Van Poppel, G. and Schaafsma, G. (1996). Cholesterol lowering by a functional yoghurt. *Food Ingredients Europe Conference Proceedings*, 12-14 November, Maarsse, Netherlands, pp. 31–32.
- Vanderhoof, J. A. (2008). Probiotics in allergy management. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 47, S38–40.
- Vanhanen, H. and Miettinen, T. A. (1992). Pravastatin & lovastatin similarly reduce serum cholesterol and its precursor levels in familial hypercholesterolaemia. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 42, 127–130.
- Vanhanen, H. T., Blomqvist S, Ehnholm, C., Hyvönen, M., Jauhiainen, M., Torstila, I. and Miettinen, T. A. (1993). Serum cholesterol, cholesterol precursors, and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apoE phenotypes during dietary sitostanol ester treatment. *The Journal of Lipid Research*, 34, 1535–1544.
- Varga, L. (2006). Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 272–275.
- Varga, L., Szigeti, J. and Gyenis, B. (2006). Influence of chicory inulin on the survival of microbiota of probiotic fermented milk during refrigerated storage. *Annals of Microbiology*, 56(2), 139–141.
- Varnam, A. H. and Sutherland, J. P. (1994). *Milk and Milk Products Technology, Chemistry and Microbiology*. Chapman and Hall, London, pp. 347–380.
- Verstrepen, K. J. and Klis, F. M. (2006). Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Molecular Microbiology*, 60, 5–15.
- Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Verachtert, H. and Delvaux, F. R. (2003). Yeast flocculation: what brewers should know. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 197–205.
- Vese, T., Marteau, P., Zidi, S., Pochart, P. and Rambaud, J. C. (1996). Digestion and tolerance of lactose from yoghurt and different semi-solid fermented dairy products containing *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria in lactose maldigesters – is bacterial lactase so important? *European Journal of Clinical Nutrition*, 50, 730–733.
- Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhardt, S. and Reinheimer, J. A. (2002). Influence of compounds associated with fermented dairy products and the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12(7), 579–589.
- Wachol-Drewek, Z. and Roczniak, B. (1982). Folic acid biosynthesis in yoghurt. *XII International Dairy Congress*, 1, 309–310.
- Wang, T., Hicks, K. B. and Moreau, R. (2002). Antioxidant activity of phytosterols, oryzanol & other phytosterol conjugates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 1201–1206.
- Warmi Ska-Radyko, I., Laniewsk-Trokenheim, L. and Modzelewska, M. (2003). Evaluation of antibacterial and fungistatic activity of yoghurt with addition of *Propionibacterium jensenii* and *Propionibacterium*

- acidipropionici* strains. *17th Forum for Applied Biotechnology. Proceedings Part I and Part II*, pp. 511–514.
- Wells, J. H. (1993). Utilization of rice bran & oil in human diets. *Louisiana Agriculture*, 36, 4–8.
- Werkman, S. H. and Carlson, S. E. (1996). A randomized trial of visual attention of preterm infants fed docosahexaenoic acid until nine months. *Lipids*, 31, 91-97.
- Whelton, S. P., Hyre, A. D., Pedersen, B., Yi, Y., Whelton, P. K. and He, J. (2005). Effect of dietary fibre intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Journal of Hypertension*, 23, 475–481.
- Whorwell, P. J., Altringer, L., Morel, J., Bond, Y., Charbonneau, D., O'Mahony, L., Kiely, B., Shanahan, F. and Quigley, E. M. (2006). Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *The American Journal of Gastroenterology*, 101, 1581–1590.
- Wiest, R., Chen, F., Cadelina, G., Groszmann, R. J. and Garcia-Tsro, G. (2003). Effect of *Lactobacillus* fermented diets on bacterial translocation and intestinal flora in experimental prehepatic portal hypertension. *Digestive Diseases and Sciences*, 48(6), pp. 1136–1141.
- Xanthopoulos, V., Petridis, D. and Tzanetakis, N. (2001). Characterization and classification of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated from traditional Greek yoghurts. *Journal of Food Science*, 66, 747–752.
- Xiao, J. Z., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu, A., Iwatsuki, K., Kokubo, S. and Hosono, A. (2003). Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Journal of Dairy Science*, 86(7), 2452–2461.
- Xu, S., Boylston, T. D. and Glatz, B. A. (2005). Conjugated linoleic acid content and organoleptic attributes of fermented milk products produced with probiotic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 9064–9072.
- Xu, Z. and Godber, J. S. (2001). Antioxidant activities of major components of gamma-oryzanol from rice bran using a linolenic acid model. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 465–469.
- Xu, Z., Hua, N. and Godber, J. S. (2001). Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols & γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-Azo-bis (2-methylpropionamidin) Dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2077–2081.
- Yaeshima, T., Takahashi, S., Matsumoto, N., Ishibashi, N., Hayasawa, H. and Iino, H. (1997). Effect of yoghurt containing *B. longum* BB 536 on the intestinal environment, fecal characteristics and defecation frequency: a comparison with standard yoghurt. *Bioscience*, 16, 73–77.
- Yamamah, G. A. N., Mehana, N., Salem, M., Abou-Zekri, M., Khashaba, O. and El-fiki, E. (2005). The role of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* as probiotics in controlling infantile watery diarrhea. *Egyptian Medical Journal*, 4, 29–34.
- Yamuchi, J., Takahara, J., Uneki, T. and Ofuki, T. (1981). Inhibition of LH secretion by gamma oryzanol in rat. *Hormone and Metabolic Research*, 13, 185.
- Yogurt Page (2012). Types of yogurt. Available at: <http://yogurtpage.com/types-of-yogurt>

- Zhao, H. and Zhang, L. (2006). Growth of probiotic bacteria in milk supplemented with protein hydrolysate. *China Dairy Industry*, 34, 16–18.
- Zhong, Y., Huang, C. Y., He, T. and Harmsen, H. M. (2006). Effect of probiotics and yogurt on colonic microflora in subjects with lactose intolerance. *Journal of Hygiene Research*, 35(5), 587–591.