



Σχολή Επιστημών Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Χρήση προβιοτικών μικροοργανισμών σε επιδόρπια
γάλακτος**

MSc Thesis

Probiotic microorganisms in dairy desserts

Διευθυντής

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

Ιωάννης Τσάκνης



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Ταχλιαμπούρη Φλώρα

Tachliampouri Flora

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/ NAME OF THE SUPERVISOR

Μπατρίνου Ανθιμία

Mpatrinou Anthimia

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2021



Faculty of Food Sciences
Department of Food Science and Technology

Master of Science
FOOD INNOVATION, QUALITY AND SAFETY

MSc THESIS

Probiotic microorganisms in dairy desserts

TACHLIAMPOURI FLORA

19027

flo-bouri@hotmail.gr

SUPERVISOR
BATRINOU ANTHIMIA

AIGALEO 2021

Έγινε δεκτή

Ο Διευθυντής του ΠΜΣ:

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία (master thesis) με τίτλο «Χρήση προβιοτικών μικροοργανισμών σε επιδόρπια γάλακτος» που παρουσιάστηκε από την **ΤΑΧΛΙΑΜΠΟΥΡΗ ΦΛΩΡΑ**, υποψήφιας για τον μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στην **ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ, ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ** και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ημερομηνία

Όνομα επιβλέποντος

Μπατρίνου Ανθιμία

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

Τσάκαλη Ευσταθία

Ημερομηνία

Όνομα μέλους επιτροπής

Κανέλλου Αναστασία

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Ταχλιαμπούρη Φλώρα του Σωτηρίου Νικήτα, με αριθμό μητρώου 19027 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Καινοτομία, Ποιότητα και Ασφάλεια Τροφίμων του Τμήματος Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

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

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

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

Θ/Η Δηλών/ούσα



Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright

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

Ταχλιαμούρη Φλώρα

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα, την επιβλέπουσα καθηγήτρια κυρία Μπατρίνου Ανθιμία για την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Οι γνώσεις, η εμπειρία, η επικοινωνία και η ανταπόκριση σε κάθε ερώτημα που έθετα ήταν άμεση, κατορθώντας να χτίσω βήμα βήμα την εργασία. Δεν μπορώ να παραλείψω σε αυτό το σημείο και τις επιβλέπουσες καθηγήτριες κυρία Καννέλου Αναστασία και κυρία Τσάκαλη Ευσταθία για την συμβολή τους στην μελέτη και διόρθωση της εργασίας.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου, ιδιαίτερα στο σύζυγο μου Μιχάλη, ο οποίος δεν έπαψε ποτέ να με στηρίζει σε όποια δυσκολία αντιμετώπισα. Επίσης να ευχαριστήσω τους γονείς μου και τα αδέρφια μου, για τις αξίες, την αγάπη και την υποστήριξή τους. Πολύ σημαντική, ήταν και η υποστήριξη και η υπομονή της κόρης μου, Ειρήνης που με καρτερία περίμενε να παίζουμε μαζί, κάθε φορά που ολοκλήρωνα ένα κομμάτι της εργασίας. Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την συνάδελφο και φίλη, Δέσποινα Καμπουροπούλου, για την υποστήριξη και την αγάπη της. Τέλος, θα ήθελα πάνω από όλα να ευχαριστήσω το Θεό, για τις ευλογίες και την πίστη που μου δίνει.

Αφιερώνεται στον σύζυγό μου, Μιχάλη, στην κόρη μου Ειρήνη και το νέο μέλος που έρχεται

Περίληψη

Οι σύγχρονοι καταναλωτές στρέφουν το ενδιαφέρον τους όλο και περισσότερο στην διατήρηση της υγείας τους μέσω της διατροφής, αναζητώντας οι ίδιοι τα οφέλη που προκύπτουν από την κατανάλωση προϊόντων που κυκλοφορούν στο εμπόριο. Τέτοια προϊόντα αποτελούν και αυτά που περιέχουν προβιοτικά ή πρεβιοτικά. Ως αποτέλεσμα, στην παγκόσμια αγορά υπάρχει σημαντική αύξηση της ζήτησης προϊόντων με προβιοτικά. Τα προβιοτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια ποικιλία προϊόντων, ωστόσο τα επιδόρπια γάλακτος είναι μια κατηγορία τροφίμων που παρουσιάζει αυξημένο ενδιαφέρον καθώς μπορεί να καταναλωθεί από όλες τις ηλικιακές ομάδες.

Επομένως, σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι να αναλύσει την σημασία που έχουν τα προβιοτικά στην υγεία του καταναλωτή καθώς και τη χρήση τους στα επιδόρπια γάλακτος. Για να επιτευχθεί ο παραπάνω σκοπός χρησιμοποιήθηκε η βάση PubMed για μελέτες που σχετίζονται με τα ευεργετικά αποτελέσματα των προβιοτικών στην ανθρώπινη υγεία. Επιπλέον, γίνεται αναφορά σε πλήθος μελετών που ερευνούν την προσθήκη προβιοτικών στα επιδόρπια γάλακτος, μελετώντας τη βιωσιμότητα του προβιοτικού στελέχους υπό την επίδραση των διαφόρων συστατικών, τα φυσικοχημικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά των προϊόντων για την αποδοχή τους από το καταναλωτικό κοινό, την τεχνολογία παραγωγής προβιοτικών και τέλος την ινουλίνη ως υποκατάστατο λίπους.

Από την ανασκόπηση που πραγματοποιήθηκε προέκυψαν τα ακόλουθα αποτελέσματα. Όσον αφορά τα οφέλη που προκύπτουν για την υγεία, το ερευνητικό ενδιαφέρον αυξάνεται ραγδαία για στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα οι ερευνητές δεν γνωρίζουν ποια προβιοτικά είναι χρήσιμα και ποια όχι. Επίσης, δεν γνωρίζουν την ποσότητα των προβιοτικών ή ποιος θα ήταν πιο πιθανό να ωφεληθεί. Εντούτοις, η προσπάθεια για την καταπολέμηση διαφόρων παθήσεων αυξάνεται. Η ενσωμάτωση των προβιοτικών στα επιδόρπια γάλακτος αποτελεί μια υποσχόμενη τάση. Ωστόσο, η βιωσιμότητα των προβιοτικών στελεχών απαιτεί περαιτέρω έρευνα για να επιτευχθεί η σταθερότητα των μικροοργανισμών αυτών με αποδεκτά φυσικοχημικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά. Τέλος, η χρήση του συστατικού ινουλίνης αποτελεί ένα από τα πιο κοινά χρησιμοποιούμενα συστατικά στα επιδόρπια με βάση το γάλα τόσο για τις τεχνολογικές ιδιότητες που παρουσιάζει όσο και για τα οφέλη που προσφέρει στην υγεία.

Συμπερασματικά, προκύπτει ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα στο τομέα των προβιοτικών τόσο για τη χρήση στους στα γαλακτοκομικά προϊόντα και κυρίως στα επιδόρπια γάλακτος όσο και για τα πιθανά οφέλη που μπορεί να προκύπτουν από την κατανάλωση τους.

Λέξεις – κλειδιά: προβιοτικά, επιδόρπια γάλακτος, LAB, *Bifidobacteria*, ισχυρισμοί υγείας

Abstract

Nowadays consumers are increasingly focusing on maintaining their health through diet, seeking themselves the benefits of consuming commercially available products. Such products are those that contain probiotics or prebiotics. As a result, there is a significant increase in demand for probiotic products in the global market. Probiotics can be used in a variety of products; however, milk desserts are a food category that is of great interest as they can be consumed by all age groups.

Therefore, the purpose of this thesis is to analyze the importance of probiotics in consumer health as well as their use in dairy desserts. To achieve this, the PubMed base was used for studies related to the beneficial effects of probiotics on human health. Also, reference is made to several studies investigating the addition of probiotics to milk desserts, studying the viability of the probiotic strain under the influence of various ingredients, physicochemical and sensory characteristics of products for their acceptance by the consumers, technology production of probiotics, and finally inulin as a fat substitute.

The following results that emerged from the review are being listed below. In terms of health benefits, research interest is growing rapidly for statistically significant results. In particular, researchers do not know which probiotics are useful and which are not. They also do not know the dosage of probiotics or who would be most likely to benefit. However, the effort to combat various diseases is increasing. The incorporation of probiotics into dairy desserts is a promising trend. However, the viability of probiotic strains requires further research to achieve the stability of these microorganisms with acceptable physicochemical and sensory characteristics. Finally, the use of the inulin ingredient is one of the most commonly used ingredients in milk-based desserts both for its technological properties and for its health benefits.

In conclusion, further research is needed in the field of probiotics both for their use in dairy products and especially in milk desserts and for the possible benefits that may arise from their consumption.

Key – words: probiotics, dairy desserts, LAB, *Bifidobacteria*, health claims

Πίνακας περιεχομένων

Δήλωση περί λογοκλοπής/Copyright	V
Ευχαριστίες	VII
Περίληψη	XI
Abstract	XIII
Εισαγωγή.....	1
1. Προβιοτικοί μικροοργανισμοί.....	4
1.1 Ορισμοί	4
1.1.1 Χαρακτηρισμός στελέχους.....	5
1.1.2 Ασφαλή για την προβλεπόμενη χρήση τους	6
1.1.3 Υποστηρίζονται από τουλάχιστον μία θετική κλινική δοκιμή στον άνθρωπο που διεξήχθη σύμφωνα με γενικά αποδεκτά επιστημονικά πρότυπα ή με τις συστάσεις και τις διατάξεις των τοπικών / εθνικών αρχών	8
1.1.4 Ζωντανά στο προϊόν με αποτελεσματική δόση καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος	9
1.2 Κυριότερα είδη.....	10
1.2.1 Βακτήρια Γαλακτικού Οξέως – Lactic Acid Bacteria (LAB).....	11
1.2.2 <i>Bifidobacterium</i>	13
1.2.3 <i>Bacillus</i>	14
1.2.4 Ζύμες.....	15
1.3 Κριτήρια επιλογής προβιοτικών.....	15
1.3.1 Ιδιότητες των προβιοτικών.....	16
1.3.2 Αξιολόγηση ασφάλειας ως προς τον ανθρώπινο οργανισμό.....	17
1.3.3 Βιομηχανικές απαιτήσεις και τεχνολογικές ιδιότητες.....	18
2. Επιδόρπια γάλακτος με προβιοτικά	20
2.1 Ορισμός.....	20
2.2 Προσθήκη προβιοτικών μικροοργανισμών στην παραγωγή επιδορπίων γάλακτος.....	20
2.3 Τεχνολογία παραγωγής προβιοτικών και καλλιεργειών εκκίνησης γαλακτοκομικών προϊόντων.....	21
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την προβιοτική βιωσιμότητα.....	23
2.4.1 Επίδραση των συστατικών, των προσθέτων και του οξυγόνου στην βιωσιμότητα των προβιοτικών.....	24
2.4.2 Συνδυασμοί προβιοτικών μικροοργανισμών.....	25
2.5 Προστατευτική επίδραση των συστατικών τροφίμων στα προβιοτικά βακτήρια.....	26
2.6 Αισθητήρια χαρακτηριστικά	27
2.7 Σχηματισμός πηκτής και ιδιότητες πρεβιοτικών πηκτωμάτων	29
2.8 Η ινουλίνη ως υποκατάστατο λίπους σε επιδόρπια γάλακτος χαμηλής λιποπεριεκτικότητας.....	30
4. Κλινική σημασία των προβιοτικών μικροοργανισμών στην υγεία	33
4.1 Γαστρεντερικές παθήσεις.....	34

4.1.1	Διάρροια του ταξιδιώτη – Traveler’s Diarrhea	34
4.1.2	Διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά – Antibiotic Associated Diarrhea (AAD)	34
4.1.3	Πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου	35
4.1.4	Οξεία διάρροια σε παιδιά	35
4.1.5	Πρόληψη της διάρροιας από το <i>Clostridium difficile</i>	35
4.1.6	Πρόληψη διάρροιας που προκαλείται από ακτινοβολία	35
4.1.7	Εξάλειψη του <i>Helicobacter pylori</i>	35
4.1.8	Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου – Inflammatory Bowel Disease (IBD)	36
4.1.9	Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου – Irritable Bowel Syndrome (IBS).....	36
4.1.10	Νεκρωτική εντεροκολίτιδα - Necrotizing enterocolitis (NEC).....	37
4.1.11	Δυσκοιλιότητα.....	37
4.1.12	Κολικός στα βρέφη – Infant colic	37
4.2	Μη γαστρεντερικές παθήσεις.....	37
4.2.1	Κατά του καρκίνου.....	37
4.2.2	Μείωση των επιπέδων χοληστερόλης.....	38
4.2.3	Κατά της κατάθλιψης και του άγχους.....	38
4.2.4	Κατά της παχυσαρκίας και του διαβήτη	39
4.2.5	Ανοσοδιεγερτική δραστηριότητα.....	39
4.2.6	Έκκριση λειτουργικών μορίων.....	39
4.2.7	Ηπατική εγκεφαλοπάθεια - Hepatic Encephalopathy (HE)	40
4.2.8	Δυσασπορρόφηση λακτόζης	40
4.2.9	Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος	40
4.2.10	Ατοπική δερματίτιδα – Atopic Dermatitis (AD).....	40
4.2.11	Λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού - Upper Respiratory Tract Infections (URTIs)	41
4.2.12	Αλλεργική ρινίτιδα - Allergic Rhinitis (AR).....	41
4.2.13	Σήψη στα βρέφη - Sepsis in Infants	41
4.2.14	Περιοδοντικές παθήσεις (Νόσος των ούλων) - Periodontal Diseases (Gum Disease)..	42
4.2.15	Τερηδόνα (φθορά των δοντιών) - Dental Caries (Tooth Decay).....	42
4.3	Μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών	42
5.	Νομοθετικές απαιτήσεις.....	45
5.1	Ισχυρισμοί υγείας.....	45
5.2	Δοσολογία	47
5.3	Ετικέτες προβιοτικών προϊόντων	48
6.	Συμπεράσματα – Μελλοντικές προοπτικές.....	50
	Αναφορές	52

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Ονοματολογία που χρησιμοποιείται για προβιοτικούς μικροοργανισμούς (Guarner et al., 2017).....	6
Πίνακας 2. Προβιοτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου (EFSA et al., 2020; Markowiak & Śliżewska, 2017).....	8
Πίνακας 3. Παραδείγματα τυπικών μεθόδων για προβιοτική απαρίθμηση (Binda et al., 2020).....	9
Πίνακας 4. Είδη και Προέλευση <i>Lactobacillus</i> (de Melo Pereira et al., 2018).....	13
Πίνακας 5. Είδη και προέλευση <i>Bifidobacteria</i> (Κωνσταντίνου, 2018).....	14
Πίνακας 6. Κριτήρια επιλογής των προβιοτικών στελεχών (EFSA, 2005; FAO & WHO, 2006)..	18
Πίνακας 7. Μηχανισμοί προβιοτικής αλληλεπίδρασης με το ξενιστή (Guarner et al., 2017).....	44

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1. Φυλογενετική σχέση των διαφόρων προβιοτικών βακτηριακών ομάδων μέσω 16S rRNA αλληλουχιών γονιδίου (de Melo Pereira et al., 2018).	11
Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση παραγωγής προβιοτικών για διατροφικά συμπληρώματα και καλλιέργειες εκκίνησης (Fenster et al., 2019).	23
Σχήμα 3. Δομή της ινουλίνης, $n = 2 - 60$ (Kalyani Nair et al., 2010).	31
Σχήμα 4. Μηχανισμοί αλληλεπίδρασης μεταξύ μικροβίων και προβιοτικών με τον ξενιστή (Guarner et al., 2017).	43

Συντομογραφίες

CFU: Colony Forming Unit

EFSA: European Food Safety Authority

FAO: Food and Agriculture Organization

FDA: U.S. Food and Drug Administration

LAB: Lactic Acid Bacteria

WHO/ΠΟΥ: World Health Organization/ Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

QPS: Qualified Presumption of Safety

GRAS: Generally Recognized as Safe

GIT: Gastro-intestinal Tract

ISAPP: International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

IPA: International Probiotic Association

NDA: Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens

CFIA: Canadian Food Inspection Agency

AESAN: Spanish Agency for Food Safety and Nutrition

CRN: Council for Responsible Nutrition

NCCIH: National Center for Complementary and Integrative Health

DP: Degree of Polymerization

FOS: Fructooligosaccharides

CAGR: Compound Annual Growth Rate

NHPR: Natural Health Products Regulations

Εισαγωγή

Σήμερα, οι καταναλωτές, ειδικότερα η νέα γενιά, στρέφουν το ενδιαφέρον τους όλο και περισσότερο στη διατήρηση της υγείας τους μέσω της διατροφής. Επίσης, είναι σε θέση να κάνουν τις δικές τους επιλογές τροφίμων, οι οποίες βασίζονται στη γνώση γύρω από τα τρόφιμα που ωφελούν και βελτιώνουν την υγεία. Ως εκ τούτου, η αγορά προβιοτικών καθοδηγείται από την έντονη ζήτηση για προϊόντα που βελτιώνουν τη διατροφή και το τρόπο ζωής. Επιπλέον, τα προβιοτικά αποτελούν μέρος των λειτουργικών τροφίμων και είναι γνωστά για τη βελτίωση της λειτουργικότητας του εντέρου, μαζί με άλλα οφέλη, όπως η ενίσχυση της ανοσίας. Αυτό έχει δημιουργήσει μια ολοένα αυξανόμενη και πιο ποικίλη αγορά τροφίμων. Από την μια πλευρά, ο διεθνής ανταγωνισμός στην αγορά γαλακτοκομικών προϊόντων και η αυξανόμενη ευαισθητοποίηση του κοινού σχετικά με τη σημασία της λειτουργικής κατανάλωσης τροφίμων αποτελούν νέες προκλήσεις για την καινοτομία στον τομέα των προβιοτικών. Για αυτό το λόγο, τα λειτουργικά προϊόντα διατροφής με δυνατότητα διαμόρφωσης του εντερικού μικροβιώματος μπορεί να οδηγήσουν σε μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση. Επομένως, η συμπλήρωση εναλλακτικών γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως τα επιδόρπια γάλακτος, με προβιοτικούς μικροοργανισμούς ή/και με πρεβιοτικές ίνες φαίνεται να είναι επιτυχής. Από την άλλη πλευρά, με τον ξαφνικό αντίκτυπο της πανδημίας COVID-19 τον τελευταίο χρόνο, η αγορά γνώρισε αύξηση της ζήτησης για προϊόντα που παρέχουν ανοσολογική υγεία, η οποία είναι πιθανό να επηρεάσει θετικά την αγορά προβιοτικών. Λόγω των παραπάνω παραγόντων, η προσφορά προβιοτικών προϊόντων έχει εκτοξευθεί, για την κάλυψη της αυξανόμενης ζήτησης. Έτσι, η παγκόσμια αγορά συνεχίζει να αυξάνεται, ειδικά για τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα συμπληρώματα διατροφής, ενώ σύμφωνα με τις προβλέψεις η ανάπτυξη της αγοράς προβιοτικών στην ΕΕ έχει επιβραδυνθεί, σε σύγκριση με άλλες αγορές¹. Το 2019, οι συνολικές πωλήσεις προβιοτικών συμπληρωμάτων, προβιοτικών γιαουρτιών και ξινών προϊόντων στην αγορά της ΕΕ ήταν ίσες με 10.217,6 εκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ. Η ΕΕ ήταν η κορυφαία παγκόσμια αγορά προβιοτικών πωλήσεων γιαουρτιού και συμπληρωμάτων έως το 2009, αλλά τώρα κατατάσσεται μόνο στην τρίτη θέση στις πωλήσεις, μετά την Κίνα και τις ΗΠΑ.

Η παγκόσμια αγορά προβιοτικών, τόσο για τα τρόφιμα όσο και για τα συμπληρώματα, συνεχίζει να αυξάνεται από το ένα έτος στο άλλο, επιβεβαιώνοντας τη θετική τάση. Το έτος 2018 έκλεισε στα 43,8 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ, το 2019 η αγορά έφτασε τα 44,8 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ και οι προβλέψεις δείχνουν αύξηση 4% σε ετήσια βάση για την περίοδο 2019-2024. Η παγκόσμια αγορά προβιοτικών προβλέπεται να αυξηθεί στα 69 δισεκατομμύρια δολάρια με CAGR 7,0% έως το 2023², ενώ προβλέπεται να καταγράψει CAGR 8,08% κατά την περίοδο πρόβλεψης 2020-2025³.

¹ IPA: <https://www.ipaeurope.org/legal-framework/market-data/>

² MarketsandMarkets, Global Probiotic Market Forecast to 2023, Dec 2018

³ <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/probiotics-market>

Οι ΗΠΑ όσον αφορά τα προβιοτικά συμπληρώματα αντιπροσωπεύει τη νούμερο ένα αγορά (2.254,2 εκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ το 2019) με πρόβλεψη ανάπτυξης 0,9% για την περίοδο 2019-2024. Η Ασία-Ειρηνικός επιβεβαίωσε επίσης μια θετική εξέλιξη το 2019 με συνολικές πωλήσεις 1.591,6 εκατομμυρίων δολαρίων. Η Κίνα είναι επίσης μια μεγάλη αγορά προβιοτικών συμπληρωμάτων (620,4 εκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ) με προβλεπόμενη αύξηση 11,2% για την περίοδο 2019-2024.

Η ευρωπαϊκή αγορά προβιοτικών συμπληρωμάτων το 2019 αποτέλεσε σχεδόν το ένα τρίτο της παγκόσμιας κατανάλωσης. Συνολικά, ο αναμενόμενος ρυθμός ανάπτυξης για την περίοδο 2019-2024 στην Ευρώπη είναι χαμηλότερος σε σύγκριση με τον προβλεπόμενο CAGR 4% στον κόσμο. Η Ιταλία Γερμανία και Γαλλία αντιπροσωπεύουν από κοινού το 45,5% των πωλήσεων της ΕΕ. Η Ιταλία αποτελεί την μεγαλύτερη αγορά προβιοτικών συμπληρωμάτων στην Ευρώπη και το δεύτερο μεγαλύτερο μέγεθος αγοράς στον κόσμο, δεύτερη μετά τις ΗΠΑ, αλλά ο ρυθμός ανάπτυξης έχει επιβραδυνθεί τα τελευταία 5 χρόνια και θα συνεχίσει να είσαι χαμηλή.

Σχετικά με τα λειτουργικά προϊόντα που περιέχουν προβιοτικά. Η παγκόσμια αγορά έφτασε τα 31.107,9 εκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ το 2019, εκ των οποίων 5432,4 εκατομμύρια δολάρια (17,5%) είναι οι συνολικές πωλήσεις στην Ευρώπη. Η συνολική αγορά αυτών των προϊόντων προβλέπεται να αυξηθεί για την περίοδο 2019-2024, με την ανάπτυξη να καθοδηγείται από την Ασία-Ειρηνικό. Οι προβλέψεις για τις ΗΠΑ και τη Δυτική Ευρώπη δείχνουν μείωση (αντίστοιχα -2,1% για τη Βόρεια Αμερική και -0,3% για τη Δυτική Ευρώπη). Η Ανατολική Ευρώπη εξακολουθεί να παρουσιάζει θετική τάση, ακόμη και αν οι όγκοι είναι περιορισμένοι (1,156,1 εκατομμύρια δολάρια το 2019). Η Ισπανία, το 2019 αντιπροσωπεύει την πρώτη ευρωπαϊκή αγορά, ακολουθούμενη από τη Γερμανία, την Ιταλία και τη Γαλλία.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η ζήτηση για προϊόντα με προβιοτικά αυξάνεται συνεχώς. Σύμφωνα με μελέτες, οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί και οι πρεβιοτικές ίνες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν επιτυχώς σε διαφορετικά τρόφιμα με βάση το γάλα, όπως το γιαούρτι, το τυρί, το παγωτό, τα ποτά, τα επιδόρπια και άλλα. Τα γαλακτοκομικά επιδόρπια, θεωρούνται ενδιαφέρουσες επιλογές για την ενσωμάτωση αυτών των λειτουργικών συστατικών για διάφορους λόγους, οι οποίοι θα συζητηθούν παρακάτω.

Τα επιδόρπια γάλακτος με προβιοτικά είναι η κινητήρια δύναμη στην αναπτυσσόμενη κατηγορία γαλακτοκομικών προϊόντων με προβιοτικά και μπορούν να καταναλωθούν ευρέως από όλες τις ηλικιακές ομάδες. Ωστόσο, η μεγάλη κατανάλωση παρατηρείται λόγω της αυξανόμενης ευαισθητοποίησής τους σχετικά με την υγεία και την ευεξία, η οποία επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον τρόπο κατανάλωσής τους. Αυτό δείχνει την ευαισθητοποίηση των ανθρώπων σχετικά με τα οφέλη των προβιοτικών. Επιπλέον, η αγορά επιδορπίων γάλακτος έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια και ένα ευρύ φάσμα έτοιμων για κατανάλωση επιδορπίων γάλακτος είναι διαθέσιμο στον καταναλωτή.

Επειδή οι καταναλωτές προσελκύονται όλο και περισσότερο σε πιο υγιεινά και λειτουργικά προϊόντα, ορισμένα είδη επιδόρπιων γάλακτος έχουν δείξει μεγάλο δυναμικό αγοράς. Επομένως, θα μπορούσαν να διερευνηθούν επιδόρπια γαλακτοκομικών προϊόντων με μειωμένα λιπαρά, κυρίως όσον αφορά τις κατάλληλα προγραμματισμένες αλλαγές στο προφίλ λίπους και την αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, διαιτητικές και φυτικές ίνες, επειδή τα επιδόρπια με χαμηλό λίπος και λειτουργικά οφέλη είναι ελκυστικά για τους καταναλωτές.

Αυτή η εργασία επικεντρώνεται σε σημαντικές μελέτες που δημοσιεύθηκαν τα τελευταία χρόνια σχετικά με την ανάπτυξη προβιοτικών επιδορπίων γάλακτος και παρουσιάζει τις κύριες προκλήσεις που εμπλέκονται σε αυτόν τον τομέα. Επίσης, αναλύει την επίδραση των προβιοτικών σε διάφορες παθήσεις. Τέλος, γίνεται αναφορά στα νομοθετικά πλαίσια σχετικά με τη χρήση ισχυρισμών υγείας, τις δοσολογίες και την επισήμανση που αφορούν τα προβιοτικά προϊόντα.

1. Προβιοτικοί μικροοργανισμοί

1.1 Ορισμοί

Σύμφωνα με τον ευρέως αναγνωρισμένο ορισμό του FAO / WHO (2001), που αναθεωρήθηκε από τους (Hill et al., 2014), τα προβιοτικά είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί που παρέχουν οφέλη για την υγεία του ξενιστή όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες. Τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά είναι φυσιολογικά ενεργά συστατικά που έχουν σημαντικό ρόλο στη ζύμωση του εντέρου επηρεάζοντας τη σύνθεση των μικροβίων και τη ζύμωση των μεταβολιτών, συμβάλλοντας στις τοπικές και συστηματικές επιδράσεις στον άνθρωπο (Cardarelli et al., 2007; Saulnier et al., 2009).

Τα πρεβιοτικά είναι διατροφικές ουσίες που αποτελούνται κυρίως από μη άμυλους πολυσακχαρίτες και ολιγοσακχαρίτες. Τα περισσότερα πρεβιοτικά χρησιμοποιούνται ως συστατικά τροφίμων όπως για παράδειγμα σε μπισκότα, δημητριακά, σοκολάτα, και γαλακτοκομικά προϊόντα. Τα κοινώς γνωστά πρεβιοτικά είναι η ολιγοφρουκτόζη, η ινουλίνη, οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες, η λακτουλόζη και οι ολιγοσακχαρίτες μητρικού γάλακτος. Η λακτουλόζη είναι ένας συνθετικός δισακχαρίτης που χρησιμοποιείται ως φάρμακο για τη θεραπεία της δυσκοιλιότητας και της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Η πρεβιοτική ολιγοφρουκτόζη βρίσκεται φυσικά σε πολλά τρόφιμα, όπως σιτάρι, κρεμμύδια, μπανάνες, μέλι, σκόρδο και πράσα. Η ζύμωση της ολιγοφρουκτόζης στο παχύ έντερο οδηγεί σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών επιδράσεων, όπως για παράδειγμα η αύξηση του αριθμού των *Bifidobacteria* στο παχύ έντερο. Η αύξηση των εντεροβακτηριδίων *Bifidobacteria* στο παχύ έντερο θεωρείται ότι ωφελεί την ανθρώπινη υγεία παράγοντας ενώσεις για την αναστολή πιθανών παθογόνων, μειώνοντας τα επίπεδα αμμωνίας στο αίμα και παράγοντας βιταμίνες και πεπτικά ένζυμα (Buriti & Saad, 2014).

Τα συνβιοτικά είναι κατάλληλοι συνδυασμοί πρεβιοτικών και προβιοτικών (Arvanitoyannis & Van Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005). Ένα συνβιοτικό προϊόν ασκεί τόσο πρεβιοτικό όσο και προβιοτικό αποτέλεσμα. Σύμφωνα με τους Kolida και Gibson αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τα συνβιοτικά τρόφιμα, το πρεβιοτικό να υποστηρίζει επιλεκτικά την ανάπτυξη του προβιοτικού συστατικού (Kolida & Gibson, 2011).

Ο ορισμός των προβιοτικών FAO / WHO μπορεί να μεταφραστεί σε τέσσερα απλά κριτήρια που επιτρέπουν σε κάποιο να συμπεράνει εάν συγκεκριμένα στελέχη μικροοργανισμών θεωρούνται προβιοτικά και μπορεί χρησιμοποιηθούν στα τρόφιμα και ως συμπληρώματα διατροφής. Τα προβιοτικά στελέχη πρέπει

- (i) να χαρακτηρίζονται επαρκώς (γένος, είδος, στέλεχος)
- (ii) να είναι ασφαλή για την προβλεπόμενη χρήση τους
- (iii) να υποστηρίζονται από τουλάχιστον μία θετική κλινική δοκιμή στον άνθρωπο που διεξήχθη σύμφωνα με γενικά αποδεκτά επιστημονικά πρότυπα ή σύμφωνα με τις συστάσεις και τις διατάξεις των τοπικών / εθνικών αρχών, κατά περίπτωση, και

- (iv) να είναι ζωντανά στο προϊόν με αποτελεσματική δόση καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος.

Η ευρεία υιοθέτηση αυτών των κριτηρίων είναι απαραίτητη για να διασφαλιστεί η ορθή χρήση της προβιοτικής έννοιας σε επιστημονικές δημοσιεύσεις, σε ετικέτες προϊόντων σύμφωνα με το νομοθετικό πλαίσιο (Binda et al., 2020).

1.1.1 Χαρακτηρισμός στελέχους

Τα προβιοτικά στελέχη πρέπει να ονομάζονται σύμφωνα με την ισχύουσα βακτηριακή ονοματολογία, βάσει του διεθνούς κώδικα ονοματολογίας (Parker et al., 2019). Επίσης, είναι διαθέσιμη μια ενημερωμένη λίστα με ονοματολογία προκαρυωτικών οργανισμών⁴ (Parte, 2018). Ο σωστός προσδιορισμός στελέχους αποτελείται από δύο κύρια μέρη: το επίσημο όνομα γένους, είδους (και υποείδους), σύμφωνα με τους ονοματολογικούς κανόνες, ακολουθούμενη από μια ονομασία στελέχους που θα μπορούσε να είναι ο αριθμός καταλόγου μιας αναγνωρισμένης συλλογής καλλιέργειας ή μια εμπορική ονομασία στελέχους (**Πίνακας 1**) Για το σκοπό αυτό, το στέλεχος κατατάσσεται σε μια αναγνωρισμένη συλλογή καλλιέργειας, για ασφαλή φύλαξη έτσι ώστε το στέλεχος να είναι διαθέσιμο για ερευνητικούς σκοπούς, και όχι απαραίτητα για εμπορική χρήση. Η χρήση πολλαπλών χαρακτηρισμών στελέχους για ένα μόνο στέλεχος πρέπει να αποφεύγεται καθώς αυτό προκαλεί σύγχυση. Οι παρασκευαστές πρέπει επίσης να διασφαλίζουν τη διατήρηση της γενετικής καθαρότητας των στελεχών τους, έτσι ώστε τα προϊόντα να περιέχουν το ίδιο στέλεχος με τις ίδιες ιδιότητες με την πάροδο του χρόνου.

Οι τεχνολογίες αναγνώρισης ποικίλλουν ανάλογα με τον οργανισμό και αναδύονται με την πάροδο του χρόνου νέες. Σήμερα αρκετές μοριακές μέθοδοι είναι ευρέως εφαρμόσιμες, καθώς οι φαινοτυπικές τεχνικές από μόνες τους δεν επαρκούν για την κατάλληλη ταυτοποίηση. Η αλληλουχία του ριβοσωμικού DNA 16S είναι ένας πολύ γνωστός και αξιόπιστος τρόπος για την ταυτοποίηση των ειδών, με την προϋπόθεση ότι χρησιμοποιούνται αξιόπιστες αλληλουχίες αναφοράς.

Η αναγνώριση πρέπει κατά προτίμηση να γίνεται από διαπιστευμένα εργαστήρια, τα οποία μπορούν να έχουν πρόσβαση στις απαιτούμενες βάσεις δεδομένων αναφοράς και να χρησιμοποιούν τρέχουσες επικυρωμένες και βαθμονομημένες μεθόδους και εξοπλισμό. Θα πρέπει επίσης να τονιστεί ότι για τα προβιοτικά μίγματα, είναι σημαντικό κάθε μεμονωμένο στέλεχος στο μείγμα να αναγνωρίζεται σωστά, ειδικά όταν κάθε στέλεχος μπορεί να είναι επιλέξιμο για κατάσταση ως προβιοτικό. Ο χαρακτηρισμός των προβιοτικών στελεχών πρέπει να υποστηρίζει την προβιοτική τους δράση. Ενώ απαιτούνται κλινικά αποτελέσματα για έναν ισχυρισμό προβιοτικής λειτουργικότητας, η δοκιμή για χαρακτηριστικά που θεωρούνται σημαντικά για την προβιοτική αποτελεσματικότητα θα μπορούσε να είναι ενδεικτικοί πιθανοί μηχανισμοί που διέπουν τα παρατηρούμενα κλινικά ευρήματα. Τέτοιοι χαρακτηρισμοί θα μπορούσαν να περιλαμβάνουν

⁴ <http://www.bacterio.net/>

επιβίωση σε σχετικές περιοχές του σώματος, παραγωγή γαλακτικού οξέος ή άλλων λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας, προσκόλληση σε βλέννα ή εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, αλληλεπίδραση με ανθρώπινα ανοσοκύτταρα, αντοχή σε πεπτικά ένζυμα, αντιβακτηριακή δραστηριότητα χολής ή οξέος μέσω ανταγωνιστικού αποκλεισμού ή παραγωγή βακτηριοκινών ή υπεροξειδίου του υδρογόνου.

Πρόσφατες μετα-αναλύσεις επιβεβαίωσαν ότι τα διαθέσιμα στοιχεία για ορισμένες επιπτώσεις στην υγεία συνδέονται αυστηρότερα με συγκεκριμένα στελέχη προβιοτικών (McFarland et al., 2018; Akker et al., 2018). Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα οφέλη για την υγεία μπορεί να μην περιορίζονται σε συγκεκριμένα στελέχη, αλλά μπορούν να μοιραστούν μεταξύ ευρύτερων ταξινομικών ομάδων (Sanders et al., 2018). Αυτή η συνάρτηση μπορεί να συνδέεται με μία μόνο ιδιότητα του προβιοτικού μικροβίου. Ένα παράδειγμα είναι η παρουσία του ενζύμου λακτάσης στην περίπτωση διαμεσολάβησης συμπτωμάτων δυσανεξίας στη λακτόζη. Η παρουσία ενός τέτοιου χαρακτηριστικού μπορεί να είναι είδος και όχι ειδικό για το στέλεχος. Ακόμη και στην περίπτωση ενός οφέλους για την υγεία που λειτουργεί ως κοινό χαρακτηριστικό, το προβιοτικό πρέπει να προσδιορίζεται σε επίπεδο στελέχους (Binda et al., 2020).

Πίνακας 1. Ονοματολογία που χρησιμοποιείται για προβιοτικούς μικροοργανισμούς (Guarner et al., 2017).

Γένος	Είδος	Υποείδος	Αναγνωριστικό στελέχους	Διεθνής ονομασία στελέχους	Ψευδώνυμο στελέχους	Ονομασία προϊόντος
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	-	GG	ATTC 53103	LGG	Culturelle
<i>Bifidobacterium</i>	<i>animalis</i>	<i>Lactis</i>	DN-173 010	CNCM I-2494	<i>Bifidus regularis</i>	Activia yogurt
<i>Bifidobacterium</i>	<i>longum</i>	<i>longum</i>	35624	NCIMB 41003	<i>Bifantis</i>	Align

ATTC: American Type Culture Collection, CNCM: National Collection of Microorganisms Cultures, NCIMB: National Collection of Industrial and Marine Bacteria

1.1.2 Ασφαλή για την προβλεπόμενη χρήση τους

Τα προβιοτικά υπόκεινται σε κανονισμούς που περιέχονται στον γενικό νόμο για τα τρόφιμα, σύμφωνα με τον οποίο θα πρέπει να είναι ασφαλή για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων. Πολλά είδη βακτηρίων γαλακτικού οξέος, *Bifidobacteria* και ζυμών, που αντιπροσωπεύουν τα περισσότερα από τα εμπορικά διαθέσιμα προβιοτικά στελέχη, κρίνονται ασφαλή για χρήση σε τρόφιμα και συμπληρώματα (**Πίνακας 2**). Αυτό συμβαίνει επειδή αυτοί ανήκουν σε γένη και είδη με

τεκμηριωμένη ασφαλή χρήση, είτε ως προβιοτικά είτε ως καλλιέργειες εκκίνησης (Bourdichon et al., 2018).

Οι παρασκευαστές προβιοτικών έχουν την πλήρη ευθύνη για την χρήση τους στα τρόφιμα και στα συμπληρώματα διατροφής καθώς πρέπει να πληρούν τα ισχύοντα πρότυπα ασφαλείας. Αποδεικνύοντας ότι ένα συγκεκριμένο προβιοτικό είναι ασφαλές για τη χρήση του στα τρόφιμα και τα συμπληρώματα διατροφής απαιτεί, σωστή αναγνώριση του στελέχους και περαιτέρω τεκμηρίωση της ασφαλούς χρήσης μέσω ιστορικών στοιχείων ή πειραμάτων. Τα ιστορικά δεδομένα της ασφαλούς χρήσης μπορεί να είναι σημαντικός παράγοντας για τη συνολική αξιολόγηση της ασφάλειας για την προοριζόμενη χρήση. Η ασφάλεια πρέπει να καθορίζεται βάσει επιστημονικών αρχών, συμπεριλαμβανομένης της διεξαγωγής κατάλληλων μελετών φάσης 1 (Brodmann et al., 2017).

Η ασφάλεια του στελέχους αξιολογείται κατά περίπτωση και πρέπει να συμμορφώνεται με τις απαιτήσεις ασφαλείας όπως ορίζεται από την εθνική / παγκόσμια ρυθμιστική αρχή όπως συζητείται παρακάτω. Πριν από το 2002, δεν υπήρχε διεθνής κανονισμός που να επιβεβαίωνε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των προβιοτικών μικροοργανισμών. Έτσι, ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών / Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (FAO / ΠΟΥ) δημοσίευσε τις «Οδηγίες για την Αξιολόγηση των Προβιοτικών στα Τρόφιμα», καθιέρωσε πρότυπα ασφαλείας και αποτελεσματικότητας για τα προβιοτικά (Araya et al., 2002). Σε αυτήν την οδηγία προτείνονται διάφορα κριτήρια για την επιλογή των προβιοτικών, συμπεριλαμβανομένης της αντοχής σε δυσμενείς καταστάσεις που επιβάλλει το ανθρώπινο σώμα, ικανότητα πρόσφυσης επιθηλίου, αντιμικροβιακή δραστηριότητα και αξιολόγηση ασφαλείας.

Στις ΗΠΑ, οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται για κατανάλωση θα πρέπει να έχουν την κατάσταση GRAS (Generally Recognized as Safe, Γενικά Αναγνωρισμένο ως Ασφαλές), η οποία ρυθμίζεται από τον FDA (Food and Drug Administration). Στην Ευρώπη, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων EFSA έχει διατηρήσει καταλόγους ειδών που θεωρούνται ασφαλή για κατανάλωση από τον άνθρωπο στα τρόφιμα βάσει της έννοιας «Πιστοποιημένο Τεκμήριο Ασφάλειας» (QPS: Qualified Presumption of Safety) από το 2007 (Barlow et al., 2017). Η έννοια του QPS περιλαμβάνει ορισμένα πρόσθετα κριτήρια της αξιολόγησης ασφαλείας των βακτηριακών συμπληρωμάτων, συμπεριλαμβανομένου του ιστορικού της ασφαλούς χρήσης και της απουσίας του κινδύνου απόκτησης αντοχής στα αντιβιοτικά (Anadón et al., 2006; Gaggia et al., 2010). Ο κατάλογος είναι μια λογική βάση για τον καθορισμό της ασφαλείας των στελεχών τροφίμων που ανήκουν σε είδος QPS, υπό την προϋπόθεση ότι διεξάγεται επίσης δοκιμή ειδική για το στέλεχος που περιγράφεται παρακάτω. Ο κατάλογος προκύπτει από ιστορικά δεδομένα, από τακτική παρακολούθηση της βάσης δεδομένων και μέσω εκτεταμένων επιστημονικών κριτικών βιβλιογραφίας, που εφαρμόζονται σε ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών που βρίσκονται παραδοσιακά στην τροφική αλυσίδα (EFSA et al., 2020b). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το πεδίο εφαρμογής του QPS είναι η κατανάλωση τροφίμων από τον γενικό, υγιή πληθυσμό και δεν λαμβάνει

συγκεκριμένα υπόψη τους πιθανούς κινδύνους για ευάλωτους πληθυσμούς (EFSA, 2005) ή μη διατροφικές χρήσεις των προβιοτικών. Επιπλέον, η λίστα QPS δεν είναι εξαντλητική, καθώς βασίζεται σε υποβολές στην EFSA για έγκριση πριν από την αγορά στην ΕΕ και πολλοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται σε παραδοσιακά ζυμωμένα τρόφιμα δεν περιλαμβάνονται στη λίστα (Bourdichon et al., 2018). Στην Ευρώπη, εάν ένα στέλεχος δεν ανήκει σε είδος QPS, μπορεί να ισχύσει ο κανονισμός για τα νέα τρόφιμα (ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2015/2283) προτού διατεθεί στην αγορά. Άλλες δικαιοδοσίες έχουν άλλες διαδικασίες για την αξιολόγηση της ασφάλειας των προβιοτικών, όπως ο γενικά αναγνωρισμένος ως ασφαλής (GRAS) κανονισμός στις Ηνωμένες Πολιτείες.

Πίνακας 2. Προβιοτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου (EFSA et al., 2020; Markowiak & Śliżewska, 2017).

Είδη <i>Lactobacillus</i>	Είδη <i>Bifidobacterium</i>	Other Lactic Acid Bacteria	Άλλοι Μικροοργανισμοί
<i>L. plantarum</i> ^{(β), *}	<i>B. longum</i> ^{(α), *}	<i>Lactococcus lactis</i> ^(β)	<i>Bacillus clausii</i> ^{(α), *}
<i>L. acidophilus</i> ^{(α), *}	<i>B. catenulatum</i> ^(α)	<i>Enterococcus faecium</i> ^(α)	<i>Echerichia coli</i> Nissle 1917 ^(α)
<i>L. casei</i> ^{(α), (β), *}	<i>B. breve</i> ^(β)	<i>Streptococcus thermophilus</i> ^{(α), *}	<i>Saccharomyces cerevisiae (bulardi)</i> ^{(α), *}
<i>L. rhamnosus</i> ^{(α), (β), *}	<i>B. animalis</i> ^{(α), *}		
<i>L. gasseri</i> ^{(α), *}	<i>B. bifidum</i> ^(α)		
<i>L. reuteri</i> ^{(α), *}	<i>B. infantis</i> ^(α)		
<i>L. amylovorus</i> ^{(β), *}	<i>B. adoloscensis</i> ^(α)		
<i>L. helveticus</i> ^{(α), *}			
<i>L. johnsonii</i> ^{(β), *}			
<i>L. pentosus</i> ^{(β), *}			
(α) κυρίως σε φαρμακευτικά προϊόντα, (β) κυρίως ως πρόσθετα τροφίμων, *QPS (Qualified Presumption of Safety) μικροοργανισμοί			

1.1.3 Υποστηρίζονται από τουλάχιστον μία θετική κλινική δοκιμή στον άνθρωπο που διεξήχθη σύμφωνα με γενικά αποδεκτά επιστημονικά πρότυπα ή με τις συστάσεις και τις διατάξεις των τοπικών / εθνικών αρχών

Απαιτείται τουλάχιστον μία δοκιμή σε ανθρώπους που να αποδεικνύει ένα όφελος για την υγεία ώστε να χαρακτηριστεί το υποψήφιο μικροβιακό στέλεχος για προβιοτική χρήση, κατά προτίμηση ακολουθούμενο από επιβεβαιωτικές δοκιμές. Η δοκιμή πρέπει να διεξαχθεί σύμφωνα με γενικά αποδεκτά επιστημονικά πρότυπα. Σε σπάνιες περιπτώσεις, όπως αναγνωρίζεται από ορισμένες αρχές, ο όρος «προβιοτικά» μπορεί να χρησιμοποιηθεί καταλλήλως από στελέχη ενός είδους (ή μιας άλλης ταξινομικής ομάδας), όπου έχει αποδειχθεί ότι πολλά μέλη αυτού του είδους αποδίδουν ένα όφελος από έναν κοινό μηχανισμό (Hill et al., 2014; Sanders et al., 2018). Για παράδειγμα, η δραστηριότητα λακτάσης που εκφράζεται από τα στελέχη *Streptococcus thermophilus* ή *L.*

delbrueckii subsp. bulgaricus, το οποίο οδηγεί σε μειωμένα συμπτώματα που σχετίζονται με τη δυσπεψία της λακτόζης, είναι μια κοινή ιδιότητα αυτών των ειδών. Τα στελέχη *S. thermophilus* και *L. bulgaricus* μπορούν να θεωρηθούν «προβιοτικά» με βάση αυτό το όφελος.

1.1.4 Ζωντανά στο προϊόν με αποτελεσματική δόση καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του προϊόντος

Ενώ τα τρία κριτήρια που περιεγράφηκαν προηγουμένως αναφέρονται συγκεκριμένα σε ένα μικροβιακό στέλεχος που πρέπει να θεωρηθεί προβιοτικό, αυτό το κριτήριο ισχύει για το προϊόν που παρέχει τα προβιοτικά. Ο ορισμός των προβιοτικών δεν περιλαμβάνει αναφορά σε συγκεκριμένη δόση, αλλά μάλλον αναφέρει ότι τα προβιοτικά πρέπει να χορηγούνται σε ποσότητες που είναι επαρκείς για να οδηγήσουν σε όφελος για την υγεία του ξενιστή. Επομένως, είναι κατανοητό, δεδομένου ότι τα προβιοτικά είναι ζωντανά μικρόβια ικανά να αυτοδιπλασιαστούν εντός του ξενιστή, ότι με την πάροδο του χρόνου μερικά προβιοτικά κύτταρα θα μπορούσαν να είναι επαρκή για να προκαλέσουν ένα ευεργετικό αποτέλεσμα εάν αναπτύσσονται επαρκώς εντός του ξενιστή. Αυτό ισχύει ασφαλώς για παθογόνα μικρόβια που προκαλούν ασθένεια, η οποία μπορεί να προκαλέσει επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία του ξενιστή σε εξαιρετικά χαμηλές δόσεις λόγω της μολυσματικότητας και της ικανότητάς τους να αναπαραχθούν εντός του ξενιστή.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της βιωσιμότητας των προβιοτικών στελεχών θα πρέπει να γίνεται χρησιμοποιώντας τυποποιημένες μεθόδους απαρίθμησης όπως η επίστρωση. Ο αριθμός των μονάδων που σχηματίζουν αποικίες (cfu: colony-forming units) βασίζεται σε επιλεκτικά μέσα ανάπτυξης, π.χ. για *Lactobacillus acidophilus* και *Bifidobacterium* ή με κυτταρομετρία ροής (Πίνακας 3). Η βιωσιμότητα των προβιοτικών στελεχών στην αποτελεσματική δόση θα πρέπει να τεκμηριώνεται στα προϊόντα δοκιμής κατά τη διάρκεια κλινικών ερευνών και να διασφαλίζεται έως το τέλος της διάρκειας ζωής των προϊόντων σε εμπορικά προϊόντα σύμφωνα με διαδικασίες ποιότητας.

Πίνακας 3. Παραδείγματα τυπικών μεθόδων για προβιοτική απαρίθμηση (Binda et al., 2020).

Πρότυπο	Ταξινομικό όνομα	Ιστοσελίδα
ISO 20128:2006	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20128:ed-1:v1:en
ISO 29981 = IDF 220:2010	<i>Bifidobacterium</i>	https://www.iso.org/standard/45765.html
ISO 19344:2015= IDF 232	Milk and milk products - Starter cultures, probiotics and fermented products - Quantification of lactic acid bacteria by flow cytometry	https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:19344:ed-1:v1:en https://www.iso.org/standard/64658.html

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των προβιοτικών συνδυασμών, έχουν αναπτυχθεί μεταγονιδιωματικές μέθοδοι που εξαρτώνται από την καλλιέργεια και βασίζονται σε αλληλουχία επόμενης γενιάς υψηλής απόδοσης (Patro et al., 2016) αν και αυτές οι μέθοδοι δεν διασφαλίζουν ότι οι μετρήσεις αντιστοιχούν σε βιώσιμους μικροοργανισμούς. Αυτές οι μέθοδοι ενδέχεται να προσφέρουν στοιχεία για παθογόνους μικροοργανισμούς (Quigley et al., 2013), ωστόσο δεν έχουν εξακριβωθεί με κάποια μέθοδο (Sohier et al., 2014). Μπορούν, ωστόσο, να εκτελούνται από διαπιστευμένα εργαστήρια τα οποία εγγυούνται ένα ορισμένο επίπεδο συνέπειας και αναπαραγωγιμότητας. Μοριακές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της βιωσιμότητας σε σύνθετα μίγματα βρίσκονται υπό ανάπτυξη, όπως π.χ. το προπίδιο του μονοαζιδίου (PMA)-PCR (Scariot et al., 2018). Ωστόσο, αυτά είναι πειραματικά και όχι τυποποιημένα.

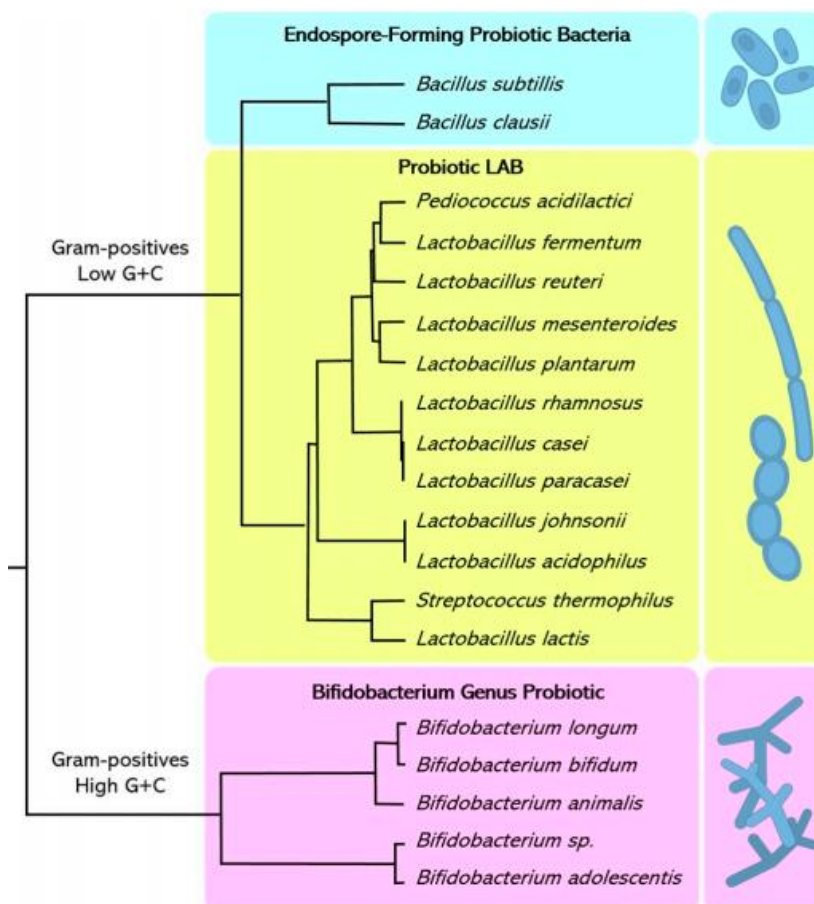
Γενικά, η ανάκτηση κοπράνων χρησιμοποιείται συχνά ως υποκατάστατος δείκτης για να αντικατοπτρίζει επαρκή δόση για στόχους υγείας του γαστρεντερικού. Το εύρος της δόσης θα μπορούσε να είναι δυνατό για εκείνα τα προβιοτικά που έχουν εύκολα καθορισμένο τελικό σημείο αποτελεσματικότητας (π.χ. επίπεδα χοληστερόλης στον ορό), αν και για άλλη μια φορά το ζήτημα της αντιγραφής *in situ* θα μπορούσε να προκαλέσει προβλήματα στην ερμηνεία. Μία μελέτη στην οποία πραγματοποιήθηκε εύρος δόσεων ήταν μια δοκιμή IBS που περιελάμβανε *Bifidobacterium longum subsp. infantis* 35624 στο οποίο εξετάστηκαν τρεις δόσεις, 10^6 , 10^8 και 10^{10} CFU. Αυτό είχε ένα ενδιαφέρον αποτέλεσμα στο ότι η δόση των 10^8 CFU ήταν αποτελεσματική, ενώ οι άλλες δύο δόσεις δεν ήταν. Αυτό το αποτέλεσμα ήταν πιθανό επειδή οι κάψουλες που περιέχουν την υψηλότερη δόση δεν διαλύθηκαν και επομένως μόνο τα αποτελέσματα των άλλων δύο δόσεων μπορούσαν να αξιολογηθούν (Whorwell et al., 2006).

1.2 Κυριότερα είδη

Τα είδη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* είναι αυτά που χρησιμοποιούνται συνήθως ως προβιοτικά, όπως επίσης η μαγιά *Saccharomyces boulardii*, κάποια *E.coli* και είδη *Bacillus*. Μεταξύ αυτών, ο *Lactobacillus*, από την ομάδα LAB, ήταν το πρώτο προβιοτικό που ανακαλύφθηκε (**Σχήμα 1**). Ορισμένες προβιοτικές καλλιέργειες είναι κυρίως μέλη του γένους *Bifidobacterium*, το οποίο παράγει επίσης γαλακτικό οξύ ως ένα από τα κύρια τελικά προϊόντα ζύμωσης, ωστόσο, από την ταξινομική άποψη, είναι μέλη του *Actinobacteria*. Επιπλέον, *Enterococcus spp.* έχουν βρεθεί ότι αποτελούν μέρος πολλών μικροβιοτικών ζυμωμένων τροφίμων, αλλά, επειδή μπορεί να προκαλέσουν έναν αριθμό μολύνσεων και μπορεί να αποκτήσουν μηχανισμούς αντοχής στα αντιβιοτικά, δεν χρησιμοποιούνται συνήθως ως καλλιέργειες εκκίνησης (Broadbent et al., 2003).

Ένας αυξανόμενος αριθμός επιστημονικών μελετών περιλαμβάνει την επιλογή νέων στελεχών με διαφορετικές και συγκεκριμένες λειτουργικές ιδιότητες. Νέες μικροβιακές ομάδες (π.χ. ζύμη και *Bacillus*) και πιο συγκεκριμένα στελέχη LAB ταυτοποιούνται συνεχώς (de Melo Pereira et al., 2018). Τα νέα αυτά μικρόβια συνήθως απομονώνονται από τον άνθρωπο λόγω του ότι θεωρείται μια ασφαλής πηγή απομόνωσης μικροοργανισμών για την ανάπτυξη προϊόντων. Ωστόσο,

χρησιμοποιούνται σήμερα νέες πηγές απομόνωσης, όπως τα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα φρούτα, τα δημητριακά και τα απόβλητα (de Melo Pereira et al., 2018). Επίσης τα τελευταία χρόνια, έρευνες έχουν επικεντρωθεί κυρίως στη διερεύνηση των συνθηκών καλλιέργειας και τη βιωσιμότητα των προβιοτικών στελεχών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και την αποθήκευση. Την ευαισθησία σε τιμές χαμηλού pH, στα γαστρικά υγρά, χολικά υγρά, παγκρεατικά και εντερικά υγρά, την προσκόλληση σε απομονωμένα κύτταρα ή κυτταρικές καλλιέργειες και τις αλληλεπιδράσεις με άλλους (παθογόνους) μικροοργανισμούς (Kerry et al., 2018).



Σχήμα 1. Φυλογενετική σχέση των διαφόρων προβιοτικών βακτηριακών ομάδων μέσω 16S rRNA αλληλουχιών γονιδίου (de Melo Pereira et al., 2018).

1.2.1 Βακτήρια Γαλακτικού Οξέως – Lactic Acid Bacteria (LAB)

Τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB) διαδραματίζουν πολυλειτουργικό ρόλο στα τρόφιμα, σε γεωργικές και κλινικές εφαρμογές (Bintsis, 2018). Η χρήση των LAB στη ζύμωση τροφίμων είναι μια από τις αρχαίες γνωστές τεχνικές συντηρήσεις τροφίμων. Τα προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως το γιαούρτι και το τυρί, εμφανίστηκαν στην ανθρώπινη διατροφή πριν από 8.000-10.000 χρόνια. Αυτά τα βακτήρια περιλαμβάνουν 183 αναγνωρισμένα είδη, που εφαρμόζονται σε διάφορες βιομηχανικές διεργασίες όπως για την παραγωγή συντηρητικών, οξινοποιητικών (acidulants) και αρωματικών ουσιών στα τρόφιμα, στην παρασκευή φαρμάκων, καλλυντικών και βιοαποικοδομήσιμων πολυμερών πολυγαλακτικού οξέος (König et al., 2009). Αυτές οι μικροβιακές

ομάδες διαθέτουν την ικανότητα να αντέχουν σε δυσμενείς καταστάσεις του ανθρώπινου σώματος (π.χ. ένζυμα σιέλου, χαμηλό pH και χυμό παγκρέατος), αποικίζουν τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και συμβάλλουν στην υγεία του περιβάλλοντος του ξενιστή που ρυθμίζει τα μικρόβια και ασκούν βιολογικές λειτουργίες (Liong et al., 2015; Marchesi et al., 2016; Zoumproulou et al., 2017).

Τα LAB ταξινομούνται ως Gram⁺ βακτήρια τα οποία περιλαμβάνουν χαμηλή περιεκτικότητα σε γουανίνη + κυτοσίνη (G + C) καθώς επίσης είναι ανθεκτικά σε οξύ, είναι μη κινητά, μη σπορογόνα και έχουν σχήμα ράβδου ή κόκκου. Η κύρια λειτουργία των LAB είναι η παραγωγή γαλακτικού οξέος, δηλαδή η οξίνιση της τροφής. Για αυτό, η κύρια εφαρμογή των LAB είναι ως καλλιέργειες εκκίνησης στη βιομηχανία τροφίμων με μια τεράστια ποικιλία γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση, όπως κρέας, ψάρι, φρούτα, λαχανικά και δημητριακά. Εκτός αυτού, τα LAB συμβάλλουν στη γεύση, την υφή και την διατροφική αξία των ζυμωμένων τροφίμων, μέσω της παραγωγής συστατικών αρώματος, και χρησιμοποιούνται ως συμπληρωματικές καλλιέργειες (Picon, 2017), παραγωγή ή αποικοδόμηση εξωπολυσακχαριτών, λιπιδίων και πρωτεϊνών, παραγωγή θρεπτικών συστατικών όπως βιταμινών, και χρησιμοποιούνται ως λειτουργικές καλλιέργειες, και προαγωγή θεραπευτικών αποτελεσμάτων και χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά (Bintsis, 2018; Picon, 2017; Wedajo, 2015). Επιπλέον, συμβάλλουν στην αναστολή της αλλοίωσης και των παθογόνων μικροοργανισμών και, ως εκ τούτου, χρησιμοποιούνται ως βιοπροστατευτικές καλλιέργειες (Gratterpanche et al., 2008).

Η σπουδαιότητά τους συνδέεται κυρίως με την ασφαλή μεταβολική τους δραστηριότητα ενώ αυξάνεται σε τρόφιμα που χρησιμοποιούν διαθέσιμους υδατάνθρακες για την παραγωγή οργανικών οξέων και άλλων μεταβολιτών όπως CO₂, αιθανόλης, υπεροξειδίου του υδρογόνου και διακετυλίου, αντιμικροβιακών ενώσεων όπως λιπαρών οξέων, βακτηριοκινών και συναφών πρωτεϊνούχων ενώσεων και αντιβιοτικών. Η συχνή εμφάνισή τους σε τρόφιμα, παράλληλα με τις μακροχρόνιες χρήσεις τους, συμβάλλει στη φυσική αποδοχή τους ως GRAS για ανθρώπινη κατανάλωση (Kargozari et al., 2014). Επίσης, παίζουν ένα αναγνωρισμένο ρόλο στη διατήρηση και τη μικροβιακή ασφάλεια των ζυμωμένων τροφίμων, προωθώντας έτσι τη μικροβιακή σταθερότητα των τελικών προϊόντων. Οι αρωματικές ενώσεις σχηματίζονται με διάφορες μεθόδους, π.χ. τις μετατροπές λακτόζης και κιτρικού (γλυκόλυση και πυροσταφυλικός μεταβολισμός), λίπους (λιπόλυση) και πρωτεϊνών (πρωτεόλυση, πεπτιδόλυση και καταβολισμός αμινοξέων) (van Kranenburg et al., 2002). Για αυτούς τους λόγους, πολλά είδη LAB βρίσκουν ευρείες βιομηχανικές εφαρμογές, κυρίως ως εκκινητές ή συμπληρωματικές καλλιέργειες, σε διάφορες ζυμώσεις τροφίμων. Νέες μικροβιακές ομάδες απομονώνονται συνεχώς από νέες πηγές όπως φαίνεται και στον **Πίνακα 4**.

Μεταβολικά, τα LAB είναι γνωστό ότι παράγουν μεγάλες ποσότητες γαλακτικού οξέος και άλλων μεταβολιτών από μια διαφορετική πηγή άνθρακα, συμπεριλαμβανομένης της γλυκόζης, της φρουκτόζης, της λακτόζης και της γαλακτόζης (de Melo Pereira et al., 2018). Από το μεταβολισμό

της γλυκόζης, τα LAB ταξινομούνται ως ομοπαραγωγικά, τα οποία παράγουν αποκλειστικά γαλακτικό οξύ μέσω της οδού Embden-Meyerhof-Parnas ή ετεροπαραγωγικά, όπου, εκτός από το γαλακτικό οξύ, παράγουν αρκετούς άλλους μεταβολίτες, όπως αιθανόλη, οξικό οξύ και διοξειδίο του άνθρακα μέσω τη μονοφωσφορική οδού πεντόζης (Carr et al., 2002). Τα LAB μπορούν επίσης να παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων βακτηριοκινών, εξωπολυσακχαριτών και ενζύμων, τα οποία χρησιμοποιούνται για την αύξηση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής των ζυμωμένων τροφίμων (Leroy & De Vuyst, 2004).

Πίνακας 4. Είδη και Προέλευση *Lactobacillus* (de Melo Pereira et al., 2018).

Είδη <i>Lactobacillus</i>	Προέλευση
<i>L. reuteri</i>	Ανθρώπινο στομάχι
<i>L. rhamnosus</i>	Βρεφικά κόπρανα
<i>L. salivarius</i>	Ανθρώπινο στομάχι
<i>L. delbrueckii</i>	Ανθρώπινο γάλα
<i>L. gasseri</i>	Ανθρώπινο στομάχι
<i>L. lactis</i>	Γάλα καμήλας
<i>L. paracasei</i>	Φέτα
<i>L. paraplantarum</i>	Γάλα χοιρομητέρας
<i>L. plantarum</i>	Κακάο
<i>L. pentosus</i>	Ελιές
<i>L. sakei</i>	Κινόα και σπόρους αμάρανθου
<i>L. brevis</i>	Γάλα χοιρομητέρας
<i>L. casei</i>	Κινόα και σπόρους αμάρανθου
<i>L. diolivorans</i>	Ταχίνι

1.2.2 *Bifidobacterium*

Ο Γάλλος Henry Tissier απομόνωσε για πρώτη φορά το *Bifidobacterium* στα τέλη του 19ου αιώνα. Εισήχθη στη σειρά των ακτινομυκητών κυρίως λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε DNA της γουανίνης και της κυτοσίνης, η οποία κυμαίνεται από 42 έως 67%. Αυτά τα μικρόβια είναι Gram⁺, ετεροπαραγωγικά, μη κινητά, αρνητικά στην καταλάση και αναερόβια βακτήρια, με την ικανότητα να μεταβολίζουν τη γλυκόζη, τη γαλακτόζη, τη λακτόζη και τη φρουκτόζη (Russell et al., 2011). Το γένος *Bifidobacterium* περιλαμβάνει 30 είδη, στον **Πίνακας 5** παρουσιάζονται μερικά ακόμα από τα στελέχη *bifidobacteria*, καθώς και η προέλευσή τους. Τα *B. teencentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve* και *B. longum* έχουν αναφερθεί για τα ποικίλα προβιοτικά αποτελέσματά τους και χρησιμοποιούνται ευρέως σε γιαούρτια, γάλα, τυρί και άλλα γαλακτοκομικά προϊόντα (Picard et al., 2005; Russell et al., 2011). Θεωρείται ότι η παρουσία τους αναστέλλει την ανάπτυξη των κολοβακτηριδίων και των κλωστριδίων και μπορεί να συνεισφέρει στην επιδιόρθωση τυχόν

ανωμαλιών της εντερικής μικροχλωρίδας σε ενήλικα και ηλικιωμένα άτομα (Gibson & Roberfroid, 2008). Ορισμένα από τα βακτήρια αυτά μπορούν, επίσης, να βελτιώσουν τη διαδικασία υδρόλυσης της λακτόζης, να ενισχύουν την απορρόφηση του ασβεστίου από τον οργανισμό, να εμφανίσουν αντικαρκινική δράση και να μειώσουν τα επίπεδα της χοληστερόλης (Xu et al., 2011).

Πίνακας 5. Είδη και προέλευση *Bifidobacteria* (Κωνσταντίνου, 2018).

Είδη <i>Bifidobacterium</i>	Προέλευση
<i>B. adolescentis</i>	Εντερικό σύστημα ενηλίκων
<i>B. animalis subsp. animalis</i>	Ζωικά κόπρανα
<i>B. animalis subsp. lactis</i>	Γιαούρτι
<i>B. asteroides</i>	Επιγάστριο μελισσών
<i>B. bifidum</i>	Βρεφικά κόπρανα
<i>B. breve</i>	Βρεφικά κόπρανα
<i>B. catenulatum</i>	Εντερικό σύστημα ενηλίκων
<i>B. coryneforme</i>	Επιγάστριο μελισσών
<i>B. cuniculi</i>	Κόπρανα κονίκλων
<i>B. gallicum</i>	Ανθρώπινα κόπρανα
<i>B. gallinarum</i>	Εντερικό σύστημα κοτόπουλων
<i>B. indicum</i>	Επιγάστριο μελισσών
<i>B. longum biotype longum</i>	Εντερικό σύστημα ενηλίκων
<i>B. longum biotype infantis</i>	Εντερικό σύστημα βρεφών
<i>B. magnum</i>	Κόπρανα κονίκλων
<i>B. merycicum</i>	Προστόμαχος βοοειδών
<i>B. minimum</i>	Υγρά απόβλητα
<i>B. pseudocatenulatum</i>	Βρεφικά κόπρανα
<i>B. pseudolongum subsp. pseudolongum</i>	Κόπρανα χοίρων
<i>B. pseudolongum subsp. globosum</i>	Προστόμαχος βοοειδών
<i>B. psychraerophilum</i>	Κόπρανα χοίρων
<i>B. pullorum</i>	Εντερικό σύστημα κοτόπουλων
<i>B. ruminantium</i>	Προστόμαχος βοοειδών
<i>B. scardovii</i>	Ανθρώπινο αίμα
<i>B. subtile</i>	Υγρά απόβλητα
<i>B. thermacidophilum subsp. thermacidophilum</i>	Λύματα
<i>B. thermacidophilum subsp. porcinum</i>	Κόπρανα χοίρων
<i>B. thermophilum</i>	Κόπρανα χοίρων

1.2.3 *Bacillus*

Τα είδη *Bacillus* (π.χ. *B. clausii* και *B. subtilis*) χρησιμοποιούνται επίσης ως προβιοτικά στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμακευτικών προϊόντων (Liu et al., 2018; Ripert et al., 2016). Το κύριο γνώρισμα των Gram⁺, αερόβιων βακτηρίων είναι ο σχηματισμός ενδοσπόρων (Cutting, 2011) που επιτρέπουν τη συντήρηση της βιωσιμότητας για μεγάλες περιόδους αποθήκευσης. Ωστόσο, ορισμένα είδη (π.χ., *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. pseudomycooides* και *B. weihenstephanesis*) είναι γνωστό ότι παράγουν εντεροτοξίνες (Hong et al., 2008; Sorokulova et al., 2008).

1.2.4 Ζύμες

Οι ζύμες αποτελούν μια μεγάλη και ετερογενή ομάδα ευκαρυωτικών μικροοργανισμών που είναι ευρέως διαδεδομένες σε φυσικά περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένου του GIT ανθρώπων, φυτών, αερομεταφερόμενων σωματιδίων και προϊόντων διατροφής (Foligné, 2010). Η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, βιταμίνη Β, ιχνοστοιχεία και διάφορες ανοσοδιεγερτικές ενώσεις (πρωτεάσες, β-γλυκάνες και ολιγοσακχαρίτες μαννάνης) έχει αυξήσει το ενδιαφέρον για τη χρήση ζυμών ως προβιοτικών (Arévalo-Villena et al., 2018; Fadda et al., 2017; García-Hernández et al., 2012; Gil-Rodríguez et al., 2015). Οι ζύμες έχουν επίσης τα πλεονεκτήματα της μη ευαισθησίας στα αντιβιοτικά και της καλής ανοχής για τις βιομηχανικές συνθήκες επεξεργασίας (δηλαδή, λυοφιλίωση και υψηλές θερμοκρασίες) (Abdel-Rahman et al., 2013; Fleet, 2011; Joshi & Thorat, 2011; Morgunov et al., 2013). Το *Saccharomyces boulardii*, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA), έχει καθεστώς Πιστοποιημένου Τεκμηρίου Ασφάλειας (QPS) και χρησιμοποιείται κυρίως και μελετάται προβιοτικό (Hudson et al., 2016). Ωστόσο, πολλές άλλες πιθανές προβιοτικές ζύμες (*Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizosaccharomyces* και *Candida*) εντοπίζονται συνεχώς (Banjara et al., 2015; Lane & Morrissey, 2010; Tokuhiko et al., 2008).

1.3 Κριτήρια επιλογής προβιοτικών

Σύμφωνα με τις προτάσεις του ΠΟΥ, του FAO και της EFSA (της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων), στη διαδικασία επιλογής τους, τα προβιοτικά στελέχη πρέπει να πληρούν τα λειτουργικά κριτήρια, αυτά που σχετίζονται με την ασφάλεια και τα τεχνολογικά (de Melo Pereira et al., 2018). Τα κριτήρια αυτά συνοψίζονται στον **Πίνακα 6** και θα αναλυθούν παρακάτω. Τα προβιοτικά χαρακτηριστικά δεν σχετίζονται με το γένος ή το είδος ενός μικροοργανισμού, αλλά με λίγα και ειδικά επιλεγμένα στελέχη ενός συγκεκριμένου είδους (Hill et al., 2014). Η ασφάλεια ενός στελέχους καθορίζεται από την προέλευσή του, την απουσία συσχέτισης με παθογόνες καλλιέργειες και το προφίλ ανοχής στα αντιβιοτικά. Οι λειτουργικές πτυχές καθορίζουν την επιβίωσή τους τη στιγμή που θα εισέλθουν στον ανθρώπινο οργανισμό, στη γαστρεντερική οδό και την επίδρασή τους στην ανοσορύθμιση. Τα προβιοτικά στελέχη πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις που σχετίζονται με

την τεχνολογία παραγωγής τους, πράγμα που σημαίνει ότι πρέπει να είναι ικανά να επιβιώσουν και να διατηρήσουν τις ιδιότητές τους καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας αποθήκευσης, διανομής και ζωής του προϊόντος (Lee & Salminen, 2009). Τα προβιοτικά θα πρέπει επίσης να έχουν τεκμηριωμένα αποτελέσματα για την υγεία σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του στελέχους που υπάρχει σε ένα προϊόν που διατίθεται στο εμπόριο.

1.3.1 Ιδιότητες των προβιοτικών

1.3.1.1 Αντοχή στο στρες

Ένα πιθανό προβιοτικό στέλεχος, για να ασκήσει την θετική του επίδραση, αναμένεται να παρουσιάζει ορισμένες επιθυμητές ιδιότητες. Αρχικά, τα υποψήφια στελέχη αξιολογούνται για να αντιμετωπίσουν τις στρεσογόνες συνθήκες που επιβάλλει το ανθρώπινο σώμα. Το προβιοτικό θα πρέπει να είναι ανθεκτικό στα ένζυμα που υπάρχουν στην στοματική κοιλότητα, όπως η αμυλάση και η λυσοζύμη (de Melo Pereira et al., 2018). Γενικά, τα Gram⁺ βακτήρια είναι ευαίσθητα στη λυσοζύμη, ωστόσο, ορισμένα LAB είναι πιο ανθεκτικά από άλλα Gram⁺ βακτήρια, επειδή μπορούν να γίνουν μέρος του μικροβιώματος της στοματικής κοιλότητας (Koll-Klais et al., 2005). Αφού καταναλωθούν, οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί έρχονται αντιμέτωποι με τις συνθήκες που επικρατούν στο στομάχι (οξύτητα στομάχου, γαστρικό υγρό και πεψίνη), στο γαστρεντερικό σωλήνα (παγκρεατίνη και χολικά άλατα) και με το ήπιο θερμικό σοκ που προκαλείται από την εσωτερική θερμοκρασία του σώματος. Για αυτό, το προβιοτικό πρέπει να έχει ανοχή στο χαμηλό pH, τα χολικά άλατα και μηχανισμούς αποκλεισμού για να επιβιώσει στο έντερο. Επιπλέον, η θερμοανθεκτικότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών σχετίζονται με τη ενδοκυτταρική συσσώρευση τρεαλόζης και είναι μία από τις πιο γνωστές αποκρίσεις που συμβαίνουν (Martins et al., 2008). Η αντίσταση στον γαστρεντερικό σωλήνα ποικίλλει ανάλογα με το είδος. Για παράδειγμα, το *Lactobacillus* είναι γενικά ανθεκτικό, ενώ τα *Bifidobacteria* είναι εξαιρετικά ευαίσθητα σε χαμηλό pH, παρουσιάζοντας χαμηλά ή καθόλου ποσοστά επιβίωσης σε pH 2 και pH 3 (Fontana et al., 2013; Sanz, 2007; Takahashi et al., 2004). Έτσι, η ανοχή σε ανασταλτικές συνθήκες γενικά αποκλείει έναν σημαντικό αριθμό απομονωμένων μικροοργανισμών. Συνοπτικά, το pH που κυμαίνεται από 2 έως 5 και οι συγκεντρώσεις χολικού άλατος από 0,3 έως 2% θεωρούνται κρίσιμα για την επιλογή των προβιοτικών μικροοργανισμών (Ogunremi et al., 2015; Psani & Kotzekidou, 2006).

1.3.1.2 Ικανότητα προσκόλλησης

Η δεύτερη συνθήκη που πρέπει να αξιολογηθεί είναι εάν τα πιθανά υποψήφια προβιοτικά μπορούν να αποικίσουν τα επιθηλιακά κύτταρα στο γαστρεντερικό σωλήνα. Η προσκόλληση των μικροβίων στα επιθηλιακά κύτταρα σχετίζεται τόσο με την ικανότητα αυτοσυσσωμάτωσης όσο και με τις υδρόφοβες ιδιότητες της κυτταρικής επιφάνειας (de Melo Pereira et al., 2018). Γενικά, η προσκόλληση στο βλεννογόνο και στις επιθηλιακές επιφάνειες είναι μια σημαντική ιδιότητα για την

επιτυχή διαφοροποίηση του ανοσοποιητικού, για τον ανταγωνισμό με τα παθογόνα καθώς και για την αποκλεισμό προσκόλλησης των παθογόνων.

1.3.1.4 Αντιπαθογόνος δράση

Αφού προσκολληθούν στο έντερο, τα προβιοτικά παράγουν εξωκυτταρικά αντιμικροβιακά συστατικά μέσω της μετατροπής υδατανθράκων, πρωτεϊνών και άλλων δευτερευόντων ενώσεων σε σημαντικές ουσίες που μπορούν να σκοτώσουν παθογόνα βακτήρια, όπως οργανικά οξέα, ένζυμα, υπεροξειδίο του υδρογόνου, βακτηριοκίνες και πεπτίδια χαμηλής μοριακής μάζας (de Melo Pereira et al., 2018). Άλλοι μηχανισμοί προβιοτικού ανταγωνισμού περιλαμβάνουν ανταγωνισμό για θρεπτικά συστατικά, συσσωμάτωση με παθογόνα και διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος (Lebeer et al., 2008). Αυτές οι ανταγωνιστικές δραστηριότητες ποικίλλουν ανάλογα με τα μικροβιακά στελέχη (Vera-Pingitore et al., 2016; Verón et al., 2017). Η συσσωμάτωση είναι μια άλλη ανταγωνιστική προβιοτική δράση που παρέχει συσσωμάτωση παθογόνων με προβιοτικά κύτταρα και διευκολύνει την αποβολή τους μέσω περιττωμάτων (de Melo Pereira et al., 2018).

1.3.2 Αξιολόγηση ασφάλειας ως προς τον ανθρώπινο οργανισμό

Η ασφάλεια των προβιοτικών στελεχών ως προς τον ανθρώπινο οργανισμό είναι πρωταρχικής σημασίας. Ορισμένες πρωτοβουλίες της Ευρωπαϊκής κοινότητας (Ο κανονισμός για τα νέα τρόφιμα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, QPS και PROSAFE), οι Ηνωμένες Πολιτείες (FDA και WHO) και ο Καναδάς (Health Canada: NHPR) έχουν καθορίσει κριτήρια για την αξιολόγηση της ασφάλειας των προβιοτικών για την ανθρώπινη χρήση (de Melo Pereira et al., 2018). Οι κοινές συστάσεις περιλαμβάνουν αρχεία ιστορικού απομόνωσης, ταξινομικής αναγνώρισης και απουσίας δραστηριότητας, μολυσματικότητας, τοξικότητας και μεταβιβάσιμων γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (Sanders et al., 2010). Τα περισσότερα από τα προβιοτικά που διατίθενται σήμερα στην αγορά απομονώθηκαν από υγιείς ανθρώπους για να αυξήσουν την προβιοτική συμβατότητα και την επιβίωση στο GIT (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010). Ωστόσο, χρησιμοποιείται σήμερα μια σειρά από νέες πηγές για την απομόνωση νέων προβιοτικών στελεχών, όπως για παράδειγμα το απομονωμένο στέλεχος *Bacillus amyloliquefaciens* από σάλτσα σόγιας (Lee et al., 2017).

Το 2007, η EFSA εισήγαγε για πρώτη φορά την αντιμικροβιακή αντοχή ως ζήτημα ασφάλειας που σχετίζεται με την προβιοτική κατανάλωση (Barlow et al., 2017). Αυτό υποστηρίχθηκε λόγω των στοιχείων της οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων από ευεργετικά βακτήρια σε παθογόνα βακτήρια στο έντερο του ξενιστή (Gueimonde et al., 2013). Κατά συνέπεια, το 2012, ο κατάλογος QPS συμπεριέλαβε αυτό το κριτήριο για την κατάσταση των προβιοτικών ως GRAS (Sanders et al., 2010).

Η αντοχή στα αντιβιοτικά των προβιοτικών θεωρείται ζήτημα ασφάλειας όταν υπάρχει ο κίνδυνος μεταφοράς γονιδίων (Gueimonde et al., 2013). Όταν η αντίσταση είναι εγγενής - δηλαδή, αποκτάται ως αποτέλεσμα χρωμοσωμικής μετάλλαξης - τα προβιοτικά βακτήρια δεν αποτελούν το

ίδιο θέμα ασφάλειας επειδή η αντίσταση στα αντιβιοτικά μεταδίδεται μόνο στην επόμενη γενιά μέσω του γενετικού υλικού του οργανισμού. Σε αυτήν την περίπτωση, τα ανθεκτικά προβιοτικά στελέχη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ταυτόχρονα ή μετά από θεραπεία με αντιβιοτικά για την αποκατάσταση του μικροβιώματος του εντέρου (Galopin et al., 2009; Gueimonde et al., 2013; Hammad & Shimamoto, 2010). Είναι η ικανότητα των προβιοτικών να πραγματοποιούν οριζόντια μεταφορά γονιδίων με κινητά στοιχεία (π.χ. πλασμίδια, συζευγμένα τρανσποζόνια, ιντρόνια και βακτηριοφάγοι) που επιταχύνει την ανάπτυξη στελεχών ανθεκτικών στα αντιβιοτικά. Έτσι, μια κρίσιμη πτυχή στη μελέτη της αντοχής στα αντιβιοτικά στα προβιοτικά βακτήρια είναι ο διαχωρισμός της εγγενούς αντοχής από την επίκτητη αντίσταση (Sanders et al., 2010).

1.3.3 Βιομηχανικές απαιτήσεις και τεχνολογικές ιδιότητες

Τα προβιοτικά παρασκευάσματα πρέπει να θεωρούνται ιατρικά ή φαρμακευτικά προϊόντα όταν ζητούνται πτυχές που σχετίζονται με την υγεία, όπως η διάγνωση μιας ασθένειας, η θεραπεία, η πρόληψη ή η ανακούφιση (de Simone, 2019). Τα επιλεγμένα προβιοτικά δεν θα πρέπει να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στη γεύση ή το άρωμα του προϊόντος ή να αυξάνουν την οξύτητα κατά τη διάρκεια ζωής (Champagne et al., 2005; Goodarzi, 2016; Senaka Ranadheera et al., 2012). Επιπρόσθετα, τα προβιοτικά πρέπει να επιβιώνουν από την επεξεργασία της τροφής, όπως η ζύμωση, η συγκομιδή, η ξήρανση με κατάψυξη καθώς και από τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, το pH, το οξειδωτικό και οσμωτικό στρες κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Τέλος, από άποψη ασφάλειας, είναι ζωτικής σημασίας τα προβιοτικά κύτταρα να είναι γενετικά σταθερά για να αποφευχθεί η ανάπτυξη παθογένειας ή η απώλεια παραγωγικότητας (de Melo Pereira et al., 2018).

Για προβιοτική αποτελεσματικότητα, απαιτούνται πληθυσμοί 10^6 έως 10^8 CFU / g κατά τη στιγμή της κατανάλωσης (Minelli & Benini, 2008). Η αναλογία πληθυσμού μπορεί να επηρεαστεί από βακτηριοφάγους, οι οποίοι μολύνουν προβιοτικά κύτταρα, προκαλώντας έτσι κυτταρική λύση (Garneau & Moineau, 2011). Επιπλέον, ορισμένα προϊόντα μπορούν να εμφανίσουν τροποποιήσεις κατά τη διάρκεια ζωής τους, όπως μετά την οξίνιση, με αποτέλεσμα την απώλεια προβιοτικής βιωσιμότητας (de Melo Pereira et al., 2018). Η παρουσία οξυγόνου κατά τη διάρκεια ορισμένων διεργασιών και αποθήκευσης μπορεί επίσης να επηρεάσει τη βιωσιμότητα των κυττάρων (Antunes et al., 2005; Pereira et al., 2016). Λαμβάνοντας υπ' όψη τα παραπάνω, είναι σημαντικό τα στελέχη να είναι σταθερά τόσο κατά τις διαδικασίες παρασκευής, όσο και κατά την αποθήκευση του προβιοτικού προϊόντος.

Πίνακας 6. Κριτήρια επιλογής των προβιοτικών στελεχών (EFSA, 2005; FAO & WHO, 2006).

Κριτήρια	Απαιτούμενες ιδιότητες
Ασφάλειας	<ul style="list-style-type: none"> • Ανθρώπινη ή ζωική προέλευση. • Απομόνωση από το γαστρεντερικό σωλήνα υγιών ατόμων.

	<ul style="list-style-type: none"> • Ιστορικό ασφαλούς χρήσης. • Ακριβής διαγνωστική ταυτοποίηση (χαρακτηριστικά φαινότυπου και γονότυπου). • Απουσία δεδομένων σχετικά με συσχέτιση με μολυσματική νόσο. • Απουσία της ικανότητας διάσπασης των αλάτων χολικού οξέος. • Να μην υπάρχουν δυσμενείς επιπτώσεις. • Απουσία γονιδίων υπεύθυνων για αντοχή στα αντιβιοτικά εντοπισμένα σε μη σταθερά στοιχεία.
Λειτουργικά	<ul style="list-style-type: none"> • Ανταγωνιστικότητα σε σχέση με τα μικρόβια που κατοικούν στο εντερικό οικοσύστημα. • Ικανότητα επιβίωσης και διατήρησης της μεταβολικής δραστηριότητας και ανάπτυξης στο σημείο προορισμού. • Αντοχή στα χολικά άλατα και τα ένζυμα. • Αντοχή στο χαμηλό pH στο στομάχι. • Ανταγωνιστικότητα σε σχέση με μικροβιακά είδη που κατοικούν στο γαστρεντερικό σωλήνα. • Ανταγωνιστική δράση έναντι παθογόνων (π.χ. <i>H. pylori</i>, <i>Salmonella sp.</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Clostridium difficile</i>). • Αντοχή σε βακτηριοκίνες και οξέα που παράγονται από το ενδογενές εντερικό μικροβίωμα. • Προσκόλληση και ικανότητα αποικισμού ορισμένων συγκεκριμένων θέσεων εντός του οργανισμού ξενιστή και κατάλληλο ποσοστό επιβίωσης στο γαστρεντερικό σύστημα.
Τεχνολογικά	<ul style="list-style-type: none"> • Εύκολη παραγωγή υψηλών ποσοτήτων βιομάζας και υψηλής παραγωγικότητας καλλιεργειών. • Βιωσιμότητα και σταθερότητα των επιθυμητών ιδιοτήτων των προβιοτικών βακτηρίων κατά τη διαδικασία στερέωσης (κατάψυξη, ξήρανση με κατάψυξη), προετοιμασία και διανομή προβιοτικών προϊόντων. • Υψηλό ποσοστό επιβίωσης αποθήκευσης στα τελικά προϊόντα (σε αερόβιες και μικρο-αεροφιλικές συνθήκες). • Εγγύηση των επιθυμητών αισθητηριακών ιδιοτήτων των τελικών προϊόντων (στην περίπτωση της βιομηχανίας τροφίμων). • Γενετική σταθερότητα. • Αντοχή σε βακτηριοφάγους.

2. Επιδόρπια γάλακτος με προβιοτικά

2.1 Ορισμός

Σύμφωνα με το άρθρο 84 § 3 του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π.) ως επιδόρπιο γάλακτος χαρακτηρίζεται ένα προϊόν έτοιμο προς βρώση, που παρασκευάζεται:

- από μια ή περισσότερες κατηγορίες γάλακτος που προβλέπονται από το άρθρο 80 του Κώδικα Τροφίμων
- προϊόντα γάλακτος ή και συστατικά γάλακτος (πρωτεΐνη γάλακτος, λακτόζη) ή και
- μαγιά γιαουρτιού και στις δύο περιπτώσεις τα παραπάνω προϊόντα γάλακτος ή το γάλα σε αναλογία 75% τουλάχιστον κατά βάρος του τελικού προϊόντος αναγόμενο σε νωπό γάλα
- ζαχαρούχες γλυκαντικές ύλες
- σκόνη κακάο λιποπεριεκτικότητας 10% τουλάχιστον σε βούτυρο κακάο, σοκολάτα ή εκχύλισμα καφέ με ή χωρίς καφεΐνη
- χυμοί φρούτων με ή χωρίς ζάχαρη, ή τεμάχια φρούτων φρέσκα ή ζαχαρωμένα καθώς και προϊόντα με γλυκαντικές ύλες του άρθρου 131 ή και άλλες ύλες που περιλαμβάνονται στον Κώδικα Τροφίμων με εξαίρεση τις πρόσθετες ύλες του Κεφαλαίου ΙΙΙ του παρόντα Κώδικα.

Επίσης στα επιδόρπια κατατάσσονται τα ροφήματα και γενικά τα προϊόντα με βάση το αρωματισμένο γάλα καθώς και τα κατεψυγμένα επιδόρπια στην παρασκευή των οποίων έχει χρησιμοποιηθεί η ψύξη και η διατήρησή τους γίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες.

2.2 Προσθήκη προβιοτικών μικροοργανισμών στην παραγωγή επιδορπίων γάλακτος

Ο τρόπος παρασκευής προβιοτικών καλλιιεργειών μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στην επιτυχή εισαγωγή αυτών των μικροοργανισμών σε ένα προϊόν διατροφής (Champagne et al., 2005). Αν και ένα σημαντικό ποσοστό των προβιοτικών καλλιέργειών που υπάρχουν στην αγορά διατίθενται σε λυοφιλιωμένη μορφή ως άμεση καλλιέργεια τύπου (DVS: direct vat set) για άμεση προσθήκη στο προϊόν, οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν για επιδόρπια γάλακτος σε προηγούμενη ενεργοποίηση στελέχους πριν από την προσθήκη τους στο προϊόν (Buriti et al., 2007; Corrêa et al., 2008; Helland et al., 2004; Magariños et al., 2008). Αποτελεί σημαντικό βήμα η ενεργοποίηση του μικροοργανισμού κατά το στάδιο επεξεργασίας του επιδορπίου, γιατί σε θερμοκρασίες ψύξης ο προβιοτικός μεταβολισμός μειώνεται. Στην πραγματικότητα, είναι σημαντικό να προστίθενται τα προβιοτικά βακτήρια σε επαρκείς ποσότητες ώστε να παρέχουν οφέλη στην υγεία του καταναλωτή. Αυτό απαιτεί επίπεδο εμβολιασμού 7-8 log cfu / g, επειδή θα πρέπει να προβλεφθούν πιθανές απώλειες κατά τη διάρκεια ζωής (Buriti et al., 2016).

2.3 Τεχνολογία παραγωγής προβιοτικών και καλλιέργειών εκκίνησης γαλακτοκομικών προϊόντων

Τα LAB και *Bifidobacteria* παρασκευάζονται στο εμπόριο για προβιοτικά συμπληρώματα διατροφής και καλλιέργειες εκκίνησης γαλακτοκομικών προϊόντων. Το επιθυμητό εμπορικό προϊόν έχει όσο το δυνατόν μεγαλύτερη απόδοση και αποτελείται από βιώσιμα, συμπυκνωμένα κύτταρα που είναι σταθερά και έχουν συνεπή απόδοση στην επιδιωκόμενη εφαρμογή (Fenster et al., 2019). Κύριος σκοπός αποτελεί ο υψηλός αριθμός προβιοτικών κυττάρων και η μεγάλη διάρκεια ζωής σε ένα ευρύ πεδίο διαφορετικών συνθηκών θερμοκρασίας και υγρασίας, ειδικά για τα προϊόντα υψηλής ποιότητας με δόσεις που καθορίζονται μέσω κλινικών δοκιμών (in vivo). Από την άλλη πλευρά, η ταχεία και συνεπής δραστηριότητα οξίνισης στο γάλα είναι επιθυμητή για καλλιέργειες εκκίνησης γαλακτοκομικών προϊόντων (Fenster et al., 2019). Σε αυτήν την υποενότητα, περιγράφεται εν συντομία η διαδικασία παρασκευής και επισημαίνονται σημαντικές προκλήσεις για την παρασκευή και την απόδοση του προϊόντος.

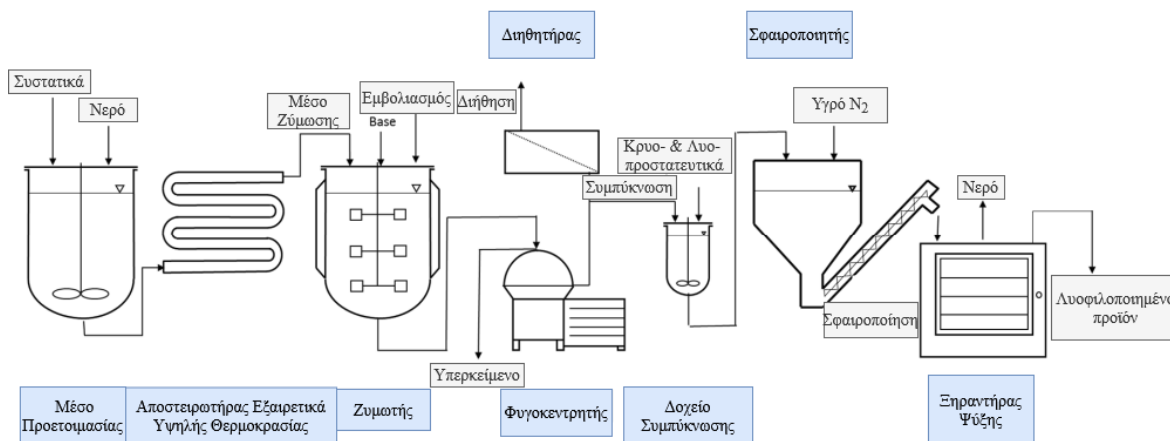
Οι διαδικασίες παραγωγής LAB και *Bifidobacteria* για συμπληρώματα διατροφής και γαλακτοκομικές εφαρμογές έχουν τα ακόλουθα κοινά βήματα, όπως φαίνεται στο **Σχήμα 2** (Fenster et al., 2019). Το παγωμένο απόθεμα των προβιοτικών καλλιέργειών, το οποίο έχει προετοιμαστεί προσεκτικά ώστε να αποτελείται από ένα μόνο καθαρό στέλεχος και έχει επαληθευτεί ότι είναι απαλλαγμένο από μολυσματικούς παράγοντες μέσω της δοκιμής ποιοτικού ελέγχου, χρησιμοποιείται σε περιορισμένο αριθμό διαδοχικών ζυμώσεων για την επίτευξη του επιθυμητού όγκου εμβολίου και τελικά μεταφέρεται στο κύριο δοχείο ζύμωσης για ανάπτυξη. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κατεψυγμένο υλικό άμεσου εμβολιασμού (DVI) αποτελείται από μια μεγαλύτερη ποσότητα συμπυκνωμένων κυττάρων για τον άμεσο εμβολιασμό του κύριου δοχείου ζύμωσης. Ο στόχος και των δύο μεθόδων είναι να περιοριστεί ο αριθμός των γενεών από το απόθεμα της αρχικής καλλιέργειας προς το προϊόν, μειώνοντας έτσι κάθε πιθανό κίνδυνο για γενετική μετατόπιση. Το θερμικά επεξεργασμένο μέσο που χρησιμοποιείται στη καλλιέργεια αυξάνεται και η κύρια ζύμωση είναι ένα μείγμα νερού, πηγών αζώτου, υδατανθράκων, αλάτων και μικροθρεπτικών συστατικών που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη. Οι ζυμώσεις ελέγχονται προσεκτικά και αφού ολοκληρωθεί η ζύμωση στην κύρια δεξαμενή, τα κύτταρα συμπυκνώνονται διαχωρίζοντας τα κύτταρα από το χρησιμοποιημένο μέσο έως τη φυγοκέντρωση.

Ανάλογα με την εφαρμογή του τελικού προϊόντος, μπορούν να προστεθούν στα κύτταρα διαλύματα σταθεροποιητή δηλαδή, κρυσταλλοπροστατευτικά για την προστασία των κυττάρων από τραυματισμό κατά τη διάρκεια της κατάψυξης ή λυοπροστατευτικά για την προστασία των κυττάρων από τραυματισμό κατά την ξήρανση με κατάψυξη (Fenster et al., 2019). Στη γαλακτοκομική βιομηχανία, χρησιμοποιείται συχνά το άπαχο γάλα σε σκόνη (Carvalho et al., 2004). Μόλις το προβιοτικό συμπύκνωμα αναμιχθεί με το κρυσταλλοπροστατευτικό διάλυμα, μπορούν να εφαρμοστούν διάφορες διαδικασίες κατάψυξης. Μία απλή τεχνική κατάψυξης συνίσταται στην έκχυση κρυσταλλοπροστατευμένου συμπυκνώματος σε δοχεία και βύθιση των σφραγισμένων δοχείων σε

λουτρό υγρού αζώτου. Στη συνέχεια, τα κατεψυγμένα δοχεία μπορούν να αποσταλούν σε εταιρείες που περιλαμβάνουν τρόφιμα ή ποτά με προβιοτικά. Εναλλακτικά, μια πιο παραγωγική τεχνική συνίσταται στη σφαιροποίηση του κρουπροστατευμένου συμπυκνώματος με στάγδην του συμπυκνώματος μέσω βαθμονομημένων οπών σε ένα λουτρό υγρού αζώτου. Τα σφαιρίδια, τα οποία συνήθως έχουν σφαίρες διαμέτρου 4–5 mm, συλλέγονται στη συνέχεια στον πυθμένα και τελικά συσκευάζονται σε σάκους που αποθηκεύονται και αποστέλλονται σε θερμοκρασία που κυμαίνεται από -45 έως -55 °C.

Μια δεύτερη εναλλακτική διαδικασία κατάψυξης, αποτελεί η ξήρανση με ψύξη (λυοφιλοποίηση), όπου τα κατεψυγμένα σφαιρίδια κυττάρων χρησιμοποιούνται σε ένα αποξηραμένο τελικό προϊόν. Τα κατεψυγμένα σφαιρίδια μεταφέρονται σε δίσκους που τοποθετούνται πάνω από τα ράφια. Τα ράφια έχουν τη δυνατότητα να ελέγχουν τη θερμοκρασία και να θερμαίνονται προοδευτικά μόλις δημιουργηθεί κενό στον θάλαμο ξήρανσης με κατάψυξη. Μια εναλλακτική επιλογή συνίσταται στη συμπλήρωση δίσκων με το κρουπροστατευμένο συμπύκνωμα. Οι δίσκοι στη συνέχεια τοποθετούνται πάνω από ράφια ελεγχόμενης θερμοκρασίας τα οποία αρχικά ψύχονται σε θερμοκρασίες ψύξης υπό ατμοσφαιρική πίεση. Μόλις το συμπύκνωμα σε κάθε δίσκο καταψυχθεί, τα ράφια θερμαίνονται σταδιακά μόλις εφαρμοστεί κενό. Το εφαρμοζόμενο κενό κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 100 και 1000 mTorr και η θερμοκρασία των ραφιών μεταξύ -40 και $+40$ °C. Το μήκος της ξήρανσης με κατάψυξη ποικίλλει ανάλογα με το στέλεχος, τη σύνθεση του και τον κύκλο ξήρανσης με κατάψυξη, αλλά συνήθως χρειάζονται μερικές ημέρες για να ολοκληρωθεί. Το πλεονέκτημα της ξήρανσης με κατάψυξη είναι ότι η διαδικασία διατηρεί τα προβιοτικά κύτταρα σε χαμηλή θερμοκρασία για να περιορίσει τη βλάβη στη δομή και τους μεταβολίτες των κυττάρων (Wolkers & Oldenhof, 2015).

Μετά την απομάκρυνση από το ξηραντήρα, το λυοφιλοποιημένο προϊόν αλέθεται προς μια πούδρα με καθορισμένο μέγεθος και πυκνότητα. Το αλεσμένο υλικό μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί για την ανάμειξη με έκδοχα (παράγοντες διόγκωσης), πρόσθετα λειτουργικά συστατικά, εάν απαιτείται, και βοηθήματα ροής. Το μείγμα στη συνέχεια παίρνει την τελική του μορφή όπως κάψουλες, φακελάκια ή δισκία. Η δοκιμή ποιότητας ελέγχου πραγματοποιείται σε δείγματα κατά το στάδιο της επεξεργασίας και στο τελικό προϊόν έτσι ώστε να παραχθεί το τελικό προϊόν με υψηλή ποιότητα και χωρίς μολυσματικούς παράγοντες.



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση παραγωγής προβιοτικών για διατροφικά συμπληρώματα και καλλιέργειες εκκίνησης (Fenster et al., 2019).

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την προβιοτική βιωσιμότητα

Πολλοί παράγοντες επηρεάζουν την προβιοτική βιωσιμότητα, όπως η οξύτητα, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, η περιεκτικότητα σε οξυγόνο, η θερμοκρασία αποθήκευσης, η συγκέντρωση σακχάρου (οσμωτικό στρες), η ενεργότητα ύδατος (a_w) και οι μεταβολίτες (Champagne et al., 2011; Martín et al., 2015). Επίσης, κάποιες μέθοδοι επεξεργασίας των προβιοτικών τροφίμων όπως η θερμική επεξεργασία (παστερίωση), οι συνθήκες ζύμωσης, η διήθηση, η συμπύκνωση, η κατάψυξη (κατεψυγμένα γαλακτοκομικά προϊόντα), η προσθήκη συστατικών με αντιβιοτικές ιδιότητες, η συσκευασία (είσοδος οξυγόνου στο προϊόν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης), οι δυσμενείς συνθήκες αποθήκευσης, μπορεί να αποτελέσουν εμπόδια όσον αφορά την επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών. Οι δυσκολίες αυτές είναι μη επιθυμητές για την παραγωγή ενός αποτελεσματικού τελικού προϊόντος.

Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των προβιοτικών επιδορπίων συνήθως εξαρτώνται από το χρησιμοποιούμενο στέλεχος και εάν αυτό το στέλεχος θα χρησιμοποιηθεί ως απομονωμένη καλλιέργεια ή θα συνδυαστεί με άλλους μικροοργανισμούς (Buriti et al., 2016). Τα συστατικά που χρησιμοποιούνται στο σκεύασμα μπορεί επίσης να επηρεάσουν τον μεταβολισμό των προβιοτικών βακτηρίων, επηρεάζοντας κυρίως το pH, ως συνέπεια της παραγωγής οργανικού οξέος. Για παράδειγμα, στο γιαούρτι και το χυμό, το pH στο τέλος της ζύμωσης θεωρείται ως ο πιο σημαντικός παράγοντας επηρεάζοντας την ανάπτυξη και τη βιωσιμότητα, ειδικά για τα είδη *Bifidobacteria* (Champagne et al., 2011). Γενικά, η έκθεση σε οξύ οδηγεί σε ενδοκυτταρική συσσώρευση πρωτονίων και δομικές βλάβες στην κυτταρική μεμβράνη, το DNA και τις πρωτεΐνες (Champagne et al., 2011).

2.4.1 Επίδραση των συστατικών, των προσθέτων και του οξυγόνου στην βιωσιμότητα των προβιοτικών

Τα συστατικά και τα πρόσθετα τροφίμων που συμβάλλουν σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά γεύσης, εμφάνισης και συνοχής είναι απαραίτητα στην παρασκευή επιδορπίων με βάση το γάλα. Αυτά περιλαμβάνουν γλυκαντικά, φρούτα, φυσικά και τεχνητά χρώματα, αρωματικούς παράγοντες, πυκνωτικά, σταθεροποιητές, και παράγοντες οξίνισης (Buriti et al., 2016). Αυτά τα συστατικά δεν πρέπει να παρεμβαίνουν στη βιωσιμότητα των προβιοτικών κατά την αποθήκευση των προϊόντων. Έτσι, προκειμένου να επιτευχθούν οι αισθητηριακές ιδιότητες που είναι επιθυμητές κατά την ανάπτυξη ενός νέου προϊόντος, είναι σημαντικό να εξεταστεί η ανοχή των προβιοτικών μικροοργανισμών στο συστατικό ή το πρόσθετο που θα συμβάλει στα πλεονεκτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων (Buriti et al., 2007; Komatsu et al., 2008; Tripathi & Giri, 2014).

Έχει μελετηθεί η επίδραση πολλών συστατικών και προσθέτων τροφίμων, που χρησιμοποιούνται ευρέως στην παραγωγή προϊόντων με βάση το γάλα, στη βιωσιμότητα των προβιοτικών στελεχών των *Bifidobacteria*, *L. acidophilus* και *L. casei* στελέχη (*L. casei*, *L. paracasei* και *L. rhamnosus*). Τα συστατικά αυτά περιλαμβάνουν τη σακχαρόζη, τα αρτυματικά αρώματα φράουλας, βανίλιας και μπανάνας, καθώς επίσης τους φυσικούς χρωματισμούς, όπως καρμίνη, κουρκουμά, μπιξίνη, φράουλα και βανίλια. Τα συστατικά αυτά σύμφωνα με μελέτες σε ορισμένες περιπτώσεις δεν επηρέασαν την ανάπτυξη των βακτηρίων, επομένως και την βιωσιμότητά τους, ενώ κάποια ανέστειλαν την ανάπτυξη των προβιοτικών βακτηρίων που μελετούνταν.

Η αναστολή των προβιοτικών βακτηρίων από υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρου οφείλεται στην όσμωση και την χαμηλή a_w (Shah & Ravula, 2000). Επίσης οι χυμοί φρούτων, το pH και η σύνθεση των οργανικών οξέων, μπορούν να επηρεάσουν τη βιωσιμότητα των προβιοτικών βακτηρίων (Kailasapathy et al., 2008; Nualkaekul & Charalampopoulos, 2011). Σύμφωνα με τους Nualkaekul και Charalampopoulos (2011), η ομοιότητα του pH μεταξύ του ενδοκυτταρικού και του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος των LAB διατηρείται μέσω της δράσης της μετατόπισης ενός πρωτονίου ATPase. Αυτό το ένζυμο απαιτεί ενέργεια για την εξώθηση των πρωτονίων από το κυτταρόπλασμα. Με αυτόν τον τρόπο, άλλες βασικές κυτταρικές λειτουργίες στερούνται ATP σε χαμηλό pH και η βιωσιμότητα των κυττάρων δεν μπορεί να διατηρηθεί. Επιπλέον, σύμφωνα με την ίδια μελέτη τα οργανικά οξέα φρούτων χρησιμοποιούνται συχνά ως συντηρητικά λόγω των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων τους. Επομένως, η πιθανότητα αρνητικής επίδρασης στην προβιοτική επιβίωση είναι υψηλή.

Όσον αφορά την ανασταλτική δράση των αρωματικών παραγόντων, πιθανώς η αντιμικροβιακή δραστηριότητα να οφείλεται στην παρουσία αιθέριου ελαίου, που αναφέρεται ότι είναι ικανό να προκαλέσει κυτταρική λύση και φαινολικές ενώσεις, όπως η ευγενόλη, το κινναμικό οξύ, η καρβακρόλη και η θυμόλη (Gutierrez et al., 2009; Inouye et al., 2001). Παρ' όλα αυτά, οι (Sagdic et al., 2012) ανέφεραν ότι η συμπλήρωση παγωτού με εκχύλισμα φλούδας ροδιού, αιθέριο έλαιο μέντας, ελαγικό οξύ, γαλλικό οξύ ή εκχύλισμα σπόρου σταφυλιών δεν επηρέασε την επιβίωση

του *Lactobacillus casei* Shirota. Επιπλέον, έχει αναφερθεί η χρήση συστατικών πλούσιων σε φαινολικές ενώσεις με αντιοξειδωτική ικανότητα για τη βελτίωση της βιωσιμότητας των προβιοτικών μικροοργανισμών σε προϊόντα διατροφής (Marsh et al., 2014; Tripathi & Giri, 2014).

Η ευαισθησία στο οξυγόνο θεωρείται επίσης ένα σημαντικό πρόβλημα στην παραγωγή και αποθήκευση προβιοτικών τροφίμων, ιδιαίτερα για διογκωμένα προϊόντα (aerated products) που περιέχουν *Bifidobacteria* (Bolduc et al., 2006; Kawasaki et al., 2006). Αυτό το γεγονός οφείλεται εν μέρει στην αναερόβια ή μικροαερόφιλη φύση αυτών των μικροοργανισμών που δεν διαθέτουν αποτελεσματικούς κυτταρικούς μηχανισμούς απομάκρυνσης οξυγόνου όπως η παραγωγή καταλάσης. Μπορεί να συσσωρευτούν τοξικοί μεταβολίτες οξυγόνου στο κύτταρο οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο από οξειδωτική βλάβη (Talwalkar & Kailasapathy, 2004b). Ως αποτέλεσμα, ενδέχεται να σημειωθεί απώλεια προβιοτικής βιωσιμότητας κατά την παραγωγή και αποθήκευση και επιβλαβής επιβίωση σε ολόκληρη την γαστρεντερική οδό (Grosso & Fávano-Trindade, 2004; Kawasaki et al., 2006). Για την προστασία των προβιοτικών βακτηρίων από τις επιβλαβείς επιδράσεις της έκθεσής τους στο οξυγόνο, έχουν αξιολογηθεί και αποδειχθεί πολλές στρατηγικές στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι η βιωσιμότητα των προβιοτικών μπορεί να βελτιωθεί με την ενσωμάτωσή τους σε μικροπήγματα ή άλλους τύπους μικροκαψουλών, ωστόσο απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να διασφαλιστεί ότι μπορούν να παραχθούν οικονομικά σε μεγάλη κλίμακα και ότι είναι αποτελεσματικά στην προστασία των προβιοτικών κατά τη διάρκεια της πραγματικής παραγωγής, αποθήκευσης και μεταφοράς τροφίμων (Yao et al., 2020). Εκτός από τους πολυσακχαρίτες που χρησιμοποιούνται παραδοσιακά στη μικροενθυλάκωση, δοκιμάζονται νέα υλικά (Martín et al., 2015).

2.4.2 Συνδυασμοί προβιοτικών μικροοργανισμών

Διαφορετικοί συνδυασμοί στελεχών επιτρέπουν την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων με στόχο τεχνολογικά χαρακτηριστικά και πιθανά οφέλη για τη διατροφή και την υγεία. Ωστόσο, οι μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, είτε ευεργετικές είτε δυσμενείς (ανταγωνισμός) μεταξύ αυτών των καλλιιεργειών μπορεί να προκαλέσουν ανεπιθύμητες αλλαγές στη σύνθεση του προβιοτικού μικροοργανισμού κατά τη διάρκεια της παρασκευής και της ψυκτικής αποθήκευσης αυτών των προϊόντων (Vinderola et al., 2008). Έτσι, πρέπει να δοκιμάζονται κατάλληλοι συνδυασμοί προβιοτικών στελεχών ειδικά για το προϊόν που χρησιμοποιείται ως φορέας για αυτόν τον συνδυασμό μικροοργανισμών, καθώς και η αναλογία μεταξύ των διαφορετικών στελεχών θα πρέπει να αξιολογείται σε όλα τα στάδια, από την προετοιμασία μέχρι το τέλος της περιόδου αποθήκευσης (Komatsu et al., 2008).

Σε μια μελέτη με καρύδα flan, οι Corrêa et al. (2008) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι, παρά το γεγονός ότι δεν υπήρχε ευνοϊκή αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο προβιοτικών στελεχών (*B. lactis* και *L. paracasei*), η βιωσιμότητα των μικροοργανισμών για τα επιδόρπια που μελετήθηκαν έφτασαν

στα κριτήρια που καθορίστηκαν για ένα προβιοτικό προϊόν διατροφής, με αποτέλεσμα ένα δυνητικά λειτουργικό προϊόν.

2.5 Προστατευτική επίδραση των συστατικών τροφίμων στα προβιοτικά βακτήρια

Λαμβάνοντας υπόψη τους διάφορους παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω, οι οποίοι είναι σε θέση να επηρεάσουν την επιβίωση των προβιοτικών στελεχών, η ανάπτυξη επιδορπίων γάλακτος με προβιοτικά πρέπει να στοχεύει στη διατήρηση της προβιοτικής βιωσιμότητας κατά την αποθήκευση των προϊόντων. Αναδύονται νέες τεχνολογίες, οι οποίες μπορούν να βελτιώσουν τη βιωσιμότητα των ανθρώπινων εντερικών στελεχών μέσω των προβιοτικών. Αυτό σημαίνει ότι μπορεί να είναι δυνατή η εκμετάλλευση πολλών «ευαίσθητων» στελεχών που μέχρι στιγμής ήταν δύσκολο να διαδοθούν και να διατηρήσουν υψηλή βιωσιμότητα (Buriti et al., 2016). Διάφορες προστατευτικές ενώσεις μπορούν επίσης να βελτιώσουν τη βιωσιμότητα των προβιοτικών καλλιέργειων κατά την παρασκευή. Παραδείγματα περιλαμβάνουν την γλυκόζη για την ενεργοποίηση κυττάρων κατά την έκθεση σε οξύ, κρυσταλλικά, όπως η ινουλίνη, για τη βελτίωση της επιβίωσης κατά την ξήρανση με κατάψυξη και λυοπροστατευτικά. Τα κρυσταλλικά αναστέλλουν τον ρυθμό ανάπτυξης πάγου αυξάνοντας το ιξώδες του διαλύματος διατηρώντας την άμορφη δομή του πάγου κοντά στο κύτταρο (Fenster et al., 2019). Τα λυοπροστατευτικά σταθεροποιούν τη λιπιδική διπλή στοιβάδα της κυτταρικής μεμβράνης απουσία νερού (Santivarangkna et al., 2008). Τα κρυσταλλικά και λυοπροστατευτικά που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι υδατάνθρακες και πεπτίδια. Επομένως, πρέπει να ενθαρρύνεται η χρήση συστατικών που έχουν ως αποτέλεσμα προστατευτική δράση έναντι αυτών των μικροοργανισμών (Ross et al., 2005).

Η ινουλίνη και το FOS (fructooligosaccharides) είναι πρεβιοτικά συστατικά που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων, λόγω των εκτεταμένων τεκμηριωμένων φυσιολογικών και λειτουργικών οφελών τους (Gibson & Roberfroid, 2008; Lobo et al., 2009), τα οποία χρησιμοποιούνται συνήθως στην παραγωγή επιδορπίων γάλακτος (Gibson & Roberfroid, 2008). Σε προβιοτικά ή συνβιοτικά προϊόντα διατροφής, τόσο η ινουλίνη όσο και το FOS μπορούν να ασκήσουν προστατευτική επίδραση στους προστιθέμενους μικροοργανισμούς, αυξάνοντας την επιβίωση και τη δραστηριότητα των προβιοτικών βακτηρίων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, καθώς και κατά τη διάρκεια παραμονής αυτών μέσω του γαστρεντερικού σωλήνα (Allgeyer et al., 2010; Donkor et al., 2007; Rodrigues et al., 2011).

Οι (Buriti et al., 2010b) παρατήρησαν ότι η ολική ή μερική αντικατάσταση του λίπους γάλακτος που χρησιμοποιήθηκε στη σύνθεση προβιοτικών σε μους γκουάβα από το πρεβιοτικό συστατικό ινουλίνη αύξησε την επιβίωση του *L. acidophilus* La-5 κατά την διάρκεια έκθεσης αυτού του προϊόντος σε *in vitro* προσομοιωμένες γαστρικές και εντερικές συνθήκες.

Άλλοι πολυσακχαρίτες, όπως η πολυδεξτρόζη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θρεπτικές πηγές από προβιοτικά βακτήρια, αυξάνοντας τη βιωσιμότητά τους στα τρόφιμα. Τα συστατικά με βάση τις πρωτεΐνες, όπως τα συμπυκνώματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος (WPC), δείχνουν επίσης

προστασία στα προβιοτικά βακτήρια στα τρόφιμα, αυξάνοντας τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια ζωής του προϊόντος (Akalin et al., 2007).

2.6 Αισθητήρια χαρακτηριστικά

Νέα συστατικά και καλλιέργειες μπορεί να αλλάξουν τις αισθητηριακές ιδιότητες των προϊόντων και να επηρεάσουν τη συνολική αποδοχή από τους καταναλωτές (Cardarelli et al., 2008). Αυτές οι αλλαγές συμβαίνουν κυρίως μέσω της παραγωγής οργανικών ενώσεων και της επακόλουθης μείωσης του pH που προκαλείται από προβιοτικούς μικροοργανισμούς, αλλάζοντας τη γεύση και το άρωμα του προϊόντος (Buriti et al., 2016). Επίσης, ενδέχεται να πραγματοποιηθούν αλλαγές στην υφή και την εμφάνιση που προκαλούνται από τη χρήση πρεβιοτικών ινών ή άλλων συστατικών, προκειμένου να αυξηθεί η βιωσιμότητα της καλλιέργειας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Helland et al., 2004; Komatsu et al., 2008).

Σε γενικές γραμμές, οι καταναλωτές δεν είναι διατεθειμένοι να δεχτούν λειτουργικά τρόφιμα με γεύση χειρότερη από τα συμβατικά τρόφιμα (Ares et al., 2009). Έτσι, η μελέτη των αισθητηριακών χαρακτηριστικών ενός προϊόντος με πρόσθετη προβιοτική καλλιέργεια ή πρεβιοτικό συστατικό και η αντίδραση του καταναλωτή σε αυτές τις αλλαγές είναι σημαντικά βήματα στην ανάπτυξη προϊόντων (Corrêa et al., 2008). Από την άλλη πλευρά, τα προβιοτικά βακτήρια, ιδιαίτερα εκείνα της ομάδας *Lactobacillus casei* (*L. casei*, *L. paracasei* και είδη *L.rhamnosus*) και τα πρεβιοτικά συστατικά παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον για τη βιομηχανία τροφίμων για τη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων (Buriti & Saad, 2007; Gibson & Roberfroid, 2008). Επομένως, είναι χρήσιμα για την παραγωγή επιδορπίων.

Όσον αφορά την εφαρμογή των πρεβιοτικών συστατικών, τα επιδόρπια ξεχωρίζουν ως ένα από τα κύρια είδη τροφίμων στα οποία προστίθενται. Οι πρεβιοτικές ίνες χρησιμοποιούνται σε επιδόρπια γάλακτος ως παράγοντες δομής και υφής, σταθεροποιητές και υποκατάστατα λίπους ή και ζάχαρης, συμβάλλοντας παράλληλα σε πολλά ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία (Frank, 2002; Gibson & Roberfroid, 2008). Οι φυσικοχημικές ιδιότητες της ινουλίνης συνδέονται με την DP (degree of polymerization ή βαθμό πολυμερισμού) της. Το κλάσμα μικρής αλυσίδας, η ολιγοφρουκτόζη, είναι πολύ πιο διαλυτό και πιο γλυκό από την φυσική ινουλίνη και τη μακρά αλυσίδα, συμβάλλοντας στη βελτίωση της αίσθησης στο στόμα, λόγω των ιδιοτήτων του που είναι παρόμοιες με αυτές των άλλων σακχάρων. Από την άλλη πλευρά, η ινουλίνη μακράς αλυσίδας είναι λιγότερο διαλυτή και πιο ιξώδης από τη φυσική ένωση, και είναι χρήσιμη ως τροποποιητής υφής (Meyer et al., 2011).

Σε σύγκριση με τη σακχαρόζη, η ολιγοφρουκτόζη έχει γλυκύτητα περίπου 35%. Αυτή η πρεβιοτική ίνα είναι ένας ολιγοσακχαρίτης μικρής αλυσίδας που λαμβάνεται με μερική ενζυματική υδρόλυση ινουλίνης. Έχει γλυκαντικό προφίλ, που είναι πολύ κοντά σε αυτό της ζάχαρης, πολύ καθαρή γεύση και δεν παρουσιάζει παρατεταμένη δράση. Αυτή η ίνα χρησιμοποιείται στην παραγωγή επιδορπίων και είναι πολύ ελπιδοφόρα όταν χρησιμοποιείται μαζί με φρούτα,

βελτιώνοντας το άρωμα και την αίσθηση της γεύσης του στόματος. Εκτός αυτού, η ολιγοφρουκτόζη είναι χρήσιμη σε επιδόρπια δίαιτας επειδή μειώνει την επίγευση, κοινή σε προϊόντα στα οποία υπάρχουν έντονα γλυκαντικά, όπως η ασπαρατάμη, η ακεσουλφάμη K και η σουκραλόζη. Το πρεβιοτικό συστατικό ινουλίνη χαρακτηρίζεται από μια ήπια ουδέτερη γεύση, απουσία οποιασδήποτε αλλοίωσης γεύσης ή επίγευσης. Επειδή έχει πολύ πλεονεκτικές ιδιότητες πηκτωματοποίησης, η ινουλίνη είναι το πρεβιοτικό συστατικό που χρησιμοποιείται κυρίως στην παραγωγή επιδορπίων. Βελτιώνει τη δομή αφρού και τη σταθερότητα του γαλακτώματος στα αεριούχα επιδόρπια. Η προσθήκη χαμηλών ποσοστών (1-4%) ινουλίνης σε μους γαλακτοκομικών προϊόντων (σοκολάτα, φρούτα, γιαούρτι ή με βάση το φρέσκο τυρί) αυξάνει τη δυνατότητα επεξεργασίας για παρατεταμένες περιόδους αποθήκευσης και παρέχει αναβαθμίσεις ποιότητας, σε σύγκριση με τα συμβατικά μους (Gibson & Roberfroid, 2008; Manthey & Xu, 2010).

Οι Morais et al. (2014a) ανέφεραν ότι η προσθήκη ενός πρεβιοτικού (που περιέχει ινουλίνη και FOS, 50:50) και ενός μείγματος κόμμεων (με ξανθάνη και γκουάρ) στα επιδόρπια γάλακτος με σοκολάτα επηρέασε την αποδοχή τους. Η επίδραση εξαρτήθηκε από τις συγκεντρώσεις των πρεβιοτικών και των κόμμεων. Επιπλέον, η ανάλυση της ιδανικής γλυκύτητας αποκάλυψε ότι η ιδανική συγκέντρωση σακχαρόζης ήταν 8,13% (Morais et al., 2014a).

Σε μια άλλη μελέτη, οι Morais et al. (2014b) αξιολόγησαν την αισθητηριακή ποιότητα των επιδορπίων γαλακτοκομικών προϊόντων σοκολάτας που περιείχαν πρεβιοτικά συστατικά (7,5% ινουλίνη και FOS 50:50) και υποκατάστατα σακχαρόζης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η σουκραλόζη και η ασπαρατάμη παρείχαν δυναμικό αισθητήριο προφίλ με καμπύλες παραμέτρων παρόμοιες με εκείνες με τη σακχαρόζη (Morais et al., 2014b).

Οι μους σοκολάτας συμπληρωμένες με *L. paracasei* LBC 82, με ή χωρίς ινουλίνη, αξιολογήθηκαν σχετικά με την οργανική υφή τους σε μελέτη που διεξήχθη από τους (Cardarelli et al., 2008). Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη, η προσθήκη ινουλίνης συνέβαλε στην αύξηση της σταθερότητας και στην υψηλότερη απόλυτη συγκολλητικότητα (0,956 N), μετά από 28 ημέρες αποθήκευσης στους 4 ± 1 ° C, επιβεβαιώνοντας την αυξημένη σταθερότητα αεριωμένης δομής, μια τεχνολογική ιδιότητα που συνήθως αποδίδεται σε αυτό το συστατικό. Εκτός από αυτήν την ιδιότητα, η ινουλίνη έχει μια απαλή, λιπαρή αίσθηση στο στόμα και μπορεί να συμβάλει στην ισορροπημένη απελευθέρωση γεύσης (Gibson & Roberfroid, 2008). Οι μους σοκολάτας που περιείχαν *L. paracasei* και ινουλίνη υποβλήθηκαν σε μια δοκιμή διαφοράς από εκπαιδευμένους δοκιμαστές, σχετικά με τα χαρακτηριστικά του χρώματος, του αρώματος, της υφής, της γεύσης και της συνέπειας. Οι μους με *L. paracasei* και ινουλίνη διέφεραν σε όλα αυτά τα χαρακτηριστικά ($p < 0,05$) και οι διαφορές θεωρήθηκαν ευνοϊκές και επωφελείς για το συνβιοτικό προϊόν, ειδικά για την υφή και τη γεύση (Cardarelli et al., 2008).

Ακόμα κι αν η ινουλίνη μακράς αλυσίδας σχηματίζει ένα σωματιδιακό πηκτωμα κρυστάλλων ινουλίνης παρουσία νερού, το οποίο συχνά βελτιώνει τη συνοχή των προϊόντων με χαμηλά λιπαρά, μπορεί επίσης να είναι υπεύθυνο για την τραχιά αίσθηση σε αυτά τα προϊόντα.

Σύμφωνα με τους (Arcia et al., 2011b) που ετοίμασαν πρεβιοτικά γαλακτοκομικά επιδόρπια με 2,5%, 5,0% και 7,5% ινουλίνη μακράς αλυσίδας και, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ψύξης, στα προϊόντα προστέθηκε μια μικρή ποσότητα πρεβιοτικού σε σκόνη, η προσθήκη ινουλίνης είχε σημαντική επίδραση στα επιδόρπια, τις ρεολογικές ιδιότητες και τη μικροδομή. Για όλες τις συγκεντρώσεις ινουλίνης, η τεχνική πρόσθεσης ευνόησε τον ταχύτερο σχηματισμό αυξημένου αριθμού και σωματιδίων ινουλίνης κανονικού μεγέθους.

2.7 Σχηματισμός πηκτής και ιδιότητες πρεβιοτικών πηκτωμάτων

Μερικές πρεβιοτικές ίνες μπορούν να προσδώσουν ιδιότητες πηκτωματοποίησης στα επιδόρπια γάλακτος. Σε αντίθεση με αυτό που παρατηρείται με την εφαρμογή αρκετών προβιοτικών μικροοργανισμών, η παρασκευή επιδόρπιων γάλακτος με ινουλίνη είναι πλεονεκτική επειδή αυτά τα πρεβιοτικά δείχνουν καλή σταθερότητα κατά τη διάρκεια των συνήθων σταδίων επεξεργασίας τροφίμων, ειδικά κατά τη θερμική επεξεργασία (Buriti et al., 2016). Σε θερμοκρασία δωματίου, η διαλυτότητα των φρουκτανών τύπου ινουλίνης μειώνεται με αυξημένο βαθμό πολυμερισμού (DP). Για αυτό το λόγο, μπορεί να χρειαστεί υψηλή θερμοκρασία για να διαλυτοποιηθεί η ινουλίνη μακράς αλυσίδας κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τροφίμων. Ωστόσο, οι β-δεσμοί μεταξύ των μονάδων φρουκτόζης στο FOS μπορεί μερικώς να υδρολυθούν σε πολύ όξινες συνθήκες (Franck, 2002; Gibson & Roberfroid, 2008; Kim et al., 2001; Macfarlane et al., 2007).

Τα πηκτώματα τροφίμων μπορούν να σχηματιστούν από πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες, οι οποίοι μπορούν να συμμετέχουν στο σχηματισμό πηκτής με τη μορφή διαλυμάτων, διασπορών, μικκυλίων ή ακόμη και σε διασπασμένες δομές ιστών (Buriti et al., 2016). Πολλοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το σχηματισμό πηκτής από πολυσακχαρίτες, συμπεριλαμβανομένων των σταδίων επεξεργασίας τροφίμων, άλλων συστατικών, θέρμανσης, θερμοκρασίας και pH. Αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν επίσης στην αντοχή του πηκτώματος, εκτός από άλλες ρεολογικές ιδιότητες (Kim et al., 2001).

Τα περισσότερα από τα επιδόρπια γάλακτος αποτελούνται από συστατικά που αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες του γάλακτος και επηρεάζουν τη σταθερότητα και τη συνοχή τους, συμπεριλαμβανομένων των αμύλων ή και αρκετών τύπων υδροκολλοειδών (Staffolo et al., 2007). Τα εγγενή και τροποποιημένα άμυλα από διαφορετικές πηγές, ειδικά από αραβόσιτο, ρύζι και ταπίοκα, χρησιμοποιούνται ευρέως για την παραγωγή προβιοτικών ή /και πρεβιοτικών επιδορπίων γάλακτος, λόγω των πυκνωτικών και πηκτικών ιδιοτήτων τους (Corrêa et al., 2008; González-Tomás et al., 2009b; Helland et al., 2004; Magariños et al., 2008; Tárrega & Costell, 2006b).

Τα εγγενή άμυλα ενδέχεται να εμφανίζουν ανεπιθύμητες ιδιότητες όταν υποβάλλονται σε ορισμένες συνθήκες διεργασίας, συμπεριλαμβανομένης της θερμοκρασίας, του pH ή της πίεσης. Επιπλέον, η χαμηλή αντίσταση σε υψηλούς ρυθμούς διάτμησης, η υψηλή ευαισθησία στην αναδιαμόρφωση και η συναίρεση μπορεί να περιορίσουν την εφαρμογή των φυσικών αμύλων (Bertolini, 2010; Huber & BeMiller, 2010). Από την άλλη πλευρά, σε σύγκριση με τα φυσικά άμυλα,

τα τροποποιημένα άμυλα παρουσιάζουν υψηλότερη θερμομηχανική αντίσταση και είναι πιο σταθερά, επιτρέποντας την παραγωγή πιο συνεκτικών γαλακτοκομικών επιδορπίων και λιγότερο ευαίσθητων στη συναίρεση (Tarrega & Costell, 2006a). Οι ιδιότητες του αμύλου μπορεί να επηρεαστούν θετικά από την εισαγωγή μικρών ποσοτήτων ιονικών ή υδρόφοβων ομάδων στη δομή του. Με αυτόν τον τρόπο, βελτιώνονται ιδιότητες όπως το ιξώδες της λύσης, η συμπεριφορά συσχέτισης και η σταθερότητα της διάρκειας ζωής των τελικών προϊόντων (Xie et al., 2005).

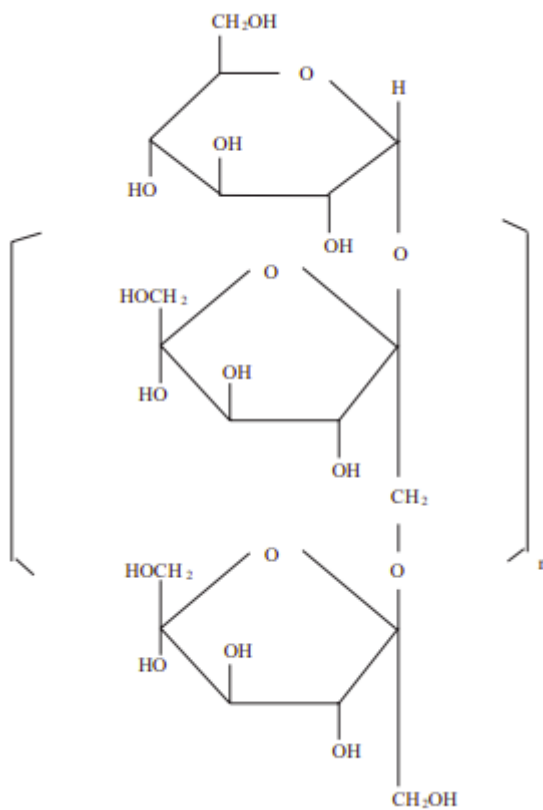
Τα υδροκολλοειδή χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα τροφίμων. Λόγω των τεχνολογικών ιδιοτήτων τους, χρησιμοποιούνται πλεονεκτικά για την πύκνωση, τη σταθεροποίηση, τη διεύρυνση, την προσθήκη ιξώδους και ελαστικότητας και για την παροχή της επιθυμητής υφής στο προϊόν διατροφής (Brownlee, 2011; Maruyama et al., 2006). Αυτές οι ενώσεις είναι κυρίως πολυσακχαρίτες, αλλά χρησιμοποιούνται επίσης μερικές πρωτεΐνες (Burey et al., 2008). Συχνά, οι πολυσακχαρίτες που χρησιμοποιούνται ως υδροκολλοειδή είναι κόμμεα μακράς αλυσίδας αποτελούμενα από υδατοδιαλυτά πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους με ικανότητα σχηματισμού πηκτής.

Προκειμένου να επιλεγεί το καταλληλότερο υδροκολλοειδές, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η σύνθεση του επιδόρπιου, ιδίως η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, εκτός του pH και οι συνθήκες που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια των σταδίων παραγωγής του επιδόρπιου. Τα υδροκολλοειδή είναι ευπαθή στη διάτμηση, τη θερμική επεξεργασία και την οξύτητα και αυτοί οι παράγοντες μπορεί να οδηγήσουν σε δυσμενείς αλλαγές στις τεχνολογικές τους ιδιότητες (Rapaille & Vanhemelrijck, 1998). Για το λόγο αυτό, σύμφωνα με το προϊόν που θα ληφθεί και τις λειτουργικές μονάδες και τις συνθήκες που πρέπει να χρησιμοποιούνται, οι συνδυασμοί διαφορετικών κόμμεων χρησιμοποιούνται συχνά από τη βιομηχανία τροφίμων. Οι καραγενάνες (κυρίως κ- και ι-καραγενάνες), γαλακτομαννάνες (γκουάρ, χαρουπιά και κόμμι ταρά), πηκτίνη και ξανθάνη είναι από τα κομμεα που χρησιμοποιούνται περισσότερο στην παραγωγή τροφίμων (Bayarri et al., 2010; Buriti et al., 2014; Maruyama et al., 2006). Οι πρωτεΐνες κολλαγόνου χρησιμοποιούνται επίσης ως σταθεροποιητικοί παράγοντες στην παραγωγή επιδορπίων με βάση το γάλα. Η ζελατίνη αποτελείται από ζωικές πρωτεΐνες που προέρχονται από το κολλαγόνο. Αυτό το πρόσθετο χρησιμοποιείται ως αφριστικός και σταθεροποιητικός παράγοντας.

2.8 Η ινουλίνη ως υποκατάστατο λίπους σε επιδόρπια γάλακτος χαμηλής λιποπεριεκτικότητας

Λόγω της σημαντικής αύξησης της παχυσαρκίας, υπάρχει έντονη ζήτηση από τη βιομηχανία τροφίμων προς την ανάπτυξη προϊόντων τροφίμων με χαμηλή περιεκτικότητα σε θερμίδες (Buriti et al., 2016). Λόγω των θρεπτικών και τεχνολογικών ιδιοτήτων της, η ινουλίνη χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων και μία από τις τεχνολογικές χρήσεις αυτής της ίνας είναι ως υποκατάστατο λίπους στα τρόφιμα (Komatsu et al., 2013). Στις ΗΠΑ το 2018, ο FAO ενέκρινε την ινουλίνη ως συστατικό διαιτητικών ινών και μπορεί να χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της θρεπτικής αξίας των παραγόμενων τροφίμων (FAO, 2018). Το κichώριο χρησιμοποιείται κυρίως ως

πρώτη ύλη για βιομηχανική παραγωγή ινουλίνης ως συστατικό τροφίμων (Meyer et al., 2011). Στο **Σχήμα 3** φαίνεται η δομή της ινουλίνης (Kalyani Nair et al., 2010).



Σχήμα 3. Δομή της ινουλίνης, $n = 2 - 60$ (Kalyani Nair et al., 2010).

Η προσθήκη ινουλίνης σε χαμηλές αναλογίες (2-3%) σε επιδόρπια γάλακτος με χαμηλά λιπαρά προσδίδει μια πιο ισορροπημένη στρογγυλή γεύση και μια πιο κρεμώδη αίσθηση στο στόμα (Gibson & Roberfroid, 2008). Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι στη συγκεκριμένη περίπτωση προϊόντων με χαμηλά λιπαρά, η επίδραση της ινουλίνης στην υφή και στην αντίληψη της γεύσης εξαρτάται από διάφορους παράγοντες και όχι μόνο από την ποσότητα ινουλίνης που προστίθεται για να αντικαταστήσει το πλήρες λίπος του γάλακτος ή τη κρέμα γάλακτος (Buriti et al., 2016). Αρκετές μελέτες ανέφεραν ότι η επιτυχής χρήση ινουλίνης ως υποκατάστατου λίπους σε επιδόρπια γάλακτος χαμηλής λιποπεριεκτικότητας εξαρτάται από την ισορροπία της συγκέντρωσης ινουλίνης με τα υπόλοιπα συστατικά που υπάρχουν στη σύνθεση. Τα συστατικά αυτά περιλαμβάνουν τα ακόλουθα: WPC (Buriti et al., 2010a), πολυσακχαρίτες - υδροξυποπυλωμένο κηρώδες άμυλο αραβοσίτου (Tárrega & Costell, 2006b), άμυλο ταπιόκας (Arcia et al., 2010), λ-καρραγενάνη (Tárrega et al., 2010) ή ακόμα και λίπος γάλακτος (Torres et al., 2010). Επιπλέον, η επιλογή ινουλίνης με κατάλληλη DP μπορεί να οδηγήσει σε καλύτερη υφή και αισθητηριακά αποτελέσματα στο τελικό προϊόν (Torres et al., 2010). Ο βαθμός πολυμερισμού (DP) της τυπικής ινουλίνης κυμαίνεται από 2 έως 60.

Η εγγενής ινουλίνη μακράς αλυσίδας οδηγεί στο σχηματισμό μιας δομής πηκτής που αποτελείται από ένα δίκτυο κρυσταλλικών σωματιδίων σε συμπυκνωμένα υδατικά διαλύματα. Ο

ρυθμός κρυστάλλωσης και η σταθερότητα της πηκτής γενικά αυξάνονται με την υψηλότερη συγκέντρωση ινουλίνης. Άλλοι παράγοντες, που επίσης συμβάλλουν είναι η επεξεργασία διάτμησης και η παρουσία κρυστάλλων σποράς μετά την προετοιμασία, αυτό εξαρτάται από τη θερμική επεξεργασία (Torres et al., 2010). Σε σύγκριση με τη φυσική ινουλίνη, μια ινουλίνη μακράς αλυσίδας είναι πιο θερμικά σταθερή, λιγότερο διαλυτή, πιο ιξώδης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υποκατάστατο λίπους, με σχεδόν διπλή απόδοση (Tárrega et al., 2011). Η ιδιότητα της ινουλίνης μακράς αλυσίδας να δρα ως μιμητής λίπους ή αντικαταστάτης λίπους σχετίζεται με την ικανότητά της να σχηματίζει μικροκρυστάλλους που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας μικρά συσσωματώματα. Αυτά τα αδρανή που σχηματίζονται αποκλείουν μια μεγάλη ποσότητα νερού, δημιουργώντας μια λεπτή και κρεμώδη υφή που παρέχει αίσθηση στο στόμα παρόμοια με αυτή του λίπους (Meyer et al., 2011).

Παρόλο που η ινουλίνη μπορεί να λειτουργήσει ως καλό υποκατάστατο λίπους στα γαλακτοκομικά επιδόρπια, αυτή η συμπεριφορά δεν σχετίζεται μόνο με τις αλλαγές της ρεολογικής συμπεριφοράς ή της πυκνότητας ή της σκληρότητας του προϊόντος, αλλά και με τροποποιήσεις άλλων χαρακτηριστικών στοματικής αίσθησης ως κρεμώδης ή απαλότητα. Σε γενικές γραμμές, για την απόκτηση προϊόντων χαμηλών λιπαρών με ρεολογία και πυκνότητα παρόμοια με τα προϊόντα πλήρους λίπους, απαιτούνται υψηλότερες συγκεντρώσεις ινουλίνης από αυτές που είναι απαραίτητες για τη μίμηση της κρεμώδους ή της απαλότητας (Meyer et al., 2011). Επομένως, όλες οι μελέτες σχετικά με την εφαρμογή ινουλίνης σε επιδόρπια γαλακτοκομικών προϊόντων με χαμηλά λιπαρά τονίζουν τη σημασία της δοκιμής διαφορετικού συνδυασμού συστατικών σε σκευάσματα, προκειμένου να επιτευχθεί ένας κατάλληλος συνδυασμός έτσι ώστε να αποφεύγονται ανεπιθύμητες αλλαγές που χαρακτηρίζουν εσφαλμένα τα προϊόντα.

4. Κλινική σημασία των προβιοτικών μικροοργανισμών στην υγεία

Τα προβιοτικά είναι ζωντανοί μη παθογόνοι μικροοργανισμοί. Πολλοί από αυτούς τους μικροοργανισμούς αποτελούν μέρος της φυσιολογικής ανθρώπινης χλωρίδας του εντέρου, όπου ζουν σε μια συμβιωτική σχέση. Τα προβιοτικά έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία γαστρεντερικών (ΓΕ) και μη ΓΕ ιατρικών παθήσεων. Ωστόσο, τα δεδομένα που υποστηρίζουν τη χρήση τους είναι συχνά αντικρουόμενα, ειδικά για ασθένειες που δεν σχετίζονται με ΓΕ παθήσεις (Islam, 2016), αν και έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν πολλά κλινικά αποτελέσματα που είναι μη γαστρεντερικών παθήσεων.

Αναδυόμενες ενδείξεις υποδηλώνουν ότι το μικροβίωμα του έντερου μπορεί να επηρεάσει αρκετές μη γαστρεντερικές παθήσεις, δημιουργώντας έτσι έναν σύνδεσμο μεταξύ αυτών των καταστάσεων και του γαστρεντερικού σωλήνα. Τα ισχυρότερα στοιχεία που υποστηρίζουν τη χρήση προβιοτικών σχετίζονται με τη θεραπεία της οξείας διάρροιας και του σακχαρώδη διαβήτη. Το ατοπικό έκζεμα σε παιδιά και οι ουρογεννητικές λοιμώξεις είναι οι μόνες ιατρικές παθήσεις που δεν σχετίζονται με ΓΕ παθήσεις όπου τα προβιοτικά μπορεί να έχουν κάποια ευεργετικά αποτελέσματα. Η επιλογή και η δοσολογία των προϊόντων δεν είναι οι ίδιες σε όλες τις συνθήκες και τα ευεργετικά αποτελέσματα κάθε προβιοτικού στελέχους δεν μπορούν να γενικευτούν. Επιπλέον, το όφελος των προβιοτικών κατά την περιγεννητική περίοδο στην πρόληψη της αλλεργικής νόσου έχει οδηγήσει σε σύσταση του Παγκόσμιου Οργανισμού Αλλεργίας σχετικά με τη χρήση προβιοτικών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, του θηλασμού και του απογαλακτισμού σε οικογένειες με υψηλό κίνδυνο αλλεργικής ασθένειας (Guarner et al., 2017).

Οι καταναλωτές χρησιμοποιούν προβιοτικά για τη θεραπεία πολλών καταστάσεων υγείας, που κυμαίνονται από ασθένειες του γαστρεντερικού συστήματος έως την απώλεια βάρους. Πολλοί από τους ισχυρισμούς των προβιοτικών παρασκευαστών δεν υποστηρίζονται από κλινικά δεδομένα και απαιτούν περαιτέρω μελέτες. Επιπλέον, δεν υπάρχουν διαθέσιμα σύνολα συστάσεων ή οδηγίες από τον FDA για τα προβιοτικά. Η πιο συνηθισμένη χρήση προβιοτικών είναι για ασθένειες του γαστρεντερικού σωλήνα. Ωστόσο, δεν είναι σαφές εάν άλλες ασθένειες που δεν σχετίζονται με τη γαστρεντερική οδό θα μπορούσαν να επωφεληθούν από τη χρήση προβιοτικών.

Η χρήση προβιοτικών για όφελος ως προς την υγεία είναι ένας συναρπαστικός τομέας έρευνας που στην παρούσα εποχή ακόμη διερευνάται. Μερικές από τις εκλεκτές ιδιότητες των προβιοτικών, είναι η αντιπαθογόνος δράση, η καταπολέμηση της παχυσαρκίας, καθώς επίσης και η αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιαλλεργική και αγγειογενετική δράση και η επίδρασή τους στον εγκέφαλο και το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) (Kerry et al., 2018), που στην παρούσα εργασία δεν μπορούν να αναλυθούν.

Έχουν μελετηθεί ως λειτουργικοί παράγοντες σε οποιεσδήποτε μη μεταδοτικές ασθένειες, όπως ο διαβήτης, η υπέρταση και η υπερχοληστερολαιμία (Granato et al., 2019).

4.1 Γαστρεντερικές παθήσεις

4.1.1 Διάρροια του ταξιδιώτη – Traveler’s Diarrhea

Περίπου 50% έως 80% των περιπτώσεων διάρροιας του ταξιδιώτη προκαλούνται από βακτήρια, ενώ τα υπόλοιπα περιστατικά προκαλούνται από ιούς και πρωτόζωα (Guarner et al., 2017). Το *E. coli* είναι η πιο κοινή αιτία της διάρροιας των ταξιδιωτών.

Μια ανασκόπηση του 2018 αξιολόγησε 11 μελέτες προβιοτικών ή πρεβιοτικών για την πρόληψη της διάρροιας των ταξιδιωτών και διαπίστωσε ότι μπορεί να είναι χρήσιμα (Bae, 2018). Ωστόσο, η κριτική δεν αξιολόγησε την ποιότητα των μελετών και δεν περιλάμβανε δεδομένα για παρενέργειες.

Μια οδηγία για κλινική πρακτική του 2017 από τη Διεθνή Εταιρεία Ταξιδιωτικής Ιατρικής ανέφερε ότι δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να προτείνουν προβιοτικά ή πρεβιοτικά για την πρόληψη ή τη θεραπεία της διάρροιας των ταξιδιωτών (Riddle et al., 2017). Οι οδηγίες αναγνώρισαν ότι υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ένα μικρό όφελος, αλλά επεσήμαναν ότι οι μελέτες ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό από παράγοντες όπως τα προβιοτικά στελέχη που χρησιμοποιούνται, οι αιτίες της διάρροιας και οι γεωγραφικές τοποθεσίες. Επίσης, ορισμένες μελέτες είχαν αδυναμίες στο σχεδιασμό τους. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ασυνεπή αποτελέσματα στη χρήση προβιοτικών για τη θεραπεία της διάρροιας του ταξιδιώτη (Islam, 2016).

4.1.2 Διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά – Antibiotic Associated Diarrhea (AAD)

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα προβιοτικά μειώνουν τη συχνότητα της διάρροιας που σχετίζεται με αντιβιοτικά. Αρκετές μετα-αναλύσεις έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα για τη προβιοτική θεραπεία στη διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά (McFarland, 2006; Szajewska et al., 2006).

Η λήψη αντιβιοτικών είναι ένας κοινός τρόπος θεραπείας στα παιδιά, με το 11% έως 40% των παιδιών που λαμβάνουν αντιβιοτικά να αναπτύσσουν διάρροια (Guo et al., 2019). Τα αντιβιοτικά μεταβάλλουν τη μικροβιακή ισορροπία που συνήθως οδηγεί σε διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά (AAD). Αυτές οι μεταβολές του μικροβιώματος έχουν ως αποτέλεσμα αλλαγές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, με μειωμένη απορρόφηση λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας και ως αποτέλεσμα οσμωτική διάρροια. Μια ανασκόπηση Cochrane του 2019 κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπήρχε προστατευτική επίδραση ορισμένων προβιοτικών για την AAD στα παιδιά (Guo et al., 2019). Η ίδια ανασκόπηση ανέφερε ότι η προβιοτική χρήση θα πρέπει να αποφεύγεται σε παιδιατρικούς πληθυσμούς που διατρέχουν κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών, όπως τα παιδιά με σοβαρή εξασθένιση ή ανοσοκαταστολή. Η πιθανή αποτελεσματικότητα των προβιοτικών στη θεραπεία της AAD εξαρτάται από τα προβιοτικά στελέχη και τη δοσολογία (Doron et al., 2008; Surawicz, 2008).

4.1.3 Πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου

Αν και η διατροφή θεωρείται ότι συμβάλλει στην εμφάνιση καρκίνου του παχέος εντέρου, τόσο τα προβιοτικά όσο και τα πρεβιοτικά έχουν αποδειχθεί ότι βελτιώνουν τους βιοδείκτες που σχετίζονται με τον καρκίνο του παχέος εντέρου (Guarner et al., 2017). Ωστόσο, τα δεδομένα που υπάρχουν, σε ανθρώπους που δείχνουν οποιοδήποτε όφελος από προβιοτικά ή πρεβιοτικά στην πρόληψη του καρκίνου του παχέος εντέρου, είναι περιορισμένα.

4.1.4 Οξεία διάρροια σε παιδιά

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα προβιοτικά μειώνουν τη συχνότητα της διάρροιας που σχετίζεται με αντιβιοτικά. Αρκετές μετα-αναλύσεις έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα για τη χρήση προβιοτικών στη διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά. Σύμφωνα με τους (Allen et al., 2010), οι οποίοι ανέλυσαν 63 δοκιμές που αφορούσαν κυρίως βρέφη και παιδιά, ανέφεραν μικρότερη διάρκεια διάρροιας και μειωμένη συχνότητα κοπράνων. Η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν ευεργετικά αποτελέσματα των προβιοτικών για τη θεραπεία της οξείας διάρροιας. Ωστόσο, αυτή η ανασκόπηση πρότεινε ότι απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να καθοριστούν σαφείς οδηγίες για την επιλογή προϊόντος, τη δοσολογία και συγκεκριμένους πληθυσμούς ασθενών.

4.1.5 Πρόληψη της διάρροιας από το *Clostridium difficile*

Μια μετα-ανάλυση του 2016 κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα προβιοτικά μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης διάρροιας που σχετίζεται με *C. difficile* σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιβιοτικά (Chamberlain & Lau, 2016). Ωστόσο, απαιτούνται πρόσθετες μελέτες για να προσδιοριστεί η καλύτερη δοσολογία και το στέλεχος.

4.1.6 Πρόληψη διάρροιας που προκαλείται από ακτινοβολία

Το μικροβίωμα του εντέρου μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διάρροια που προκαλείται από ακτινοβολία ενισχύοντας τη λειτουργία του εντερικού φραγμού, βελτιώνοντας την έμφυτη ανοσία και τονώνοντας τους μηχανισμούς της εντερικής αποκατάστασης. Μια μετα-ανάλυση του 2013 κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα προβιοτικά μπορεί να είναι ευεργετικά στην πρόληψη και πιθανώς στη θεραπεία της διάρροιας που προκαλείται από ακτινοβολία (Hamad et al., 2013).

4.1.7 Εξάλειψη του *Helicobacter pylori*

Η έκθεση συναίνεσης του Μάαστριχτ V / Φλωρεντίας 2016 σχετικά με τη διαχείριση της λοίμωξης από το *H. pylori* κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά δείχνουν ενδείξεις μείωσης των παρενεργειών της θεραπείας για το *H. pylori* (Malfertheiner et al., 2017). Ωστόσο, η ποιότητα των αποδεικτικών στοιχείων και ο βαθμός σύστασης ήταν χαμηλός. Μια μετα-ανάλυση το 2014 τυχαιοποιημένων δοκιμών (Dang et al., 2014) υποδηλώνει ότι η συμπλήρωση των αντι-*H. pylori* αντιβιοτικών με ορισμένα προβιοτικά μπορεί επίσης να είναι αποτελεσματικά στην αύξηση

του ποσοστού εξάλειψης και μπορεί να θεωρηθεί χρήσιμο για ασθενείς με αποτυχία εξάλειψης. Δεν υπάρχει καμία απόδειξη που να υποστηρίζει την ιδέα ότι μόνο ένα προβιοτικό, χωρίς ταυτόχρονη αντιβιοτική θεραπεία, θα ήταν αποτελεσματική (Guarner et al., 2017).

4.1.8 Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου – Inflammatory Bowel Disease (IBD)

Το IBD είναι ένας συνδυασμός ασθενειών που περιλαμβάνουν τη νόσο του Crohn, την ελκώδη κολίτιδα – ulcerative colitis (UC) και τη σακχαρώδη νόσο (rouchitis). Η ακριβής αιτιολογία του IBD είναι άγνωστη. Ωστόσο, μια αλλαγή στη φυσιολογική εντερική χλωρίδα είναι μία από τις εκδηλώσεις αυτής της ασθένειας. Ο μηχανισμός δράσης των προβιοτικών στο IBD δεν είναι πλήρως κατανοητός. Τα προβιοτικά μπορεί να ασκήσουν τα αποτελέσματά τους τροποποιώντας την εντερική χλωρίδα (Schultz et al., 2003) και την εντερική ανοσοαπόκριση (Tannock et al., 2000). Μια κλινική ανασκόπηση που δημοσιεύτηκε από τους Ailsa et al στο περιοδικό Journal of Gastroenterology συζήτησε την αποτελεσματικότητα των προβιοτικών για τη θεραπεία της IBD (Hart et al., 2003). Αποδείχθηκαν αποτελεσματικά τα προβιοτικά στο IBD, αλλά υπάρχει ανάγκη για μια μεγάλη ελεγχόμενη δοκιμή για τον καθορισμό οριστικών κριτηρίων σχετικά με τη χρήση των προβιοτικών στη θεραπεία με IBD. Κανένα στοιχείο για τη χρήση προβιοτικών δεν δείχνει την αποτελεσματικότητά τους στη θεραπεία της νόσου του Crohn (DuPont et al., 2014; Guarner et al., 2017; Saez-Lara et al., 2015).

4.1.9 Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου – Irritable Bowel Syndrome (IBS)

Το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) είναι μια χρόνια λειτουργική διαταραχή του εντέρου. Η χρήση προβιοτικών στο IBS παραμένει υπό μελέτη, όπως παραμένει αβέβαιο σχετικά με το είδος του προβιοτικού που λειτουργεί καλύτερα και η πιθανή επίδραση του (Saez-Lara et al., 2015). Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει βελτίωση ορισμένων συμπτωμάτων του IBS μετά τη χρήση προβιοτικών. Ωστόσο, λείπουν οριστικά στοιχεία.

Μια μετα-ανάλυση εξέτασε 20 δοκιμές που περιλάμβαναν συνολικά 1404 ασθενείς (McFarland & Dublin, 2008). Αυτές οι μελέτες ήταν τυχαιοποιημένες, ελεγχόμενες και τυφλές δοκιμές που διερεύνησαν τη χρήση προβιοτικών για τη θεραπεία του IBS. Αυτή η μετα-ανάλυση αποκάλυψε ότι η προβιοτική χρήση συσχετίστηκε με βελτίωση των παγκόσμιων συμπτωμάτων IBS σε σύγκριση με το εικονικό. Επιπλέον, υπήρξε μείωση του πόνου που σχετίζεται με το IBS. Αυτή η μελέτη δεν αξιολόγησε άλλα συμπτώματα, όπως φούσκωμα, διάρροια ή μετεωρισμός και τα δεδομένα για τη θετική επίδραση βάσει αυτών των μελετών δεν είναι επαρκή.

Μια συστηματική ανασκόπηση με μετα-ανάλυση του 2018 σε 53 μελέτες προβιοτικών για το IBS κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα προβιοτικά μπορεί να έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στα συμπτώματα IBS και στον κοιλιακό πόνο, αλλά δεν ήταν δυνατό να εξαχθούν οριστικά συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητά τους ή να εντοπιστούν ποια είδη, στελέχη ή συνδυασμοί προβιοτικών είναι πιο πιθανό να είναι χρήσιμα (Ford et al., 2018).

4.1.10 Νεκρωτική εντεροκολίτιδα - Necrotizing enterocolitis (NEC)

Τα προβιοτικά μειώνουν τον κίνδυνο νεκρωτικής εντεροκολίτιδας στα πρόωρα νεογνά σύμφωνα με αρκετές κλινικές μελέτες. Μια μετα-ανάλυση έδειξε ότι τα προβιοτικά μειώνουν αυτούς τους κινδύνους κατά περισσότερο από 50% σε σύγκριση με τους ελέγχους, αλλά χρειάζονται περαιτέρω, υψηλής ποιότητας δοκιμές για τον καθορισμό οριστικών κριτηρίων σχετικά με τη χρήση των προβιοτικών (Sharif et al., 2020).

4.1.11 Δυσκοιλιότητα

Μια ανασκόπηση του 2014 σε 14 μελέτες προβιοτικών για την δυσκοιλιότητα σε ενήλικες έδειξε κάποια ένδειξη οφέλους, ειδικά για το *Bifidobacterium lactis* (Dimidi et al., 2014).

Μια συστηματική ανασκόπηση του 2017 σε μελέτες προβιοτικών για την δυσκοιλιότητα σε ηλικιωμένους έδειξε ότι τα προβιοτικά παρήγαγαν ένα μικρό αλλά ουσιαστικό όφελος (Martínez-Martínez et al., 2017). Ο τύπος των βακτηρίων που δοκιμάστηκε συχνότερα ήταν *Bifidobacterium longum*. Οι ερευνητές που πραγματοποίησαν την αξιολόγηση πρότειναν ότι τα προβιοτικά μπορεί να είναι χρήσιμα για χρόνια δυσκοιλιότητα σε ηλικιωμένους ως προσθήκη στις συνήθεις μορφές θεραπείας.

4.1.12 Κολικός στα βρέφη – Infant colic

Τα μωρά με κολικό μπορεί να κλαίνε για 3 ώρες την ημέρα ή περισσότερο, αλλά τρώνε καλά και μεγαλώνουν κανονικά. Η αιτία του κολικού δεν είναι καλά κατανοητή, αλλά μελέτες έχουν δείξει διαφορές στη μικροβιακή κοινότητα στον πεπτικό σωλήνα μεταξύ βρεφών που έχουν κολικό και εκείνων που δεν έχουν, γεγονός που υποδηλώνει ότι ενδέχεται να εμπλέκονται μικροοργανισμοί (NCCIH, 2019).

Μια συστηματική ανασκόπηση του 2018 σε 7 μελέτες προβιοτικών για κολικό, 5 εκ των οποίων αφορούσαν το προβιοτικό *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, διαπίστωσε ότι αυτό το προβιοτικό συσχετίστηκε με επιτυχημένη θεραπεία (ορίζεται ως μείωση περισσότερο από το ήμισυ του ημερήσιου χρόνου κλάματος) (Dryl & Szajewska, 2018). Ωστόσο, το αποτέλεσμα παρατηρήθηκε κυρίως σε βρέφη που θηλάζουν αποκλειστικά.

Δεν παρατηρήθηκαν επιβλαβείς επιδράσεις σε μια τυχαίοποιημένη κλινική δοκιμή 4 μελετών του *L. reuteri* DSM 17938 για κολικούς, η οποία περιλάμβανε επαναλαμβανόμενες φυσικές εξετάσεις και εξετάσεις αίματος σε βρέφη με κολικούς που έλαβαν αυτό το προβιοτικό, όπως καθώς και τις αναφορές των συμπτωμάτων των γονέων (Fatheree et al., 2017).

4.2 Μη γαστρεντερικές παθήσεις

4.2.1 Κατά του καρκίνου

Τα προβιοτικά στελέχη μπορούν να ασκήσουν αντικαρκινογόνα αποτελέσματα με πολλούς μηχανισμούς, όπως (i) την παραγωγή ενώσεων με αντικαρκινογόνο δράση, (ii) τη δέσμευση και την

αποικοδόμηση πιθανών μεταλλαξιογόνων, (iii) τη μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων που εμπλέκονται στο σχηματισμό καρκινογόνου, (iv) τη μείωση των γονιδιοτοξικών ανοσοκατασταλτικών και νεφροτοξικών μυκοτοξινών, (v) την αναστολή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και (vi) την επαγωγή της απόπτωσης σε καρκινικά κύτταρα (Commune et al., 2005; Ewaschuk et al., 2006; Kumar et al., 2013). Ωστόσο, η ικανότητα καταπολέμησης του καρκίνου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μικροβιακό είδος ή το στέλεχος που μελετάται (dos Reis et al., 2017; Kumar et al., 2010).

4.2.2 Μείωση των επιπέδων χοληστερόλης

Πρόσφατες ανακαλύψεις έχουν συνδέσει τα προβιοτικά με την πρόληψη των καρδιακών παθήσεων μειώνοντας τα επίπεδα χοληστερόλης στον ορό (Ooi & Liong, 2010). Τα προβιοτικά δρουν για να μειώσουν τη διαλυτότητα της χοληστερόλης και, κατά συνέπεια, να μειώσουν την πρόσληψή της από το έντερο (Nguyen et al., 2007). Η επίδραση των προβιοτικών στη μείωση της χοληστερόλης αποδίδεται επίσης σε μια ενζυματική αποσυμπίεση των χολικών οξέων στο ανθρώπινο έντερο. Τα ένζυμα BSH που παράγονται από προβιοτικά μετατρέπουν τα συζευγμένα χολικά άλατα σε αποσυζευγμένα χολικά άλατα, τα τελευταία απελευθερώνονται ευκολότερα από τον ανθρώπινο οργανισμό μέσω των περιττωμάτων (Nguyen et al., 2007). Η χοληστερόλη, ένας πρόδρομος χολικών οξέων, μετατρέπεται συχνότερα σε χολικά άλατα για να αντικαταστήσει εκείνα που χάνονται μέσω των περιττωμάτων που οδηγούν σε μείωση της χοληστερόλης στον ορό (Kumar et al., 2012).

4.2.3 Κατά της κατάθλιψης και του άγχους

Η προβιοτική χορήγηση έχει συσχετιστεί με την αναστροφή των συμπτωμάτων της κατάθλιψης και του άγχους. Τα πρώτα στοιχεία γι' αυτήν την υπόθεση διατυπώθηκαν από τους Tannock και Savage (1974), οι οποίοι έδειξαν ότι τα ποντίκια που έχουν αγχώσει μειώνουν δραστικά τους πληθυσμούς των *Lactobacilli* (de Melo Pereira et al., 2018). Στη συνέχεια, αρκετές μελέτες έχουν αφιερωθεί για να διευκρινίσουν τη λειτουργία των προβιοτικών στη λειτουργία του εγκεφάλου (Dinan & Cryan, 2013). Υπάρχει η πιθανότητα ότι η θεραπεία με προβιοτικά να επιδρά ευεργετικά στη διάθεση μέσω του ενισχυμένου ανοσοποιητικού συστήματος ή των κεντρικών συγκεντρώσεων σεροτονίνης (Luna & Foster, 2015).

Οι (Akkasheh et al., 2016) απέδειξαν ότι η πρόσληψη προβιοτικών κοκτέιλ οκτώ εβδομάδων από ασθενείς με καταθλιπτική διαταραχή επηρέασε θετικά το BDI (Beck Depression Inventory) και άλλα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τον έλεγχο του συναισθήματος και της αίσθησης. Ομοίως, οι (Rao et al., 2009) αντιμετώπισαν ασθενείς που είχαν σύνδρομο χρόνιας κόπωσης με το στέλεχος *Lactobacillus casei Shirota* και παρατήρησαν σημαντική μείωση του BAI (Beck Anxiety Inventory) μεταξύ εκείνων που έλαβαν τα προβιοτικά έναντι των μαρτύρων.

4.2.4 Κατά της παχυσαρκίας και του διαβήτη

Τα προβιοτικά μπορούν να καταστείλουν την αύξηση του σωματικού βάρους και την αντίσταση στην ινσουλίνη ρυθμίζοντας τη σύνθεση της χλωρίδας του εντέρου και διεγείροντας το σχηματισμό ορμονών του εντέρου, όπως το πεπτιδιο-1 που μοιάζει με γλυκαγόνη και το πολυπεπτιδιο γαστρικής αναστολής (George Kerry et al., 2018; Zhang et al., 2016). Η εξαγωγή ενέργειας από τη διατροφή είναι μια άλλη πειστική στρατηγική (Erejuwa et al., 2014). In vivo μελέτες ορισμένων προβιοτικών στελεχών, όπως *L. acidophilus* La5, *L. casei* DN001, *L. gasseri* SBT2055, *L. paracasei* F19 και *B. lactis* Bb12, έχουν δείξει τις δυνατότητές τους να αποτρέπουν τον διαβήτη τύπου 2 και την αύξηση βάρους (Brahe et al., 2015; Ejtahed et al., 2011; Kadooka et al., 2013). Ωστόσο, υπάρχει ετερογένεια σε αυτές τις μελέτες, κυρίως όσον αφορά την προβιοτική δοσολογία και τα είδη που χρησιμοποιούνται (Sáez-Lara et al., 2016). Ο διαβήτης τύπου 2 πλήττει περισσότερα από 380 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως και έχει συσχετιστεί με τη δυσβίωση και μία από τις πιθανές οδούς για την αποκατάσταση ενός υγιούς μικροβίου του εντέρου είναι η τακτική λήψη προβιοτικών. Σε μια μελέτη αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις των προβιοτικών που προστέθηκαν σε γάλα που είχαν υποστεί ζύμωση (*Lactobacillus acidophilus* La-5 και *Bifidobacterium animalis subsp lactis* BB-12) για γλυκαιμικό έλεγχο, προφίλ λιπιδίων, φλεγμονή, οξειδωτικό στρες και βραχεία αλυσίδα λιπαρά οξέα σε άτομα με διαβήτη (Tonucci et al., 2017). Συμπερασματικά, αποδείχθηκε ότι αυτά τα προβιοτικά έχουν λειτουργικές ιδιότητες σε άτομα που πάσχουν από διαβήτη.

4.2.5 Ανοσοδιεγερτική δραστηριότητα

Οι ανοσοδιεγερτικές επιδράσεις των προβιοτικών εμφανίζονται με την ενίσχυση των εκκριτικών ανοσοσφαιρινών, της φαγοκυττάρωσης των παθογόνων και / ή της παραγωγής κυτοκινών (Rocha-Ramírez et al., 2017). Αυτοί οι μηχανισμοί υποστηρίζονται από in vitro μελέτες και αποδείχθηκαν in vivo και σε ζώα και, σε περιορισμένο βαθμό, στους ανθρώπους (Aziz & Bonavida, 2016). Ανάλογα με τον στόχο του προϊόντος, μπορούν να επιλεγούν στελέχη που μπορούν να προκαλέσουν μια συγκεκριμένη ανοσοαπόκριση (Dicks & Botes, 2010). Υπάρχουν ενδείξεις ότι πολλά προβιοτικά στελέχη και η πρεβιοτική ολιγοφρουκτόζη είναι χρήσιμα στη βελτίωση της ανοσοαπόκρισης (Guarner et al., 2017).

4.2.6 Έκκριση λειτουργικών μορίων

Τα προβιοτικά έχουν κυτταρικά συστατικά και εκκρίνουν λειτουργικά μόρια, συμπεριλαμβανομένων αντιοξειδωτικών, ενζύμων, λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας, πεπτιδίων, βασικών βιταμινών και ανόργανων συστατικών, τα οποία παρέχουν οφέλη για την υγεία στον ξενιστή. Οι αντιοξειδωτικές ενώσεις που παράγονται από τα προβιοτικά περιλαμβάνουν υπεροξειδίο δισμουτάση, γλουταθειόνη δισμουτάση, ασκορβικό οξύ, μελατονίνη και γλουταθειόνη. Αυτά τα μόρια προστατεύουν το ανθρώπινο σώμα από υψηλά επίπεδα ριζών οξυγόνου που προκαλούν βλάβη στα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA (Schieber & Chandel, 2014).

Τα προβιοτικά έχουν αναφερθεί ότι παράγουν και / ή εκκρίνουν βιταμίνη Β (βιοτίνη, φολικά άλατα, ριβοφλαβίνη, νικοτινικό οξύ, πυριδοξίνη, θειαμίνη, παντοθενικό οξύ και κοβαλαμίνη) και βιταμίνη Κ (LeBlanc et al., 2011). Η έκταση της παραγωγής βιταμινών εξαρτάται κυρίως από το στέλεχος, γιατί, τα προβιοτικά κύτταρα μπορούν να το απαιτήσουν για ανάπτυξη (Rossi et al., 2011). Η επιλογή βιταμινών που παράγουν προβιοτικά θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για την πρόληψη κλινικών και υποκλινικών ανεπαρκειών βιταμινών (LeBlanc et al., 2011). Τα προβιοτικά μπορούν επίσης να επιλεγούν για την ικανότητά τους να παράγουν βιοδραστικά ένζυμα (Parvez et al., 2006).

4.2.7 Ηπατική εγκεφαλοπάθεια - Hepatic Encephalopathy (HE)

Όταν το ήπαρ έχει υποστεί βλάβη και δεν μπορεί να απομακρύνει τις τοξικές ουσίες από το αίμα, οι τοξίνες μπορούν να συσσωρευτούν στην κυκλοφορία του αίματος και να επηρεάσουν το νευρικό σύστημα. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε βλάβες της εγκεφαλικής λειτουργίας που ονομάζεται ηπατική εγκεφαλοπάθεια. Τα προβιοτικά όπως η λακτουλόζη χρησιμοποιούνται συνήθως για την πρόληψη και τη θεραπεία της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας (Guarner et al., 2017).

Μια ανασκόπηση του 2017 εξέτασε 21 μελέτες προβιοτικών για ηπατική εγκεφαλοπάθεια και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ήταν γενικά χαμηλής ποιότητας (Dalal et al., 2017). Υπήρχαν ενδείξεις ότι σε σύγκριση με ένα εικονικό φάρμακο (μια ανενεργή ουσία) ή χωρίς θεραπεία, τα προβιοτικά είχαν πιθανώς ευεργετικά αποτελέσματα στην HE, αλλά ήταν αβέβαιο εάν τα προβιοτικά ήταν καλύτερα από τη λακτουλόζη, μια συμβατική θεραπεία για την ηπατική νόσο.

4.2.8 Δυσασπορρόφιση λακτόζης

Τα *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* βελτιώνουν την πέψη της λακτόζης και μειώνουν τα συμπτώματα που σχετίζονται με τη δυσανεξία στη λακτόζη. Αυτό επιβεβαιώθηκε με μια σειρά ελεγχόμενων μελετών σε άτομα που καταλάωναν γιαούρτι με ζωντανές καλλιέργειες (Guarner et al., 2017).

4.2.9 Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος

Η χρησιμότητα ορισμένων προβιοτικών ως θεραπευτική επιλογή για τον μετρίασμό της στεατοηπατίτιδας έχει αποδειχθεί μέσω ενός αριθμού τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών σε ενήλικες και παιδιά. Απαιτείται περαιτέρω μελέτη για να επιβεβαιωθούν τα μακροπρόθεσμα οφέλη (Guarner et al., 2017).

4.2.10 Ατοπική δερματίτιδα – Atopic Dermatitis (AD)

Τα προβιοτικά έχουν προταθεί ως αποτελεσματική θεραπεία για το έκζεμα. Η βιβλιογραφία σχετικά με τη χρήση προβιοτικών για την πρόληψη της AD είναι εκτεταμένη και ποικίλη. Υπάρχουν πολλές κριτικές και μετα-αναλύσεις σε αυτό το θέμα, με την πιο πρόσφατη να είναι των Li et al, το 2019. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης των προβιοτικών για τη θεραπεία της ατοπικής δερματίτιδας παραμένει

ασαφής και μπορεί να είναι πολυπαραγοντικός. Ο μηχανισμός πιστεύεται ότι περιλαμβάνει ανοσορρυθμιστικά αποτελέσματα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η χρήση LGG σε βρέφη με ατοπική δερματίτιδα μπορεί να είναι ευεργετική.

Μια ανασκόπηση Cochrane που περιλάμβανε 12 τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές στις οποίες συμμετείχαν 781 παιδιά δεν βρήκαν σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων που έλαβαν προβιοτικά έναντι του εικονικού φαρμάκου. Η ίδια ανασκόπηση κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπήρχαν επαρκή στοιχεία που να συνιστούν τη χρήση προβιοτικών για τη θεραπεία του εκζέματος (Boyle et al., 2008). Αν και η προβιοτική χρήση έχει δείξει υπόσχεση για την πρόληψη της AD.

Μια μετα-ανάλυση έδειξε ότι τα προβιοτικά συμπληρώματα τόσο κατά την προγεννητική περίοδο όσο και μετά τη γέννηση μείωσαν τη συχνότητα εμφάνισης AD σε βρέφη και παιδιά. Τα ευρήματά δείχνουν ότι η έναρξη της προβιοτικής θεραπείας κατά τη διάρκεια της κύησης και η συνέχιση των πρώτων 6 μηνών της ζωής του βρέφους μπορεί να είναι επωφελής για την πρόληψη της AD (Li et al., 2019). Ωστόσο, άλλες μελέτες απέτυχαν να δείξουν σημαντική μείωση στον κίνδυνο AD (Allen et al., 2014; Cabana et al., 2017). Η Αμερικανική Ακαδημία Δερματολογίας δηλώνει "Η χρήση προβιοτικών / πρεβιοτικών για τη θεραπεία ασθενών με καθιερωμένη AD δεν συνιστάται λόγω ασυνεπειών ενδείξεων" (Fenner & Silverberg, 2018).

4.2.11 Λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού - Upper Respiratory Tract Infections (URTIs)

Τα προβιοτικά έχουν δοκιμαστεί για τα αποτελέσματά τους έναντι λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού. Οι URTIs περιλαμβάνουν το κοινό κρυολόγημα, λοιμώξεις του μέσου ωτός, ιγμορίτιδα και διάφορες λοιμώξεις του λαιμού (NCCIH, 2019). Μια ανασκόπηση του 2015 έδειξε ότι τα άτομα που λαμβάνουν προβιοτικά μπορεί να έχουν λιγότερες και μικρότερες λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού (Hao et al., 2015). Ωστόσο, η ποιότητα των αποδεικτικών στοιχείων ήταν χαμηλή επειδή ορισμένες από τις μελέτες δεν διεξήχθησαν.

4.2.12 Αλλεργική ρινίτιδα - Allergic Rhinitis (AR)

Μια συστηματική ανασκόπηση στις οποίες εξετάστηκαν τα προβιοτικά για τη θεραπεία της αλλεργικής ρινίτιδας βρήκε κάποια στοιχεία ότι μπορεί να είναι χρήσιμα για τη βελτίωση των συμπτωμάτων και της ποιότητας ζωής (Zajac et al., 2015). Ωστόσο, επειδή οι μελέτες εξέτασαν διαφορετικά προβιοτικά και μέτρησαν διαφορετικά αποτελέσματα, δεν μπορούσαν να γίνουν συστάσεις σχετικά με τη χρήση προβιοτικών. Οι παρενέργειες προβιοτικών που αναφέρθηκαν σε αυτή τη μελέτη ήταν λίγες.

4.2.13 Σήψη στα βρέφη - Sepsis in Infants

Η σήψη είναι μια σοβαρή ασθένεια στην οποία το σώμα έχει μια επιβλαβή, συντριπτική αντίδραση σε μια λοίμωξη. Μπορεί να αναγκάσει τα κύρια όργανα και τα συστήματα του σώματος να σταματήσουν να λειτουργούν σωστά και μπορεί να είναι απειλητικά για τη ζωή. Ο κίνδυνος σήψης

είναι υψηλότερος σε βρέφη, παιδιά, ηλικιωμένους και άτομα με σοβαρά ιατρικά προβλήματα (NCCIH, 2019). Μία ομάδα που κινδυνεύει ιδιαίτερα για σήψη είναι τα πρόωρα βρέφη. Μια μετα-ανάλυση 37 μελετών διαπίστωσε ότι τα προβιοτικά ήταν χρήσιμα στη μείωση του κινδύνου σήψης στα πρόωρα βρέφη (Rao et al., 2016).

4.2.14 Περιοδοντικές παθήσεις (Νόσος των ούλων) - Periodontal Diseases (Gum Disease)

Οι περιοδοντικές ασθένειες προκύπτουν από λοιμώξεις και φλεγμονή των ούλων και των οστών που περιβάλλουν και υποστηρίζουν τα δόντια (NCCIH, 2019). Εάν η ασθένεια είναι σοβαρή, τα ούλα μπορούν να απομακρυνθούν από τα δόντια, τα οστά μπορεί να χαθούν και τα δόντια μπορεί να χαλαρώσουν ή να πέσουν. Μια ανασκόπηση 12 μελετών του 2016 που αξιολόγησε τα προβιοτικά για περιοδοντική νόσο βρήκαν στοιχεία που θα μπορούσαν να είναι χρήσιμα στη θεραπεία μειώνοντας τα βακτήρια που προκαλούν ασθένειες, βελτιώνοντας τα κλινικά συμπτώματα της νόσου (Matsubara et al., 2016). Ωστόσο, τα αποτελέσματα μπορεί να διαφέρουν για διαφορετικά προβιοτικά.

4.2.15 Τερηδόνα (φθορά των δοντιών) - Dental Caries (Tooth Decay)

Σε μια ανασκόπηση του 2016, διαπιστώθηκε ότι η χρήση προβιοτικών συσχετίστηκε με λιγότερες κοιλότητες σε 4 από τις 7 μελέτες, αλλά η ποιότητα των στοιχείων ήταν χαμηλή και δεν μπορούσαν να επιτευχθούν συγκεκριμένα συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των προβιοτικών (Jørgensen et al., 2016).

4.3 Μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών

Σύμφωνα με μοριακές και γενετικές μελέτες τέσσερις είναι οι μηχανισμοί που προκύπτουν από τον προσδιορισμό των ευεργετικών αποτελεσμάτων των προβιοτικών. Αυτοί οι μηχανισμοί είναι οι εξής:

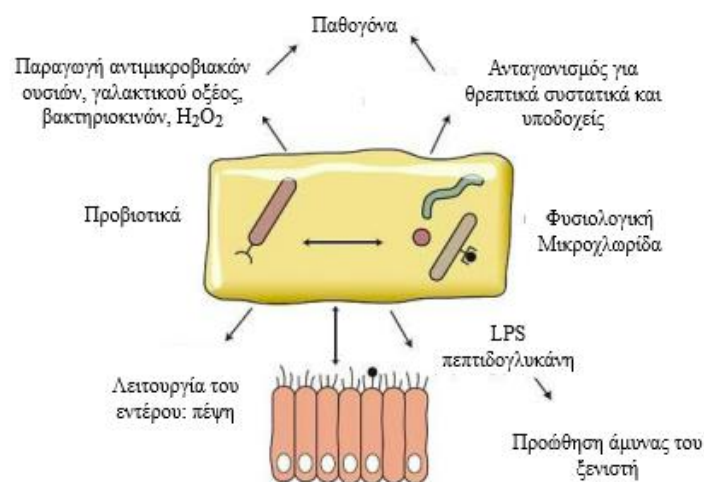
- Παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών
- Αλληλεπίδραση με παθογόνα βακτήρια και ανταγωνισμός για προσκόλληση στο επιθήλιο και για θρεπτικά συστατικά
- Ανοσολογική ρύθμιση
- Αναστολή της παραγωγής βακτηριακών τοξινών

Οι δύο πρώτοι μηχανισμοί συνδέονται άμεσα με την επίδρασή τους με άλλους μικροοργανισμούς και είναι σημαντικοί για την προφύλαξη και τη θεραπεία λοιμώξεων καθώς και για την διατήρηση της ισορροπίας του εντερικού μικροβιώματος του ξενιστή (Markowiak & Śliżewska, 2017). Τα προβιοτικά στελέχη είναι ικανά να συσσωματώνονται, ως ένας από τους μηχανισμούς δράσης τους. Αυτή η δράση τους μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ενός προστατευτικού φραγμού και να αποτρέψουν τα παθογόνα βακτήρια να αποικίσουν στο επιθήλιο. Τα προβιοτικά βακτήρια μπορεί να είναι ικανά να προσκολληθούν στα επιθηλιακά κύτταρα, εμποδίζοντας έτσι τα παθογόνα. Αυτός ο μηχανισμός ασκεί σημαντική επίδραση για την υγεία του

ξενιστή. Εναλλακτικά, η απελευθέρωση ορισμένων διαλυτών συστατικών μπορεί να προκαλέσει άμεση ή έμμεση (μέσω επιθηλιακών κυττάρων) ενεργοποίηση ανοσολογικών κυττάρων. Αυτό το αποτέλεσμα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και τη θεραπεία μεταδοτικών ασθενειών, καθώς και στη χρόνια φλεγμονή του πεπτικού σωλήνα ή μέρους αυτής (Oelschlaeger, 2010). Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την εξήγηση του μηχανισμού της επίκτητης αντίστασης στους δικούς τους μεταβολίτες από βακτήρια *Lactobacillus genus*.

Πιθανότατα, όλοι οι προαναφερθέντες μηχανισμοί προβιοτικής δράσης έχουν επίδραση στην προστασία έναντι των λοιμώξεων, του καρκίνου και στη σταθεροποίηση της ισορροπίας του εντερικού μικροβίου του ξενιστή. Επίσης μπορεί να οδηγήσουν σε ανταγωνισμό των πιθανών παθογόνων, βελτιωμένο εντερικό περιβάλλον, ενίσχυση του εντερικού φραγμού, να ελέγξουν τη μείωση μιας φλεγμονής και να ρυθμίσουν ανοδικά την ανοσολογική απόκριση σε αντιγονικές προκλήσεις. Αυτά τα φαινόμενα πιστεύεται ότι μεσολαβούν στις πιο ευεργετικές επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης στην επίπτωση και την σοβαρότητα της διάρροιας, η οποία είναι μία από τις πιο ευρέως αναγνωρισμένες χρήσεις του προβιοτικά. Ωστόσο, φαίνεται απίθανο ότι καθένας από τους προβιοτικούς μικροοργανισμούς έχει ιδιότητες και των τεσσάρων πτυχών ταυτόχρονα και αποτελεί καθολική θεραπεία για πολλές ασθένειες. Ένας σημαντικός ρόλος στη δράση των προβιοτικών διαδραματίζεται από συγκεκριμένα χαρακτηριστικά για είδη και στελέχη, όπως κυτταρική δομή, κυτταρική επιφάνεια, μέγεθος, μεταβολικές ιδιότητες και ουσίες που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς.

Τα προβιοτικά επηρεάζουν το εντερικό οικοσύστημα επηρεάζοντας τους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς του βλεννογόνου, αλληλοεπιδρώντας με κοινά ή πιθανά παθογόνα μικρόβια, δημιουργώντας μεταβολικά τελικά προϊόντα όπως λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας, και επικοινωνώντας με κύτταρα ξενιστές μέσω χημικής σηματοδότησης (Guarner et al., 2017). Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 4** τα φυσιολογικά μικρόβια και τα προβιοτικά αλληλοεπιδρούν με τον ξενιστή σε μεταβολικές και ανοσοποιητικές δραστηριότητες και αποτρέπουν τον αποικισμό ευκαιριακών και παθογόνων μικροοργανισμών.



Σχήμα 4. Μηχανισμοί αλληλεπίδρασης μεταξύ μικροβίων και προβιοτικών με τον ξενιστή (Guarner et al., 2017).

Η συμβίωση μεταξύ μικροβίων και του ξενιστή μπορεί να βελτιστοποιηθεί με φαρμακολογικές ή διατροφικές παρεμβάσεις στο μικροβιακό οικοσύστημα του εντέρου χρησιμοποιώντας προβιοτικά (Πίνακας 7).

Πίνακας 7. Μηχανισμοί προβιοτικής αλληλεπίδρασης με το ξενιστή (Guarner et al., 2017).

Ανοσολογικά οφέλη	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Ενεργοποίηση τοπικών μακροφάγων ✓ Αύξηση παρουσίας αντιγόνου στα Β λεμφοκύτταρα ✓ Αύξηση παραγωγής εκκριτικής ανοσοσφαιρίνης Α (IgA) ✓ Διαμόρφωση προφίλ κυτοκίνης ✓ Ανοχή στα αντιγόνα των τροφίμων
Μη ανοσολογικά οφέλη	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Πέψη των τροφίμων και ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά με τα παθογόνα ✓ Αλλαγή pH και δημιουργία ενός δυσμενούς περιβάλλοντος για τα παθογόνα ✓ Παραγωγή βακτηριοκινών για την αναστολή των παθογόνων ✓ Απομάκρυνση ριζών υπεροξειδίου ✓ Διέγερση παραγωγής επιθηλιακής βλέννης ✓ Ενίσχυση της λειτουργίας του εντερικού φραγμού ✓ Ανταγωνισμός για προσκόλληση με παθογόνα ✓ Τροποποίηση τοξινών που προέρχονται από παθογόνα

5. Νομοθετικές απαιτήσεις

5.1 Ισχυρισμοί υγείας

Το ενδιαφέρον των επιστημόνων και της βιομηχανίας για σαφείς κανόνες και δίκαιη αρμοδιότητα, ώθησε την Ευρωπαϊκή Επιτροπή να αναπτύξει τον κανονισμό ΕΚ αριθ. 1924/2006 για τους ισχυρισμούς διατροφής και υγείας που διατυπώνονται στα τρόφιμα. Στο προοίμιό του, ο παρών κανονισμός αναφέρει ότι «για να εξασφαλιστεί υψηλό επίπεδο προστασίας για τους καταναλωτές και για να διευκολυνθεί η επιλογή τους, τα προϊόντα που διατίθενται στην αγορά πρέπει να είναι ασφαλή και κατάλληλα να επισημαίνονται». Ως εκ τούτου, η προστασία των καταναλωτών και η διευκόλυνση των ενημερωμένων επιλογών αγοράς ήταν και παραμένουν στην πρώτη γραμμή του κανονισμού, σε μια προσπάθεια να ικανοποιηθούν οι ανησυχίες και οι απαιτήσεις των καταναλωτών.

Σύμφωνα με τον κανονισμό ((ΕΚ) ΑΡΙΘ. 1924/2006) ισχυρισμός υγείας είναι κάθε ισχυρισμός που δηλώνει, υπονοεί ή οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει σχέση μεταξύ μιας κατηγορίας τροφίμων, ενός τροφίμου ή ενός συστατικού του και της υγείας. Στον κανονισμό αυτό, επίσης αναφέρεται ότι οι παρασκευαστές των προβιοτικών πρέπει να καταθέτουν οποιονδήποτε ισχυρισμό υγείας στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή. Όλοι οι ισχυρισμοί υγείας που διατυπώνονται για τα προβιοτικά προϊόντα αξιολογούνται επιστημονικά και είτε εγκρίνονται είτε απορρίπτονται από την EFSA (Κανονισμός (ΕΚ) 1924/2006). Μέχρι στιγμής, η EFSA έχει απορρίψει όλους τους ισχυρισμούς υγείας για τα προβιοτικά, λόγω μη επαρκών αποδεικτών στοιχείων των ισχυριζόμενων ευεργετικών επιδράσεων στην υγεία. Οι ισχυρισμοί υγείας πρέπει να είναι συγκεκριμένοι και ισχυρισμοί όπως «ενισχύει το ανοσοποιητικό σύστημα» θεωρούνται πολύ ασαφείς από την EFSA (Binnendijk & Rijkers, 2013). Επομένως, προϊόντα που ισχυρίζονται ότι είναι προβιοτικά ή έχουν συγκεκριμένες επιπτώσεις στην υγεία δεν μπορούν να πωληθούν στην Ευρωπαϊκή Ένωση, γιατί η χρήση του όρου «προβιοτικά» θεωρείται μη εγκεκριμένος ισχυρισμός υγείας. Σύμφωνα με την Επιτροπή, ο όρος υπονοεί ότι ένα προϊόν παρέχει όφελος για την υγεία, το οποίο θα μπορούσε να είναι παραπλανητικό για τους καταναλωτές, εκτός εάν μπορεί να τεκμηριωθεί επιστημονικά. Έτσι, από τη μια πλευρά υπάρχει αυστηρός έλεγχος των ισχυρισμών για τα προϊόντα, αλλά από την άλλη πλευρά υπάρχει ελάχιστος έλεγχος της διαδικασίας παρασκευής και σχεδόν καμία κανονιστική παρακολούθηση μετά την κυκλοφορία (Kolaček et al., 2017). Επιπλέον, τα προβιοτικά και τα συμπληρώματα διατροφής ρυθμίζονται βάσει της Οδηγίας και του Κανονισμού για τα Προϊόντα Τροφίμων ((ΕΚ) αριθ. 178/2002; ΟΔΗΓΙΑ 2000/13/ΕΚ). Σύμφωνα με την Οδηγία 2000/13/ΕΚ, της Ε.Ε., δεν επιτρέπεται κατά την επισήμανση, παρουσίαση ή διαφήμιση του προϊόντος η αναφορά σε πρόληψη ή θεραπεία κάποιας ασθένειας. Συνεπώς, ο κανονισμός της Ε.Ε. καθιστά δύσκολο το έργο της έγκρισης των προβιοτικών λόγω της απαγόρευσης των ιατρικών ισχυρισμών.

Οι κανονισμοί που αφορούν τους ισχυρισμούς σχετικά με προϊόντα προβιοτικών διαφέρουν μεταξύ των χωρών: δεν υπάρχει καθολικά συμφωνημένο πλαίσιο. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, τα περισσότερα προβιοτικά προϊόντα ταξινομούνται ως τρόφιμα ή συμπληρώματα

διατροφής. Τα συμπληρώματα διατροφής απαιτείται να συμμορφώνονται με τις οδηγίες ορθής παρασκευαστικής πρακτικής, αλλά αυτά δεν αφορούν την ποιότητα ή την αποτελεσματικότητα του ελέγχου (Kolaček et al., 2017). Όπως στην Ευρώπη, τα συμπληρώματα διατροφής δεν μπορούν να κάνουν ισχυρισμούς για συγκεκριμένες ασθένειες, αλλά στις Ηνωμένες Πολιτείες επιτρέπεται να κάνουν δομικούς ή λειτουργικούς ισχυρισμούς, όπως «υποστηρίζει την υγιή πέψη», συνοδευόμενος από δήλωση αποποίησης από την FDA . Οι ισχυρισμοί πρέπει να είναι ειλικρινείς, όχι παραπλανητικοί και να τεκμηριώνονται από επιστημονικά στοιχεία (IPA, 2016). Υπάρχει επίσης μια κατηγορία προβιοτικών που διατυπώνονται για κατανάλωση ή χορήγηση εντερικά υπό την επίβλεψη ιατρού και τα οποία προορίζονται για τη διατροφική διαχείριση μιας συγκεκριμένης ασθένειας ή κατάστασης για την οποία θεσπίζονται διακριτικές διατροφικές απαιτήσεις, βάσει αναγνωρισμένων επιστημονικών αρχών με ιατρική αξιολόγηση. Αυτά τα σκευάσματα εμπίπτουν στην κατηγορία των ιατρικών τροφίμων στις Ηνωμένες Πολιτείες (FDA, 2016). Τα ιατρικά τρόφιμα δεν είναι φάρμακα και, επομένως, δεν υπόκεινται σε κανονιστικές απαιτήσεις που ισχύουν ειδικά για τα φάρμακα. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) και η Ομοσπονδιακή Επιτροπή Εμπορίου (FTC) έχουν εκδώσει προειδοποιητικές επιστολές και επέβαλαν ποινή σε εταιρίες που παρήγαγαν προβιοτικά προϊόντα (όπως στην Dannon, CocoKefir LLC, Plexus Worldwide Inc) των οποίων οι ετικέτες ισχυρίζονταν ότι αντιμετώπιζαν μια ασθένεια ή μια κατάσταση.

Στόχος μεταξύ των παγκόσμιων οργανισμών, ως υπεύθυνοι για την εποπτεία των ισχυρισμών παροχών για την υγεία σε προβιοτικά προϊόντα, είναι η διασφάλιση ότι οι καταναλωτές δεν θα παραπλανηθούν. Οι παγκόσμιες κανονιστικές απαιτήσεις επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την αγορά προβιοτικών και έχουν γίνει πιο αυστηρές τα τελευταία χρόνια (Burgain et al., 2011). Πράγματι, οι ισχυρισμοί υγείας πρέπει να βασίζονται στη βιωσιμότητα των κυττάρων και στην προβιοτική λειτουργία (Burgain et al., 2011; Jankovic et al., 2010). Σύμφωνα με το FDA, «οι ισχυρισμοί υγείας περιγράφουν μια σχέση μεταξύ ενός τροφίμου, ενός συστατικού τροφής ή ενός συστατικού συμπληρώματος διατροφής και μειώνουν τον κίνδυνο μιας ασθένειας ή μιας πάθησης που σχετίζεται με την υγεία». Αντίθετα, ένας λειτουργικός ισχυρισμός περιγράφει «τη διαδικασία με την οποία το συμπλήρωμα διατροφής, τα συμβατικά τρόφιμα ή το φάρμακο διατηρεί την κανονική λειτουργία του σώματος και δεν χρειάζεται έγκριση από την FDA πριν από την κυκλοφορία» (Venugopalan et al., 2010).

Επειδή η διαδικασία αξιολόγησης των ισχυρισμών για πρεβιοτικά και προβιοτικά είναι δύσκολη, η Ομάδα για τα Διαιτητικά Προϊόντα, τη Διατροφή και τις Αλλεργίες στην Ευρώπη (NDA) δημοσίευσε ένα έγγραφο καθοδήγησης σχετικά με την επιστημονική τεκμηρίωση ισχυρισμών υγείας για να βοηθήσει τους αιτούντες στην προετοιμασία και την υποβολή των αιτήσεών τους για την έγκριση ισχυρισμών υγείας που σχετίζονται με το γαστρεντερικό σωλήνα και το ανοσοποιητικό σύστημα (EFSA-NDA, 2011).

Στην Ε.Ε. διαπιστώνεται ότι υπάρχουν διαφορετικές ερμηνείες από τα κράτη μέλη σχετικά με τη χρήση του όρου «προβιοτικά» και τους ισχυρισμούς διατροφής και υγείας. Αυτό με τη σειρά του συνεπάγεται την μη εναρμονισμένη κατάσταση στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Τον Οκτώβριο του 2020, η Ισπανική Αρχή Υγείας (AESAN) εξέδωσε μια νέα απόφαση σχετικά με τη χρήση του όρου «προβιοτικά» στα τρόφιμα. Σύμφωνα με αυτήν:

«Έως ότου δημιουργηθεί ένα ενιαίο κριτήριο εκ μέρους των κρατών μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης, θεωρείται ότι θα μπορούσε να γίνει αποδεκτό ότι ο όρος προβιοτικά στην ετικέτα των τροφίμων, τόσο των εθνικών μεταποιητικών όσο και από άλλες χώρες η Ευρωπαϊκή Ένωση. Σε όλες τις περιπτώσεις, αυτά τα προϊόντα πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις ασφαλείας. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η χρήση αυτού του όρου δεν μπορεί να συνοδεύεται από ισχυρισμούς υγείας, εκτός εάν επιτρέπεται ρητά βάσει του κανονισμού της Ευρωπαϊκής Ένωσης – Κανονισμός ΕΚ 1924 / 2006⁵».

Η Ιταλία και η Τσεχική Δημοκρατία επέτρεψαν τη χρήση του όρου «προβιοτικά» στα τρόφιμα, αναπτύσσοντας εθνικούς κανονισμούς που επιτρέπουν τη σήμανση των προβιοτικών τροφίμων. Στη Γαλλία, την Πορτογαλία και το Βέλγιο είναι αποδεκτή η χρήση του όρου «προβιοτικά» ως μη ειδικός ισχυρισμός υγείας, όταν συνοδεύεται από συγκεκριμένο ισχυρισμό υγείας⁶. Η αρχή της αμοιβαίας αναγνώρισης που παρουσίασε η Ισπανία θα μπορούσε πιθανώς να υιοθετηθεί εύκολα και από άλλες χώρες της ΕΕ. Ίσως η ισπανική πρωτοβουλία παρακινήσει την Επιτροπή της ΕΕ και την EFSA να επιτύχουν συναίνεση σχετικά με αυτήν τη έννοια.

5.2 Δοσολογία

Η δόση που απαιτείται για τα προβιοτικά ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με το στέλεχος και το προϊόν. Πολλά προϊόντα κυμαίνονται από 1-10 δισεκατομμύρια CFU / δόση, ενώ ορισμένα προϊόντα έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικά σε χαμηλότερα επίπεδα και μερικά απαιτούν πολύ περισσότερα (Guarner et al., 2017). Η δοσολογία πρέπει να βασίζεται σε μελέτες ανθρώπων που δείχνουν όφελος για την υγεία. Ένα συγκεκριμένο εύρος επιτρεπόμενων μονάδων σχηματισμού αποικιών θα πρέπει ίσως να απαιτείται για την ελαχιστοποίηση των κινδύνων τοξικότητας καθώς και της απώλειας επίδρασης μεταξύ παραγωγής και τέλους διάρκειας ζωής (Sanders et al., 2010; 2016).

Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι τα πρόσθετα συστατικά και τα στάδια επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται στην ανάπτυξη των προβιοτικών γαλακτοκομικών επιδορπίων δεν πρέπει να έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια της βιωσιμότητας των προβιοτικών μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της παραγωγής και της διάρκειας ζωής τους ή τη μείωση της αισθητηριακής ποιότητας του προϊόντος. Πρότυπα που απαιτούν μια ελάχιστη προβιοτική δόση 6-7 μονάδων σχηματισμού

⁵ <https://isappscience.org/tag/regulation/>

⁶ <https://www.ipaeurope.org/legal-framework/european-legal-framework/>

αποικιών log (cfu) ανά γραμμάριο σε γαλακτοκομικά προϊόντα έχουν εισαχθεί από διάφορους οργανισμούς τροφίμων παγκοσμίως (Akalin & Erisir, 2008; Talwalkar & Kailasapathy, 2004a).

Στην Ιαπωνία, οι Fermented Milks and Lactic Acid Bacteria Beverages Association ζήτησαν τουλάχιστον 7 log cfu βιώσιμα *Bifidobacteria* ανά γραμμάριο ή mL προϊόντος για να θεωρηθεί προβιοτικό τρόφιμο για ανθρώπινη χρήση (Stanton et al., 2001; Vasiljevic & Shah, 2008). Ο Καναδικός Οργανισμός Επιθεώρησης Τροφίμων (CFIA) καθορίζει μια ελάχιστη δόση 9 log cfu ανά μερίδα ημερησίως του μικροοργανισμού για να επιτρέψει τη χρήση της λέξης "προβιοτικά" ή άλλες παρόμοιες ονομασίες και αυτές οι περιγραφές θα πρέπει να συνοδεύονται από συγκεκριμένες, επικυρωμένες δηλώσεις σχετικά με τα προβιοτικά οφέλη ή τις επιδράσεις (CFIA, 2015a; Health Canada, 2009). Στον Καναδά, το ποσό αναφοράς που λαμβάνει υπόψη μια έτοιμη για χρήση μορφή φρέσκων προϊόντων επιδορπίων με βάση το γάλα είναι 100 γραμμάρια (CFIA, 2015b). Σύμφωνα με τα ρυθμιστικά πρότυπα της Βραζιλίας, οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί πρέπει να κυμαίνονται από 10^8 έως 10^9 cfu ανά μερίδα ημερήσιας δόσης του προϊόντος που είναι έτοιμο για κατανάλωση καθ'όλη τη διάρκεια ζωής (Buriti et al., 2016) Η νομοθεσία τη Βραζιλίας προτείνει την ημερήσια μερίδα 120 g για επιδόρπια με βάση το γάλα, που ισοδυναμεί με ½ φλιτζάνι τσάι (Buriti et al., 2016).

Το Ιταλικό Υπουργείο Υγείας, ορίζει έναν ελάχιστο αριθμό βιώσιμων κυττάρων (1×10^9 cfu) που χορηγούνται ανά ημέρα (Hill et al., 2014).

Συμπερασματικά τα προβιοτικά εξ ορισμού πρέπει να είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί. Επομένως, ο ποσοτικός προσδιορισμός χρησιμοποιώντας ένα μέτρο βιωσιμότητας είναι απαραίτητος. Είναι ευθύνη του παρασκευαστή να διασφαλίζει επαρκή σταθερότητα προϊόντος καθ' όλη τη διάρκεια της παραγωγής και της διανομής, προκειμένου να διασφαλίζει την επισήμανση της ποσότητας των βιώσιμων προβιοτικών κυττάρων έως την ημερομηνία λήξης. Στις περισσότερες περιπτώσεις, αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση ενός συνδυασμού τεχνολογιών που διατηρούν τη μικροβιακή βιωσιμότητα και διατυπώνονται με υπερβάσεις που θα επιτρέψουν κάποιο προβιοτικό θάνατο χωρίς ο συνολικός αριθμός να πέσει κάτω από την επισημασμένη ισχύ.

5.3 Ετικέτες προβιοτικών προϊόντων

Τα προβιοτικά, αποτελούμενα από ζωντανά μικρόβια, έχουν απαιτήσεις ετικέτας που είναι κάπως διαφορετικές από άλλες τροφές και συμπληρώματα. Κατευθυντήριες γραμμές που εκδόθηκαν από τον Κοινό Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας το 2002 (FAO / WHO, 2002) και αργότερα από τη Διεθνή Ένωση Προβιοτικών σε συνεργασία με το Συμβούλιο για την Υπεύθυνη Διατροφή (CRN-IPA, 2017), ενισχύουν τη σημασία της κοινοποίησης συγκεκριμένων πληροφοριών σε μια ετικέτα προβιοτικών προϊόντων. Οι προβλεπόμενες πληροφορίες ενδέχεται να μην απαιτούνται από τους εθνικούς κανονισμούς, αλλά υπάρχει επιστημονική συμφωνία ότι αυτές οι πληροφορίες είναι σημαντικές για να επιτρέψουν στους καταναλωτές να κατανοήσουν τι αγοράζουν (Jackson et al., 2019). Από επιστημονική άποψη, η ικανοποίηση αυτών των κριτηρίων θα αποτελούσε μια αληθινή και όχι παραπλανητική χρήση του

όρου «προβιοτικά» για την περιγραφή του μικροβίου στο εμπόριο. Τα ελάχιστα κριτήρια που πρέπει να πληρούνται για να ονομάζεται ένας μικροοργανισμός «προβιοτικό» στα τρόφιμα ή στα συμπληρώματα διατροφής είναι τα εξής:

1. Επαρκής χαρακτηρισμός για την ταυτοποίηση του προβιοτικού στο γένος, το είδος και το επίπεδο στελέχους, σύμφωνα με την τρέχουσα επιστημονικά έγκυρη ονοματολογία.
2. Ονομασία κάθε στελέχους στο προϊόν. Οι ονομασίες που χρησιμοποιούνται πρέπει να επιτρέπουν την παρακολούθηση του στελέχους σε καταχωρήσεις σε αποθέματα στελέχους και τη σύνδεση με δημοσιευμένες μελέτες.
3. Δήλωση ποσότητας (χρησιμοποιώντας CFU ή άλλο επικυρωμένο μέτρο) ζωντανών / ενεργών μικροοργανισμών έως την το τέλος της διάρκειας ζωής του προϊόντος.
4. Ημερομηνία χρήσης.
5. Η δήλωση οφέλους δεν απαιτείται, αλλά εάν υπάρχει, πρέπει να υποστηρίζεται από μια ανθρώπινη μελέτη που να δείχνει το όφελος στη δόση που παρέχεται στο προϊόν.
6. Συνθήκες αποθήκευσης.
7. Στοιχεία επικοινωνίας εταιρείας.

6. Συμπεράσματα – Μελλοντικές προοπτικές

Συμπερασματικά, η χρήση προβιοτικών καλλιεργειών σε συνδυασμό με πρεβιοτικά συστατικά σε επιδόρπια γάλακτος είναι πολλά υποσχόμενη. Στην πραγματικότητα, με τη διαθεσιμότητα και τις βελτιώσεις στην τεχνολογία τροφίμων, το αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για λειτουργικά τρόφιμα και την υιοθέτηση ενός υγιεινού τρόπου ζωής, η ανάπτυξη επιδορπίων γάλακτος με προβιοτικά αποτελεί ένα ενδιαφέρον πεδίο αγοράς για τη βιομηχανία τροφίμων. Οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι τα προβιοτικά επιδόρπια παρουσιάζουν αρκετούς πληθυσμούς με βιώσιμες καλλιέργειες. Για τις *in vivo* ευεργετικές επιδράσεις τους κατά τη διάρκεια της ζωής τους, απαιτείται περαιτέρω έρευνα, επειδή οι ανεπαρκείς δόσεις κατά τη διάρκεια της κατανάλωσης ενδέχεται να μην παρέχουν το επιδιωκόμενο όφελος για την υγεία. Παρ'όλα αυτά, τα αποτελέσματα της βιωσιμότητας των προβιοτικών στελεχών που ενσωματώνονται στα γαλακτοκομικά επιδόρπια πρέπει να συμπληρωθούν με περαιτέρω έρευνα σε αντίζοες συνθήκες (για παράδειγμα, επιβίωση σε προσομοιωμένο γαστρεντερικό στρες). Έχουν γίνει προσπάθειες να επιτευχθεί ακόμη μεγαλύτερη σταθερότητα αυτών των μικροοργανισμών κατά την αποθήκευση, με τα επιθυμητά φυσικοχημικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά στα προϊόντα. Ταυτόχρονα, η πρεβιοτική ίνα ινουλίνη είναι το πιο χρησιμοποιούμενο συστατικό για την ανάπτυξη προβιοτικών επιδορπίων γάλακτος, λόγω του ότι προσφέρει οφέλη για την υγεία και πλεονεκτικές τεχνολογικές ιδιότητες για αυτή τη σειρά τροφίμων. Οι έρευνες σε αυτό το τομέα, καθώς και η ανάπτυξη νέων σκευασμάτων επιδορπίου, για παράδειγμα με χαμηλή λιποπεριεκτικότητα, τείνουν να αυξάνονται τα επόμενα χρόνια.

Εκτός από την ευρεία διερεύνηση της χρήσης αυτών των βιοδραστικών ενώσεων σε επιδόρπια γαλακτοκομικών προϊόντων, υπήρξε ένας αυξανόμενος αριθμός επιστημονικών ερευνών σε αυτόν τον τομέα, με πολύ ευνοϊκά αποτελέσματα (Buriti et al., 2016). Τα τελευταία χρόνια, αν και έχουν καταβληθεί εντατικές προσπάθειες για την ανάπτυξη νέων λειτουργικών επιδορπίων γάλακτος όπως τα προβιοτικά, η σωστή επιστημονική επικύρωση των οφελών για την ανθρώπινη υγεία αυτών των προϊόντων μπορεί να θεωρηθεί κρίσιμη πτυχή για τον τομέα των λειτουργικών τροφίμων. Ως εκ τούτου, πρέπει να ενθαρρυνθούν περαιτέρω μελέτες σε αυτόν τον τομέα για την επέκταση των γνώσεων σχετικά με τα επιδόρπια γαλακτοκομικών προϊόντων, προβιοτικών. Παρόλο που πολλά στελέχη προβιοτικών LAB είναι ήδη γνωστά και εφαρμόζονται σε εμπορικά προβιοτικά γάλατα που έχουν υποστεί ζύμωση σε όλο τον κόσμο (Tamime et al., 2006), η αγορά βιολειτουργικών γαλακτοκομικών προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων των προβιοτικών, ζητά συνεχώς την εφαρμογή και διαφοροποίηση της γκάμας διαθέσιμων προϊόντων. Για αυτό το λόγο, υπάρχει μια αυξανόμενη ανάγκη να εντοπιστούν νέα βιολειτουργικά στελέχη, νέες στρατηγικές για να διασφαλιστεί η επιβίωση αυτών των καλλιεργειών, και διαφορετικές πηγές από τις οποίες να απομονωθούν στελέχη. Είναι ενδιαφέρον ότι πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι στελέχη που αναγνωρίζονται ως προβιοτικά βρίσκονται επίσης σε υποστρώματα που έχουν υποστεί ζύμωση χωρίς γάλα (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010).

Η δυνατότητα συμπερίληψης στελεχών που έχουν απομονωθεί από μη γαλακτοκομικές πηγές σε προβιοτικά παρασκευάσματα θα μπορούσε να επεκτείνει το εύρος των διαθέσιμων στελεχών που θα προταθούν ως υποψήφια προβιοτικά. Υπάρχει μια αυξανόμενη ζήτηση των καταναλωτών για προβιοτικά με βάση τα μη γαλακτοκομικά προϊόντα και τα προβιοτικά ενσωματώνονται σε ποτά ή διατίθενται στην αγορά ως συμπληρώματα διατροφής με τη μορφή δισκίων και παρασκευασμάτων που έχουν υποστεί ξήρανση υπό κατάψυξη.

Επιπρόσθετα, έχουν γίνει πολλές έρευνες για τα προβιοτικά ως προς την κλινική του σημασία, παρόλα αυτά πρέπει να γίνει περαιτέρω έρευνα για τα ευεργετικά τους αποτελέσματα και την ασφάλή τους χρήση σε διάφορες συνθήκες υγείας. Τα προβιοτικά έχουν δείξει υπόσχεση για διάφορες παθήσεις. Ωστόσο, στις περισσότερες περιπτώσεις, ακόμα δεν γνωρίζουμε ποια προβιοτικά είναι χρήσιμα και ποια όχι. Επίσης, δεν γνωρίζουμε ποιες ομάδες ατόμων πρέπει να λάβουν προβιοτικά με κάποιο πιθανό όφελος. Ακόμη και για τις συνθήκες που έχουν μελετηθεί περισσότερο, οι ερευνητές εξακολουθούν να εργάζονται για να βρουν τις απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα.

Αναφορές

- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances*, 31(6), 877–902. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Akalın, A. S., Gönc, S., Ünal, G., & Fenderya, S. (2007). Effects of Fructooligosaccharide and Whey Protein Concentrate on the Viability of Starter Culture in Reduced-Fat Probiotic Yogurt during Storage. *Journal of Food Science*, 72(7), M222–M227. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00436.x>
- Akalın, A. S., & Erişir, D. (2008). Effects of Inulin and Oligofructose on the Rheological Characteristics and Probiotic Culture Survival in Low-Fat Probiotic Ice Cream. *Journal of Food Science*, 73(4), M184–M188. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00728.x>
- Akkasheh, G., Kashani-Poor, Z., Tajabadi-Ebrahimi, M., Jafari, P., Akbari, H., Taghizadeh, M., Memarzadeh, M. R., Asemi, Z., & Esmailzadeh, A. (2016). Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*, 32(3), 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.09.003>
- Allen, S. J., Jordan, S., Storey, M., Thornton, C. A., Gravenor, M. B., Garaiova, I., Plummer, S. F., Wang, D., & Morgan, G. (2014). Probiotics in the prevention of eczema: A randomised controlled trial. *Archives of Disease in Childhood*, 99(11), 1014–1019. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2013-305799>
- Allen, Stephen J, Martinez, E. G., Gregorio, G. V., & Dans, L. F. (2010). Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003048.pub3>
- Allgeyer, L. C., Miller, M. J., & Lee, S.-Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4471–4479. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2582>
- Anadón, A., Rosa Martínez-Larrañaga, M., & Aranzazu Martínez, M. (2006). Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45(1), 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.02.004>
- Antunes, A. E. C., Cazetto, T. F., & Bolini, H. M. A. (2005). Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal of Dairy Technology*, 58(3), 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00203.x>
- Araya, ME Sanders, C. Stanton, G. Reid, MML, Ben Embarek, & Pineiro. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Jt. FAO/WHO Work Gr. Rep. Draft. Guidel. Eval. Probiotics Food. Group, London, Ontario, 1–11.

- Arcia, Patricia L., Navarro, S., Costell, E., & Tárrega, A. (2011b). Effect of Inulin Seeding on Rheology and Microstructure of Prebiotic Dairy Desserts. *Food Biophysics*, 6(4), 440–449. <https://doi.org/10.1007/s11483-011-9224-1>
- Arcia, P.L., Costell, E., & Tárrega, A. (2010). Thickness suitability of prebiotic dairy desserts: Relationship with rheological properties. *Food Research International*, 43(10), 2409–2416. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.013>
- Ares, G., Baixauli, R., Sanz, T., Varela, P., & Salvador, A. (2009). New functional fibre in milk puddings: Effect on sensory properties and consumers' acceptability. *LWT - Food Science and Technology*, 42(3), 710–716. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.004>
- Arévalo-Villena, M., Fernandez-Pacheco, P., Castillo, N., Bevilacqua, A., & Briones Pérez, A. (2018). Probiotic capability in yeasts: Set-up of a screening method. *LWT*, 89, 657–665. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.047>
- Arvanitoyannis, I. S., & Van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (2005). Functional Foods: A Survey of Health Claims, Pros and Cons, and Current Legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(5), 385–404. <https://doi.org/10.1080/10408390590967667>
- Aziz, N., & Bonavida, B. (2016). Activation of Natural Killer Cells by Probiotics. *Forum on Immunopathological Diseases and Therapeutics*, 7(1–2), 41–55. <https://doi.org/10.1615/ForumImmunDisTher.2016017095>
- Bae, J.-M. (2018). Prophylactic efficacy of probiotics on travelers' diarrhea: An adaptive meta-analysis of randomized controlled trials. *Epidemiology and Health*, 40, e2018043. <https://doi.org/10.4178/epih.e2018043>
- Banjara, N., Suhr, M. J., & Hallen-Adams, H. E. (2015). Diversity of Yeast and Mold Species from a Variety of Cheese Types. *Current Microbiology*, 70(6), 792–800. <https://doi.org/10.1007/s00284-015-0790-1>
- Barlow, S., Hardy, A., Fruijtier-, C., Flynn, A., Dybing, E., Collins, J.D., Chesson, A., Knaap, A., Kuiper, H., Neindre, P., Schans, J., Silano, V., Skerfving, S., & Vannier, P. (2017). Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA - Opinion of the Scientific Committee. *EFSA Journal*, *EFSA Journal*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.587>
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., Tremblay, A., & Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>
- Binnendijk, K. H., & Rijkers, G. T. (2013). What is a health benefit? An evaluation of EFSA opinions on health benefits with reference to probiotics. *Beneficial Microbes*, 4(3), 223–230. <https://doi.org/10.3920/BM2013.0019>
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665–684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>

- Bolduc, M.-P., Raymond, Y., Fustier, P., Champagne, C. P., & Vuillemand, J.-C. (2006). Sensitivity of bifidobacteria to oxygen and redox potential in non-fermented pasteurized milk. *International Dairy Journal*, *16*(9), 1038–1048. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.030>
- Bourdichon, F., Alper, I., Bibiloni, & R. Dubois, A. Laulund, S. Miks, M. Morelli, L. Zuliani, V. Yao. (2018). Inventory of microbial food cultures with safety demonstration in fermented food products. *Bulletin of the International Dairy Federation*, *495*, 5–71.
- Boyle, R. J., Bath-Hextall, F. J., Leonardi-Bee, J., Murrell, D. F., & Tang, M. L. (2008). Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006135.pub2>
- Brahe, L. K., Le Chatelier, E., Pifti, E., Pons, N., Kennedy, S., Blædel, T., Håkansson, J., Dalsgaard, T. K., Hansen, T., Pedersen, O., Astrup, A., Ehrlich, S. D., & Larsen, L. H. (2015). Dietary modulation of the gut microbiota – a randomised controlled trial in obese postmenopausal women. *British Journal of Nutrition*, *114*(3), 406–417. <https://doi.org/10.1017/S0007114515001786>
- Broadbent, J. R., McMahon, D. J., Welker, D. L., Oberg, C. J., & Moineau, S. (2003). Biochemistry, Genetics, and Applications of Exopolysaccharide Production in *Streptococcus thermophilus*: A Review. *Journal of Dairy Science*, *86*(2), 407–423. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73619-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73619-4)
- Brodmann, T., Endo, A., Gueimonde, M., Vinderola, G., Kneifel, W., de Vos, W. M., Salminen, S., & Gómez-Gallego, C. (2017). Safety of Novel Microbes for Human Consumption: Practical Examples of Assessment in the European Union. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 1725. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01725>
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, *104*(4), 467–483. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031>
- Buriti, Flávia C. A., Komatsu, T. R., & Saad, S. M. I. (2007). Activity of passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses. *Brazilian Journal of Microbiology*, *38*(2), 315–317. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200025>
- Buriti, Flávia C. A., & Saad, S. M. I. (2014). Chilled Milk-based Desserts as Emerging Probiotic and Prebiotic Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(2), 139–150. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.605230>
- Buriti, Flávia C.A., Bedani, R., & Saad, S. M. I. (2016). Probiotic and Prebiotic Dairy Desserts. In *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics* (pp. 345–360). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802189-7.00023-X>
- Buriti, Flávia C.A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2010a). Effects of refrigeration, freezing and replacement of milk fat by inulin and whey protein concentrate on texture profile and sensory

- acceptance of synbiotic guava mousses. *Food Chemistry*, 123(4), 1190–1197. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.085>
- Buriti, Flávia C.A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2010b). Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2–3), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.030>
- Buriti, Flávia Carolina Alonso, & Saad, S. M. I. (2007). Bacteria of *Lactobacillus casei* group: Characterization, viability as probiotic in food products and their importance for human health. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, 57(4), 373–380.
- Cabana, M. D., McKean, M., Caughey, A. B., Fong, L., Lynch, S., Wong, A., Leong, R., Boushey, H. A., & Hilton, J. F. (2017). Early Probiotic Supplementation for Eczema and Asthma Prevention: A Randomized Controlled Trial. *Pediatrics*, 140(3), e20163000. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-3000>
- Cardarelli, H. R., Aragon-Alegro, L. C., Alegro, J. H. A., de Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate mousse. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(8), 1318–1324. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3208>
- Cardarelli, H. R., Saad, S. M. I., Gibson, G. R., & Vulevic, J. (2007). Functional petit-suisse cheese: Measure of the prebiotic effect. *Anaerobe*, 13(5–6), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.05.003>
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>
- Carvalho, A. S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F. X., & Gibbs, P. (2004). Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 14(10), 835–847. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.001>
- CFIA, (Canadian Food Inspection Agency). (2015a). *Guidance document repository. Probiotic claims*. <http://www.inspection.gc.ca/food/labelling/food-labelling-for-industry/health-claims/eng/1392834838383/1392834887794?chap=9>
- CFIA, (Canadian Food Inspection Agency). (2015b). *Guidance document repository. Reference amounts*. <http://www.inspection.gc.ca/food/labelling/food-labelling-for-industry/nutrition-labelling/information-within-the-nutrition-facts-table/eng/1389198568400/1389198597278?chap=5>
- Chamberlain, R., & Lau, C. (2016). Probiotics are effective at preventing *Clostridium difficile*-associated diarrhea: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of General Medicine*, 27. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S98280>

- Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2005). Challenges in the Addition of Probiotic Cultures to Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(1), 61–84. <https://doi.org/10.1080/10408690590900144>
- Champagne, C. P., Ross, R. P., Saarela, M., Hansen, K. F., & Charalampopoulos, D. (2011). Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *International Journal of Food Microbiology*, 149(3), 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.005>
- Commame, D., Hughes, R., Shortt, C., & Rowland, I. (2005). The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591(1–2), 276–289. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.02.027>
- Corrêa, S. B. M., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Probiotic potential and sensory properties of coconut flan supplemented with *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis*. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(9), 1560–1568. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01585.x>
- CRN-IPA. (2017). *Council for Responsible Nutrition and International Probiotics Association (2017). Best Practices Guidelines for Probiotics*. <https://www.crnusa.org/sites/default/files/pdfs/CRN-IPA-Best-Practices-Guidelines-for-Probiotics.pdf>
- Cutting, S. M. (2011). Bacillus probiotics. *Food Microbiology*, 28(2), 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>
- Dalal, R., McGee, R. G., Riordan, S. M., & Webster, A. C. (2017). Probiotics for people with hepatic encephalopathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008716.pub3>
- Dang, Y., Reinhardt, J. D., Zhou, X., & Zhang, G. (2014). The Effect of Probiotics Supplementation on Helicobacter pylori Eradication Rates and Side Effects during Eradication Therapy: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 9(11), e111030. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111030>
- de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Magalhães Júnior, A. I., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology Advances*, 36(8), 2060–2076. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.003>
- de Simone, C. (2019). The Unregulated Probiotic Market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(5), 809–817. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.018>
- Delzenne, N. M., & Neyrinck, A. M. (2008). Prebiotics and lipid metabolism: Review of experimental and human data. In *Handbook of Prebiotics*. (pp. 201–218). CRC Press, Boca Raton.
- Dicks, L., & Botes, M. (2010). Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: Health benefits, safety and mode of action. *Beneficial Microbes*, 1(1), 11–29. <https://doi.org/10.3920/BM2009.0012>

- Dimidi, E., Christodoulides, S., Fragkos, K. C., Scott, S. M., & Whelan, K. (2014). The effect of probiotics on functional constipation in adults: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *100*(4), 1075–1084. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.089151>
- Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2013). Melancholic microbes: A link between gut microbiota and depression? *Neurogastroenterology & Motility*, *25*(9), 713–719. <https://doi.org/10.1111/nmo.12198>
- Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, *17*(6), 657–665. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.08.006>
- Doron, S. I., Hibberd, P. L., & Gorbach, S. L. (2008). Probiotics for Prevention of Antibiotic-associated Diarrhea: *Journal of Clinical Gastroenterology*, *42*(Supplement 2), S58–S63. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e3181618ab7>
- dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., da Silva, L. L., & Peluzio, M. do C. G. (2017). Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research*, *37*, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2016.11.009>
- Dryl, R., & Szajewska, H. (2018). Probiotics for management of infantile colic: A systematic review of randomized controlled trials. *Archives of Medical Science*, *14*(5), 1137–1143. <https://doi.org/10.5114/aoms.2017.66055>
- DuPont, A., Richards, Jelinek, K. A., Krill, J., Rahimi, E., & Ghouri, Y. (2014). Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, *473*. <https://doi.org/10.2147/CEG.S27530>
- EFSA. (2005). Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a generic approach to the safety assessment by EFSA of microorganisms used in food/feed and the production of food/feed additives. *EFSA Journal*, *EFSA Journal*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.226>
- EFSA, Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., De Cesare, A., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Cocconcelli, P. S., Fernández Escámez, P. S., ... Herman, L. (2020b). Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 11: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2019. *EFSA Journal*, *18*(2). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5965>
- EFSA-NDA, E. P. on D. P., Nutrition and Allergies (NDA). (2011). Guidance on the scientific requirements for health claims related to gut and immune function. *EFSA Journal*, *9*(4), 1984.
- Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., Mofid, V., & Akbarian-Moghari, A. (2011). Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus*

- acidophilus and Bifidobacterium lactis on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3288–3294. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4128>
- Ewaschuk, J. B., Walker, J. W., Diaz, H., & Madsen, K. L. (2006). Bioproduction of Conjugated Linoleic Acid by Probiotic Bacteria Occurs In Vitro and In Vivo in Mice. *The Journal of Nutrition*, 136(6), 1483–1487. <https://doi.org/10.1093/jn/136.6.1483>
- Fadda, M. E., Mossa, V., Deplano, M., Pisano, M. B., & Cosentino, S. (2017). In vitro screening of Kluyveromyces strains isolated from Fiore Sardo cheese for potential use as probiotics. *LWT*, 75, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.020>
- FAO. (2018). *The Declaration of Certain Isolated or Synthetic Non-Digestible Carbohydrates as Dietary Fiber on Nutrition and Supplement Facts Labels: Guidance for Industry*. US Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/media/113663/download>
- FAO, F. and A. O. of the U. N., & WHO, W. H. O. (Eds.). (2006). *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. Food and Agriculture Organization of the United Nations : World Health Organization.
- Fatheree, N. Y., Liu, Y., Taylor, C. M., Hoang, T. K., Cai, C., Rahbar, M. H., Hessabi, M., Ferris, M., McMurtry, V., Wong, C., Vu, T., Dancsak, T., Wang, T., Gleason, W., Bandla, V., Navarro, F., Tran, D. Q., & Rhoads, J. M. (2017). Lactobacillus reuteri for Infants with Colic: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial. *The Journal of Pediatrics*, 191, 170-178.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2017.07.036>
- FDA. (2016). *Guidance for Industry: Frequently Asked Questions About Medical Foods. Second Edition*. Washington, DC: U.S. Food and Drug Administration.
- Fenner, J., & Silverberg, N. B. (2018). Oral supplements in atopic dermatitis. *Clinics in Dermatology*, 36(5), 653–658. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2018.05.010>
- Fenster, K., Freeburg, B., Hollard, C., Wong, C., Rønhave Laursen, R., & Ouwehand, A. (2019). The Production and Delivery of Probiotics: A Review of a Practical Approach. *Microorganisms*, 7(3), 83. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7030083>
- Fleet, G. H. (2011). Yeast Spoilage of Foods and Beverages. In *The Yeasts* (pp. 53–63). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00005-7>
- Foligné, B. (2010). Probiotic yeasts: Anti-inflammatory potential of various non-pathogenic strains in experimental colitis in mice. *World Journal of Gastroenterology*, 16(17), 2134. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i17.2134>
- Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Muñoz-Quezada, S., & Gil, A. (2013). Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 109(S2), S35–S50. <https://doi.org/10.1017/S0007114512004011>
- Ford, A. C., Harris, L. A., Lacy, B. E., Quigley, E. M. M., & Moayyedi, P. (2018). Systematic review with meta-analysis: The efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in

- irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 48(10), 1044–1060. <https://doi.org/10.1111/apt.15001>
- Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S287–S291. <https://doi.org/10.1079/BJN/2002550>
- Fuller, R. (1992). *Probiotics: The scientific basis*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-2364-8>
- Gaggìa, F., Mattarelli, P., & Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology*, 141, S15–S28. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031>
- Galopin, S., Cattoir, V., & Leclercq, R. (2009). A chromosomal chloramphenicol acetyltransferase determinant from a probiotic strain of *Bacillus clausii*. *FEMS Microbiology Letters*, 296(2), 185–189. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01633.x>
- García-Hernández, Y., Rodríguez, Z., Brandão, L. R., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., Elías Iglesias, A., Pérez-Sánchez, T., Salabarría, R. B., & Halaihel, N. (2012). Identification and in vitro screening of avian yeasts for use as probiotic. *Research in Veterinary Science*, 93(2), 798–802. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.09.005>
- Garneau, J. E., & Moineau, S. (2011). Bacteriophages of lactic acid bacteria and their impact on milk fermentations. *Microbial Cell Factories*, 10(Suppl 1), S20. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-S1-S20>
- George Kerry, R., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.-S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (Eds.). (2008). *Handbook of prebiotics*. CRC Press.
- Gilliland, S. E. (1979). Beneficial Interrelationships Between Certain Microorganisms and Humans: Candidate Microorganisms for Use as Dietary Adjuncts 1,2. *Journal of Food Protection*, 42(2), 164–167. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-42.2.164>
- Gil-Rodríguez, A. M., Carrascosa, A. V., & Requena, T. (2015). Yeasts in foods and beverages: In vitro characterisation of probiotic traits. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1156–1162. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.042>
- Goodarzi, A. G. (2016). Obtaining of *Lactobacillus delbrueckii* Cold Sensitive Rif Mutants for Shelf Life Prolongation of Dairy Products. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(1), 546–552. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.501.055>
- Granato, D., Nazzaro, F., Pimentel, T. C., Esmerino, E. A., & Gomes da Cruz, A. (2019). Probiotic Food Development: An Updated Review Based on Technological Advancement. In *Encyclopedia of Food Security and Sustainability* (pp. 422–428). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22271-3>

- Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L., & Lacroix, C. (2008). Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Science and Technology*, 88(4–5), 421–444. <https://doi.org/10.1051/dst:2008013>
- Grosso, C. R. F., & Fávoro-Trindade, C. S. (2004). Stability of free and immobilized *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in acidified milk and of immobilized *B. lactis* in yoghurt. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(1–2), 151–156. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000100025>
- Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Lemair, A., Kaufmann, P., de Paula, J. A., Fedorak, R., Shanahan, F., Sanders, M. E., Szajewska, H., Ramakrishna, B. S., Karakan, T., & Kim, N. (2017). World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Probiotics and Prebiotics February 2017. *Journal of Clinical Gastroenterology*. <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>
- Gueimonde, M., Sánchez, B., G. de los Reyes-Gavilán, C., & Margolles, A. (2013). Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00202>
- Guo, Q., Goldenberg, J. Z., Humphrey, C., El Dib, R., & Johnston, B. C. (2019). Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004827.pub5>
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiology*, 26(2), 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.10.008>
- Hamad, A., Fragkos, K. C., & Forbes, A. (2013). A systematic review and meta-analysis of probiotics for the management of radiation induced bowel disease. *Clinical Nutrition*, 32(3), 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.02.004>
- Hammad, A. M., & Shimamoto, T. (2010). Towards a compatible probiotic-antibiotic combination therapy: Assessment of antimicrobial resistance in the Japanese probiotics: Antibiotic resistance of probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 109(4), 1349–1360. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04762.x>
- Hao, Q., Dong, B. R., & Wu, T. (2015). Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006895.pub3>
- Hart, A. L., Stagg, A. J., & Kamm, M. A. (2003). Use of Probiotics in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease: *Journal of Clinical Gastroenterology*, 36(2), 111–119. <https://doi.org/10.1097/00004836-200302000-00005>

- Health Canada. (2009). *Accepted claims about the nature of probiotic microorganisms in food*. http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/claims-reclam/probiotics_claims-allegations_probiotiques-eng.php
- Helland, M. H., Wicklund, T., & Narvhus, J. A. (2004). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. *International Dairy Journal*, *14*(11), 957–965. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.03.008>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *11*(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Hong, H. A., Huang, J.-M., Khaneja, R., Hiep, L. V., Urdaci, M. C., & Cutting, S. M. (2008). The safety of *Bacillus subtilis* and *Bacillus indicus* as food probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, *105*(2), 510–520. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03773.x>
- Hudson, L. E., McDermott, C. D., Stewart, T. P., Hudson, W. H., Rios, D., Fasken, M. B., Corbett, A. H., & Lamb, T. J. (2016). Characterization of the Probiotic Yeast *Saccharomyces boulardii* in the Healthy Mucosal Immune System. *PLOS ONE*, *11*(4), e0153351. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153351>
- Inouye, S., Takizawa, T., & Yamaguchi, H. (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *47*(5), 565–573. <https://doi.org/10.1093/jac/47.5.565>
- IPA. (2016). *International Probiotics Association. Regulation of Probiotics in the USA: Dietary Supplements*. <http://internationalprobiotics.org/regulation-probiotics-usa>
- Islam, S. U. (2016). Clinical Uses of Probiotics: *Medicine*, *95*(5), e2658. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002658>
- Jackson, S. A., Schoeni, J. L., Vegge, C., Pane, M., Stahl, B., Bradley, M., Goldman, V. S., Burguière, P., Atwater, J. B., & Sanders, M. E. (2019). Improving End-User Trust in the Quality of Commercial Probiotic Products. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 739. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00739>
- Janer, C., Peláez, C., & Requena, T. (2004). Caseinomacropeptide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk. *Food Chemistry*, *86*(2), 263–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.034>
- Jankovic, I., Sybesma, W., Phothirath, P., Ananta, E., & Mercenier, A. (2010). Application of probiotics in food products—Challenges and new approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, *21*(2), 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.009>

- Jørgensen, M. R., Castiblanco, G., Twetman, S., & Keller, M. K. (2016). Prevention of caries with probiotic bacteria during early childhood. Promising but inconsistent findings. *American Journal of Dentistry*, 29(3), 127–131.
- Joshi, V. S., & Thorat, B. N. (2011). Formulation and Cost-Effective Drying of Probiotic Yeast. *Drying Technology*, 29(7), 749–757. <https://doi.org/10.1080/07373937.2010.537006>
- Kadooka, Y., Sato, M., Imaizumi, K., Ogawa, A., Ikuyama, K., Akai, Y., Okano, M., Kagoshima, M., & Tsuchida, T. (2010). Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(6), 636–643. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.19>
- Kadooka, Yukio, Sato, M., Ogawa, A., Miyoshi, M., Uenishi, H., Ogawa, H., Ikuyama, K., Kagoshima, M., & Tsuchida, T. (2013). Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 110(9), 1696–1703. <https://doi.org/10.1017/S0007114513001037>
- Kailasapathy, K., Harmstorf, I., & Phillips, M. (2008). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* in stirred fruit yogurts. *LWT - Food Science and Technology*, 41(7), 1317–1322. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.08.009>
- Kalyani Nair, K., Kharb, S., & Thompkinson, D. K. (2010). Inulin Dietary Fiber with Functional and Health Attributes—A Review. *Food Reviews International*, 26(2), 189–203. <https://doi.org/10.1080/87559121003590664>
- Kargozari, M., Moini, S., Akhondzadeh Basti, A., Emam-Djomeh, Z., Gandomi, H., Revilla Martin, I., Ghasemlou, M., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2014). Effect of autochthonous starter cultures isolated from Siahmazgi cheese on physicochemical, microbiological and volatile compound profiles and sensorial attributes of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Meat Science*, 97(1), 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.013>
- Kawasaki, S., Mimura, T., Satoh, T., Takeda, K., & Niimura, Y. (2006). Response of the Microaerophilic *Bifidobacterium* Species, *B. boum* and *B. thermophilum*, to Oxygen. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(10), 6854–6858. <https://doi.org/10.1128/AEM.01216-06>
- Klinder, A., Gleib, M., & Pool-Zobel, B. L. (2008). Prebiotics and reduction of risk of carcinogenesis: Review of experimental and human data. In *Handbook of Prebiotics* (pp. 295–328). CRC Press, Boca Raton.
- Kolaček, S., Hojsak, I., Berni Canani, R., Guarino, A., Indrio, F., Orel, R., Pot, B., Shamir, R., Szajewska, H., Vandenplas, Y., van Goudoever, J., & Weizman, Z. (2017). Commercial Probiotic Products: A Call for Improved Quality Control. A Position Paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 65(1), 117–124. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001603>
- Kolida, S., & Gibson, G. R. (2011). Synbiotics in Health and Disease. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2(1), 373–393. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022510-133739>

- Koll-Klais, P., Mandar, R., Leibur, E., Marcotte, H., Hammarstrom, L., & Mikelsaar, M. (2005). Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: Species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiology and Immunology*, 20(6), 354–361. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2005.00239.x>
- Komatsu, Tiemy R., Buriti, F. C. A., da Silva, R. C., Lobo, A. R., Colli, C., Gioielli, L. A., & Saad, S. M. I. (2013). Nutrition claims for functional guava mousses produced with milk fat substitution by inulin and/or whey protein concentrate based on heterogeneous food legislations. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 755–765. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.013>
- Komatsu, Tiemy Rosana, Buriti, F. C. A., & Saad, S. M. I. (2008). Overcoming hurdles through innovation, persistence and creativeness in the development of probiotic foods. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(3). <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000300003>
- König, H., Uden, G., & Fröhlich, J. (Eds.). (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-85463-0>
- Kumar, M., Kumar, A., Nagpal, R., Mohania, D., Behare, P., Verma, V., Kumar, P., Poddar, D., Aggarwal, P. K., Henry, C. J. K., Jain, S., & Yadav, H. (2010). Cancer-preventing attributes of probiotics: An update. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 61(5), 473–496. <https://doi.org/10.3109/09637480903455971>
- Kumar, M., Nagpal, R., Kumar, R., Hemalatha, R., Verma, V., Kumar, A., Chakraborty, C., Singh, B., Marotta, F., Jain, S., & Yadav, H. (2012). Cholesterol-Lowering Probiotics as Potential Biotherapeutics for Metabolic Diseases. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2012/902917>
- Kumar, M., Nagpal, R., Verma, V., Kumar, A., Kaur, N., Hemalatha, R., Gautam, S. K., & Singh, B. (2013). Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutrition Reviews*, 71(1), 23–34. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00542.x>
- Lane, M. M., & Morrissey, J. P. (2010). *Kluyveromyces marxianus*: A yeast emerging from its sister's shadow. *Fungal Biology Reviews*, 24(1–2), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2010.01.001>
- Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. J. (2008). Genes and Molecules of Lactobacilli Supporting Probiotic Action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(4), 728–764. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00017-08>
- LeBlanc, J. G., Laiño, J. E., del Valle, M. J., Vannini, V., van Sinderen, D., Taranto, M. P., de Valdez, G. F., de Giori, G. S., & Sesma, F. (2011). B-Group vitamin production by lactic acid bacteria - current knowledge and potential applications: Vitamin production by LAB. *Journal of Applied Microbiology*, 111(6), 1297–1309. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05157.x>

- Lee, S., Lee, J., Jin, Y.-I., Jeong, J.-C., Chang, Y. H., Lee, Y., Jeong, Y., & Kim, M. (2017). Probiotic characteristics of *Bacillus* strains isolated from Korean traditional soy sauce. *LWT - Food Science and Technology*, *79*, 518–524. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.040>
- Lee, Y. K., & Salminen, S. (2009). *Handbook of probiotics and prebiotics* (2nd ed.). John Wiley.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, *15*(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Li, L., Han, Z., Niu, X., Zhang, G., Jia, Y., Zhang, S., & He, C. (2019). Probiotic Supplementation for Prevention of Atopic Dermatitis in Infants and Children: A Systematic Review and Meta-analysis. *American Journal of Clinical Dermatology*, *20*(3), 367–377. <https://doi.org/10.1007/s40257-018-0404-3>
- Liong, M.-T., Lee, B.-H., Choi, S.-B., Lew, L.-C., Lau, A.-S.-Y., & Daliri, E. B.-M. (2015). Cholesterol-lowering Effects of Probiotics and Prebiotics. In *Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends* (pp. 429–446). Caister Academic Press. <https://doi.org/10.21775/9781910190098.29>
- Liu, C.-H., Wu, K., Chu, T.-W., & Wu, T.-M. (2018). Dietary supplementation of probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth performance and disease resistance against *Vibrio alginolyticus* in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture International*, *26*(1), 63–74. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0189-z>
- Lobo, A. R., Filho, J. M., Alvares, E. P., Cocato, M. L., & Colli, C. (2009). Effects of dietary lipid composition and inulin-type fructans on mineral bioavailability in growing rats. *Nutrition*, *25*(2), 216–225. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.08.002>
- Luna, R. A., & Foster, J. A. (2015). Gut brain axis: Diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression. *Current Opinion in Biotechnology*, *32*, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.10.007>
- Magariños, H., Cartes, P., Fraser, B., Selaive, S., Costa, M., Figuerola, F., & Pizarro, O. (2008). Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus casei* Shirota and *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*) in a milk-based dessert with cranberry sauce. *International Journal of Dairy Technology*, *61*(1), 96–101. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00365.x>
- Malferteiner, P., Megraud, F., O’Morain, C. A., Gisbert, J. P., Kuipers, E. J., Axon, A. T., Bazzoli, F., Gasbarrini, A., Atherton, J., Graham, D. Y., Hunt, R., Moayyedi, P., Rokkas, T., Rugge, M., Selgrad, M., Suerbaum, S., Sugano, K., & El-Omar, E. M. (2017). Management of *Helicobacter pylori* infection—The Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*, *66*(1), 6–30. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312288>
- Manthey, F. A., & Xu, Y. (2010). Glycobiology of foods: Food carbohydrates—Occurrence, production, food uses, and healthful properties. In *Advances in Food Biochemistry* (pp. 23–49). CRC Press, Boca Raton.

- Marchesi, J. R., Adams, D. H., Fava, F., Hermes, G. D. A., Hirschfield, G. M., Hold, G., Quraishi, M. N., Kinross, J., Smidt, H., Tuohy, K. M., Thomas, L. V., Zoetendal, E. G., & Hart, A. (2016). The gut microbiota and host health: A new clinical frontier. *Gut*, *65*(2), 330–339. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309990>
- Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, *38*(2), 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.002>
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. E. (2015). Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *27*, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.010>
- Martín, R., Delgado, S., Maldonado, A., Jiménez, E., Olivares, M., Fernández, L., Sobrino, O. J., & Rodríguez, J. M. (2009). Isolation of lactobacilli from sow milk and evaluation of their probiotic potential. *Journal of Dairy Research*, *76*(4), 418–425. <https://doi.org/10.1017/S0022029909990124>
- Martínez-Martínez, M. I., Calabuig-Tolsá, R., & Cauli, O. (2017). The effect of probiotics as a treatment for constipation in elderly people: A systematic review. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, *71*, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2017.04.004>
- Martins, F. S., Miranda, I. C., Rosa, C. A., Nicoli, J. R., & Neves, M. J. (2008). Effect of the trehalose levels on the screening of yeast as probiotic by in vivo and in vitro assays. *Brazilian Journal of Microbiology*, *39*(1), 50–55. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000100012>
- Matsubara, V. H., Bandara, H. M. H. N., Ishikawa, K. H., Mayer, M. P. A., & Samaranyake, L. P. (2016). The role of probiotic bacteria in managing periodontal disease: A systematic review. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *14*(7), 643–655. <https://doi.org/10.1080/14787210.2016.1194198>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00465.x>
- McFarland, L. V., & Dublin, S. (2008). Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology*, *14*(17), 2650. <https://doi.org/10.3748/wjg.14.2650>
- McFarland, L. V., Evans, C. T., & Goldstein, E. J. C. (2018). Strain-Specificity and Disease-Specificity of Probiotic Efficacy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Medicine*, *5*, 124. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00124>
- Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., & Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, *25*(8), 1881–1890. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.012>

- Minelli, E. B., & Benini, A. (2008). Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(4), 180–183. <https://doi.org/10.1080/08910600802408095>
- Morais, E. C., Morais, A. R., Cruz, A. G., & Bolini, H. M. A. (2014a). Development of chocolate dairy dessert with addition of prebiotics and replacement of sucrose with different high-intensity sweeteners. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2600–2609. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7603>
- Morais, E. C., Pinheiro, A. C. M., Nunes, C. A., & Bolini, H. M. A. (2014b). Multiple Time-Intensity Analysis and Temporal Dominance of Sensations of Chocolate Dairy Dessert Using Prebiotic and Different High-Intensity Sweeteners: Temporal Profile of Prebiotic and Diet Dessert. *Journal of Sensory Studies*, 29(5), 339–350. <https://doi.org/10.1111/joss.12115>
- Morgunov, I. G., Kamzolova, S. V., & Lunina, J. N. (2013). The citric acid production from raw glycerol by *Yarrowia lipolytica* yeast and its regulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(16), 7387–7397. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5054-z>
- NCCIH. (2019). *Probiotics: What You Need To Know*". 1 August 2019. Retrieved 10 November 2019. National Center for Complementary and Integrative Health, US National Institutes of Health. <https://www.nccih.nih.gov/health/probiotics-what-you-need-to-know>
- Nguyen, T. D. T., Kang, J. H., & Lee, M. S. (2007). Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *International Journal of Food Microbiology*, 113(3), 358–361. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.08.015>
- Nualkaekul, S., & Charalampopoulos, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.040>
- Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.005>
- Ogunremi, O. R., Sanni, A. I., & Agrawal, R. (2015). Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products. *Journal of Applied Microbiology*, 119(3), 797–808. <https://doi.org/10.1111/jam.12875>
- Ooi, L.-G., & Liong, M.-T. (2010). Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(6), 2499–2522. <https://doi.org/10.3390/ijms11062499>
- Parker et al. (2019). International Code of Nomenclature of Prokaryotes: Prokaryotic Code (2008 Revision). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(1A), S1–S111. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000778>

- Parte, A. C. (2018). LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(6), 1825–1829. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002786>
- Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S., & Kim, H.-Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171–1185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x>
- Patro, J. N., Ramachandran, P., Barnaba, T., Mammel, M. K., Lewis, J. L., & Elkins, C. A. (2016). Culture-Independent Metagenomic Surveillance of Commercially Available Probiotics with High-Throughput Next-Generation Sequencing. *MSphere*, 1(2), mSphere.00057-16, e00057-16. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00057-16>
- Paulina Markowiak & Katarzyna Śliżewska. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), 1021. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Pereira, E. P. R., Cavalcanti, R. N., Esmerino, E. A., Silva, R., Guerreiro, L. R. M., Cunha, R. L., Bolini, H. M. A., Meireles, M. A., Faria, J. A. F., & Cruz, A. G. (2016). Effect of incorporation of antioxidants on the chemical, rheological, and sensory properties of probiotic petit suisse cheese. *Journal of Dairy Science*, 99(3), 1762–1772. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9701>
- Picard, C., Fioramonti, J., Francois, A., Robinson, T., Neant, F., & Matuchansky, C. (2005). Review article: Bifidobacteria as probiotic agents - physiological effects and clinical benefits. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 22(6), 495–512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02615.x>
- Picon, A. (2017). Cheese Microbial Ecology and Safety. In P. Papademas & T. Bintsis (Eds.), *Global Cheesemaking Technology* (pp. 71–99). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119046165.ch0d>
- Psani, M., & Kotzekidou, P. (2006). Technological characteristics of yeast strains and their potential as starter adjuncts in Greek-style black olive fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(12), 1329–1336. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9180-y>
- Quigley, L., McCarthy, R., O’Sullivan, O., Beresford, T. P., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P., Stanton, C., & Cotter, P. D. (2013). The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 4928–4937. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6688>
- Rao, A. V., Bested, A. C., Beaulne, T. M., Katzman, M. A., Iorio, C., Berardi, J. M., & Logan, A. C. (2009). A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens*, 1(1), 6. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-1-6>

- Rao, S. C., Athalye-Jape, G. K., Deshpande, G. C., Simmer, K. N., & Patole, S. K. (2016). Probiotic Supplementation and Late-Onset Sepsis in Preterm Infants: A Meta-analysis. *Pediatrics*, *137*(3), e20153684. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3684>
- Riddle, M. S., Connor, B. A., Beeching, N. J., DuPont, H. L., Hamer, D. H., Kozarsky, P., Libman, M., Steffen, R., Taylor, D., Tribble, D. R., Vila, J., Zanger, P., & Ericsson, C. D. (2017). Guidelines for the prevention and treatment of travelers' diarrhea: A graded expert panel report. *Journal of Travel Medicine*, *24*(suppl_1), S63–S80. <https://doi.org/10.1093/jtm/tax026>
- Ripert, G., Racedo, S. M., Elie, A.-M., Jacquot, C., Bressollier, P., & Urdaci, M. C. (2016). Secreted Compounds of the Probiotic *Bacillus clausii* Strain O/C Inhibit the Cytotoxic Effects Induced by *Clostridium difficile* and *Bacillus cereus* Toxins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *60*(6), 3445–3454. <https://doi.org/10.1128/AAC.02815-15>
- Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, *27*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Rocha-Ramírez, L. M., Pérez-Solano, R. A., Castañón-Alonso, S. L., Moreno Guerrero, S. S., Ramírez Pacheco, A., García Garibay, M., & Eslava, C. (2017). Probiotic *Lactobacillus* Strains Stimulate the Inflammatory Response and Activate Human Macrophages. *Journal of Immunology Research*, *2017*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2017/4607491>
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A. P., Pereira, C. I., Gomes, A. M., Malcata, F. X., & Freitas, A. C. (2011). The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(1), 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.021>
- Ross, R. P., Desmond, C., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2005). Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. *Journal of Applied Microbiology*, *98*(6), 1410–1417. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02654.x>
- Rossi, M., Amaretti, A., & Raimondi, S. (2011). Folate Production by Probiotic Bacteria. *Nutrients*, *3*(1), 118–134. <https://doi.org/10.3390/nu3010118>
- Russell, D. A., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2011). Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*, *149*(1), 88–105. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.06.003>
- Saez-Lara, M. J., Gomez-Llorente, C., Plaza-Diaz, J., & Gil, A. (2015). The Role of Probiotic Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease and Other Related Diseases: A Systematic Review of Randomized Human Clinical Trials. *BioMed Research International*, *2015*, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/505878>
- Sáez-Lara, M., Robles-Sanchez, C., Ruiz-Ojeda, F., Plaza-Diaz, J., & Gil, A. (2016). Effects of Probiotics and Synbiotics on Obesity, Insulin Resistance Syndrome, Type 2 Diabetes and Non-

- Alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Human Clinical Trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 928. <https://doi.org/10.3390/ijms17060928>
- Sagdic, O., Ozturk, I., Cankurt, H., & Tornuk, F. (2012). Interaction Between Some Phenolic Compounds and Probiotic Bacterium in Functional Ice Cream Production. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 2964–2971. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0611-x>
- Sanders, M. E., Akkermans, L. M. A., Haller, D., Hammerman, C., Heimbach, J. T., Hörmannspenger, G., & Huys, G. (2010). Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*, 1(3), 164–185. <https://doi.org/10.4161/gmic.1.3.12127>
- Sanders, Mary Ellen, Benson, A., Lebeer, S., Merenstein, D. J., & Klaenhammer, T. R. (2018). Shared mechanisms among probiotic taxa: Implications for general probiotic claims. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.09.007>
- Sanders, M.E, Merenstein, D. J., Ouwehand, A. C., Reid, G., Salminen, S., Cabana, M. D., Paraskevagos, G., & Leyer, G. (2016). Probiotic use in at-risk populations. *Journal of the American Pharmacists Association*, 56(6), 680–686. <https://doi.org/10.1016/j.japh.2016.07.001>
- Santivarangkna, C., Kulozik, U., & Foerst, P. (2008). Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. *Journal of Applied Microbiology*, 105(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03744.x>
- Sanz, Y. (2007). Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of Bifidobacterium: A way of selecting improved probiotic strains. *International Dairy Journal*, 17(11), 1284–1289. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.016>
- Saulnier, D. M., Spinler, J. K., Gibson, G. R., & Versalovic, J. (2009). Mechanisms of probiosis and prebiosis: Considerations for enhanced functional foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(2), 135–141. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.01.002>
- Scariot, M. C., Venturelli, G. L., Prudêncio, E. S., & Arisi, A. C. M. (2018). Quantification of *Lactobacillus paracasei* viable cells in probiotic yoghurt by propidium monoazide combined with quantitative PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 264, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.021>
- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Current Biology*, 24(10), R453–R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>
- Schultz, M., Linde, H.-J., Lehn, N., Zimmermann, K., Grossmann, J., Falk, W., & Schölmerich, J. (2003). Immunomodulatory consequences of oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in healthy volunteers. *Journal of Dairy Research*, 70(2), 165–173. <https://doi.org/10.1017/S0022029903006034>
- Senaka Ranadheera, C., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K. (2012). Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry*, 135(3), 1411–1418. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.025>

- Shah, N. P., & Ravula, R. R. (2000). Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yoghurt and probiotic bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology*, 55, 127–131.
- Sharif, S., Meader, N., Oddie, S. J., Rojas-Reyes, M. X., & McGuire, W. (2020). Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005496.pub5>
- Sohier, D., Pavan, S., Riou, A., Combrisson, J., & Postollec, F. (2014). Evolution of microbiological analytical methods for dairy industry needs. *Frontiers in Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00016>
- Sorokulova, I. B., Pinchuk, I. V., Denayrolles, M., Osipova, I. G., Huang, J. M., Cutting, S. M., & Urdaci, M. C. (2008). The Safety of Two Bacillus Probiotic Strains for Human Use. *Digestive Diseases and Sciences*, 53(4), 954–963. <https://doi.org/10.1007/s10620-007-9959-1>
- Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, P. B., & Ross, R. P. (2001). Market potential for probiotics. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 476s–483s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.476s>
- Surawicz, C. M. (2008). Role of Probiotics in Antibiotic-associated Diarrhea, Clostridium difficile-associated Diarrhea, and Recurrent Clostridium difficile-associated Diarrhea: *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42(Supplement 2), S64–S70. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e3181646d09>
- Swennen, K., Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2006). Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(6), 459–471. <https://doi.org/10.1080/10408390500215746>
- Szajewska, H., Ruszczyński, M., & Radzikowski, A. (2006). Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: A meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of Pediatrics*, 149(3), 367–372. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2006.04.053>
- Takahashi, N., Xiao, J.-Z., Miyaji, K., Yaeshiima, T., Hiramatsu, A., Iwatsuki, K., Kokubo, S., & Hosono, A. (2004). Selection of acid tolerant Bifidobacteria and evidence for a low-pH-inducible acid tolerance response in *Bifidobacterium longum*. *Journal of Dairy Research*, 71(3), 340–345. <https://doi.org/10.1017/S0022029904000251>
- Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2004a). Comparison of selective and differential media for the accurate enumeration of strains of Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium spp. And Lactobacillus casei complex from commercial yoghurts. *International Dairy Journal*, 14(2), 143–149. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00172-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00172-9)
- Talwalkar, Akshat, & Kailasapathy, K. (2004b). The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to L. acidophilus and Bifidobacterium spp. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 5(1), 1–8.

- Tamime, A. Y., Saarela, M., Sndergaard, A. K., Mistry, V. V., & Shah, N. P. (2006). Production and Maintenance of Viability of Probiotic Micro-Organisms in Dairy Products. In A. Tamime (Ed.), *Probiotic Dairy Products* (pp. 39–72). Blackwell Science Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470995785.ch3>
- Tannock, G. W., Munro, K., Harmsen, H. J. M., Welling, G. W., Smart, J., & Gopal, P. K. (2000). Analysis of the Fecal Microflora of Human Subjects Consuming a Probiotic Product Containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(6), 2578–2588. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2578-2588.2000>
- Tárrega, A., & Costell, E. (2006b). Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *International Dairy Journal*, *16*(9), 1104–1112. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.002>
- Tárrega, A., Rocafull, A., & Costell, E. (2010). Effect of blends of short and long-chain inulin on the rheological and sensory properties of prebiotic low-fat custards. *LWT - Food Science and Technology*, *43*(3), 556–562. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.10.002>
- Tárrega, A., Torres, J. D., & Costell, E. (2011). Influence of the chain-length distribution of inulin on the rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. *Journal of Food Engineering*, *104*(3), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.028>
- Tokuhiro, K., Ishida, N., Kondo, A., & Takahashi, H. (2008). Lactic fermentation of cellobiose by a yeast strain displaying β -glucosidase on the cell surface. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *79*(3), 481. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1454-x>
- Tonucci, L. B., Olbrich dos Santos, K. M., Licursi de Oliveira, L., Rocha Ribeiro, S. M., & Duarte Martino, H. S. (2017). Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Clinical Nutrition*, *36*(1), 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.11.011>
- Torres, J. D., Tárrega, A., & Costell, E. (2010). Storage stability of starch-based dairy desserts containing long-chain inulin: Rheology and particle size distribution. *International Dairy Journal*, *20*(1), 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.08.001>
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, *9*, 225–241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>
- van den Akker, C. H. P., van Goudoever, J. B., Szajewska, H., Embleton, N. D., Hojsak, I., Reid, D., & Shamir, R. (2018). Probiotics for Preterm Infants: A Strain-Specific Systematic Review and Network Meta-analysis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *67*(1), 103–122. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001897>
- van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., van Hylekama Vlieg, J., Ursing, B. M., Boekhorst, J., Smit, B. A., Ayad, E. H. E., Smit, G., & Siezen, R. J. (2002). Flavour formation from amino acids

- by lactic acid bacteria: Predictions from genome sequence analysis. *International Dairy Journal*, 12(2–3), 111–121. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00132-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00132-7)
- Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(7), 714–728. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>
- Venugopalan, V., Shriner, K. A., & Wong-Beringer, A. (2010). Regulatory Oversight and Safety of Probiotic Use. *Emerging Infectious Diseases*, 16(11), 1661–1665. <https://doi.org/10.3201/eid1611.100574>
- Vera-Pingitore, E., Jimenez, M. E., Dallagnol, A., Belfiore, C., Fontana, C., Fontana, P., von Wright, A., Vignolo, G., & Plumed-Ferrer, C. (2016). Screening and characterization of potential probiotic and starter bacteria for plant fermentations. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.046>
- Verón, H. E., Di Risio, H. D., Isla, M. I., & Torres, S. (2017). Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. *LWT*, 84, 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.058>
- Vinderola, G., Capellini, B., Villarreal, F., Suárez, V., Quiberoni, A., & Reinheimer, J. (2008). Usefulness of a set of simple in vitro tests for the screening and identification of probiotic candidate strains for dairy use. *LWT - Food Science and Technology*, 41(9), 1678–1688. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.10.008>
- Wedajo, B. (2015). Lactic Acid Bacteria: Benefits, Selection Criteria and Probiotic Potential in Fermented Food. *Journal of Probiotics & Health*, 03(02). <https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000129>
- Whorwell, P. J., Altringer, L., Morel, J., Bond, Y., Charbonneau, D., O’Mahony, L., Kiely, B., Shanahan, F., & Quigley, E. M. M. (2006). Efficacy of an Encapsulated Probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in Women with Irritable Bowel Syndrome. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(7), 1581–1590. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00734.x>
- Wolkers, W. F., & Oldenhof, H. (Eds.). (2015). *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols* (Vol. 1257). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2193-5>
- Xu, R., Shang, N., & Li, P. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharide fractions from *Bifidobacterium animalis* RH. *Anaerobe*, 17(5), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.07.010>
- Yao, M., Xie, J., Du, H., McClements, D. J., Xiao, H., & Li, L. (2020). Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 857–874. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>
- Zajac, A. E., Adams, A. S., & Turner, J. H. (2015). A systematic review and meta-analysis of probiotics for the treatment of allergic rhinitis: Probiotics for the treatment of AR. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 5(6), 524–532. <https://doi.org/10.1002/alr.21492>

- Zhang, Q., Wu, Y., & Fei, X. (2016). Effect of probiotics on body weight and body-mass index: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(5), 571–580. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1181156>
- Zoumpoulou, G., Pot, B., Tsakalidou, E., & Papadimitriou, K. (2017). Dairy probiotics: Beyond the role of promoting gut and immune health. *International Dairy Journal*, 67, 46–60. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.09.010>
- (ΕΚ) αριθ. 178/2002. (n.d.). Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 178/2002 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 28ης Ιανουαρίου 2002, για τον καθορισμό των γενικών αρχών και απαιτήσεων της νομοθεσίας για τα τρόφιμα, για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων και τον καθορισμό διαδικασιών σε θέματα ασφαλείας των τροφίμων.
- (ΕΚ) ΑΡΙΘ. 1924/2006. (n.d.). ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) ΑΡΙΘ. 1924/2006 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 20 Δεκεμβρίου 2006 σχετικά με τους ισχυρισμούς διατροφής και υγείας που διατυπώνονται στα τρόφιμα.
- ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2015/2283. (n.d.). ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2015/2283 ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 25ης Νοεμβρίου 2015 σχετικά με τα νέα τρόφιμα, την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1169/2011 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου και την κατάργηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 258/97 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου και του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1852/2001 της Επιτροπής.
- Κωνσταντίνου, Α. (2018). ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΚΑΙ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΥ ΣΕ ΓΙΑΟΥΡΤΙ. ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΤΟΜΕΑΣ ΙV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.
- ΟΔΗΓΙΑ 2000/13/ΕΚ. (n.d.). ΟΔΗΓΙΑ 2000/13/ΕΚ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΟΒΟΥΛΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ της 20ής Μαρτίου 2000 για προσέγγιση των νομοθεσιών των κρατών μελών σχετικά με την επισήμανση, την παρουσίαση και τη διαφήμιση των τροφίμων.