**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

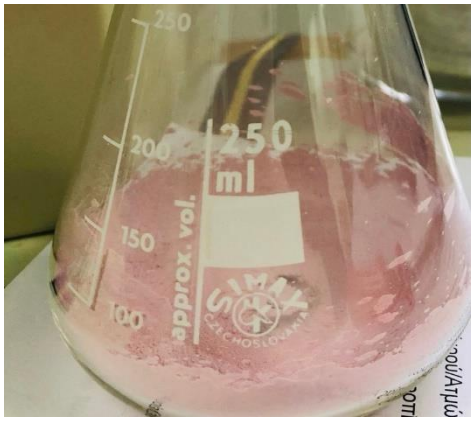
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

# Παραγωγή στιγμιαίου ροφήματος από εκχυλίσματα βοτάνων εμπλουτισμένου με προβιοτικές καλλιέργειες

# Production of instant beverage from herbal extracts enriched with probiotic cultures




**Επιβλέπων καθηγητής : Παπαδάκης Σπυρίδων**

**Φοιτήτρια : Πολυβακίδη Μαρία-Ελένη**

**ΑΘΗΝΑ,202**

Έγινε δεκτή

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει την πτυχιακή εργασία με τίτλο **«Παραγωγή στιγμιαίου ροφήματος από εκχυλίσματα βοτάνων εμπλουτισμένου με προβιοτικές καλλιέργειες»** που παρουσιάστηκε από την **Πολυβακίδη Μαρία-Ελένη** και βεβαιώνουμε ότι έγινε δεκτή.

Ημερομηνία

Παπαδάκης Σπυρίδων

Spyridon Papadakis

Digitally signed by Spyridon Papadakis
Date: 2022.09.22 18:48:17 +03'00'

Ημερομηνία

Κοντελές Σπυρίδων

SPYRIDON KONTELES

Digitally signed by SPYRIDON KONTELES
Date: 2022.09.22 22:16:37 +03'00'

Ημερομηνία

Μπατρίνου Ανθιμία

Anthimia-Aikaterini Batrinou

Digitally signed by Anthimia-Aikaterini Batrinou
Date: 2022.09.22 19:27:55 +03'00'

**Ευχαριστίες**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους καθηγητές του τμήματος κύριο Κοντελέ Σπυρίδωνα ,κυρία Μπατρίνου Ανθιμία και κυρία Στρατή Ειρήνη που συνέδραμαν καθοριστικά στην έναρξη, εξέλιξη και περάτωση της ερευνητικής μου εργασίας. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Παπαδάκη Σπυρίδωνα για τον πολύτιμο χρόνο που μου αφιέρωσε, για τις ανεκτίμητες γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσε και για την στήριξη του σε όλη τη διάρκεια της ερευνητικής μου εργασίας.

**Αφιερώσεις**

Στους γονείς μου Θωμά και Τριανταφυλλιά και τον αδερφό μου Γιώργο για την αδιάκοπη στήριξη σε όλα τα χρόνια των σπουδών μου.

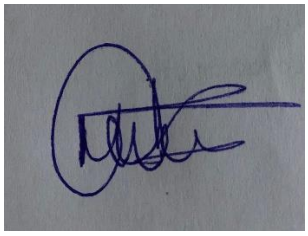
**Δήλωση συγγραφέα πτυχιακής εργασίας**

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Πολυβακίδη Μαρία-Ελένη του Θωμά, με αριθμό μητρώου 18684081 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής 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».

Η δηλούσα



**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα τελευταία χρόνια, οι καταναλωτές δίδουν μεγαλύτερη σημασία στην ποιότητα, αλλά και την θρεπτική αξία των τροφίμων που καταναλώνουν. Εκτος από τα διατροφικά οφέλη επιζητούν από τα τρόφιμα που καταναλώνουν να βελτιώνουν την κατάσταση της υγείας τους. Την ανάγκη αυτή των καταναλωτών έρχονται να ικανοποιήσουν τα λειτουργικά τρόφιμα. Ιδιαίτερα ανερχόμενη κατηγορία λειτουργικών τροφίμων είναι τα μη γαλακτοκομικής βάσης τρόφιμα που είναι εμπλουτισμένα με προβιοτικές καλλιέργειες. Πλέον, η έρευνα έχει στραφεί στην δημιουργία μη γαλακτοκομικών προβιοτικών προϊόντων στα οποία οι προβιοτικές καλλιέργειες θα ενσωματώνονται στο τελικό προϊόν ήδη καλλιεργημένες χωρίς να προκαλούν την ζύμωση του προϊόντος και σε αδρανή μορφή έως ότου να βρεθούν στο γαστρεντερικό περιβάλλον του ανθρώπινου οργανισμού όπου και θα δρουν προς όφελος της υγείας τους .Στην παρούσα έρευνα, παρασκευάστηκε ένα στιγμιαίο ρόφημα από εκχυλίσματα βοτάνων εμπλουτισμένο με προβιοτικές καλλιέργειες και μελετήθηκε η επιβίωση των ενθυλακωμένων προβιοτικών μικροοργανισμών σε αυτό. Η λογαριθμική μείωση της επιβίωσης των προβιοτικών μικροοργαισμών ήταν της τάξης των 1,5 έως 3 λογαρίθμων. Τόσο ο τύπος της χρησιμοποιούμενης μαλτοδεξτρίνης(12,21 DE) όσο και η πειραματική σειρά δεν επιδρούν στην κυτταρική βιωσιμότητα με τις τιμές της επιβίωσης ανάμεσα στους διαφορετικούς τύπους δειγμάτων και τις διαφορετικές πειραματικές σειρές να μη παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές έπειτα από στατιστική ανάλυση.

**Abstract**

Lately, consumers emphasize not only on the quality but also on the nutritional value of the food products they consume. Besides the nutritional benefits, they ask from the products they consume to improve their health status. This request is satisfied by the functional foods. A very upcoming category of functional foods is the non-dairy foods which are enriched with probiotic cultures. Nowadays, the research has focused on the creation of non dairy probiotic products, in which the probiotic cultures will be incorporated at the final product without causing the fermentation of it, remaining inactive until they enter in the human gastroenteric tract (GI), where they will exert their actions for the benefit of the human health. In the current research, it is created an instant beverage from herbal extracts enriched with probiotic cultures and it is studied for the survival of the them. Η λογαριθμική μείωση της επιβίωσης των προβιοτικών μικροοργανισμών ήταν της τάξης των 1,5 έως 3 λογαρίθμων.The logarithmic reduction of the survival of the probiotic microorganisms ranged from 1,5 to 3 logarithms. The type of the used maltodextrin (MD) and the experimental series don't seem to affect the probiotic survivability, since the values of survival between the different types of samples and the different experimental series don't present statistical important difference after statistical analysis.

**Πίνακας περιεχομένων**

Ευχαριστίες……3

Αφιερώσεις……4

Δήλωση συγγραφέα πτυχιακής εργασίας……5

Περίληψη……6

Περιεχόμενα……8

Κατάλογος εικόνων……10

Κατάλογος πινάκων……10

Εισαγωγή……11

**ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

**Κεφάλαιο 1**

1.1 Λειτουργικά τρόφιμα……12

1.2 Λειτουργικά τρόφιμα και επεξεργασία……12

1.3 Κατηγορίες λειτουργικών τροφίμων……13

1.4 Λειτουργικά τρόφιμα με προβιοτικά……13

1.5 Ορισμός προβιοτικών……14

1.6 Ιστορική αναδρομή……14

1.7 Μικροοργανισμοί που χαρακτηρίζονται ως προβιοτικοί……15

1.8 Κριτήρια αξιολόγησης των προβιοτικών……15

1.9 Προβιοτικά και δράση για την πρόληψη των ασθενειών……16

1.9.1 Καρκίνος……16

1.9.2 Σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου……17

1.9.3 Αλλεργικές ασθένειες……18

1.9.4 Ατοπική δερματίτιδα……19

1.9.5 Άσθμα……19

1.9.6 Αλλεργική ρινίτιδα……20

1.10 Δόσεις προβιοτικών……20

1.11 Πρεβιοτικά……20

1.12 Οφέλη πρεβιοτικών για την υγεία……21

1.13 Εφαρμογές πρεβιοτικών στα τρόφιμα……21

**Κεφάλαιο 2**

2.1 Εκχυλίσματα βοτάνων……23

2.2 Πράσινη εκχύλιση……24

2.3 Ιβίσκος(*Hibiscus sabdariffa L.*)……25

2.3.1 Προέλευση……25

2.3.2 Χρήση……25
2.4 Τσάι του βουνού (*Sideritis spp.*)……25
2.4.1 Προέλευση……26
2.4.2 Χρήση……26
2.5 Γαρύφαλλο(*Syzygium aromaticum)*……26
2.5.1 Προέλευση……26
2.5.2 Χρήση……27
**Κεφάλαιο 3**
3.1 Μη γαλακτοκομικά προβιοτικά ροφήματα……29
3.2 Περιορισμοί ενσωμάτωσης προβιοτικών στα τρόφιμα……30
3.3 Τεχνικές ενθυλάκωσης……30
3.4 Ξήρανση με ψεκασμό ……30
3.4.1 Εισαγωγή……30
3.4.2 Πλεονεκτήματα ξήρανσης με ψεκασμό……31
3.4.3 Μειονεκτήματα ξήρανσης με ψεκασμό……32
3.4.4 Στάδια ξηράνσεως με ψεκασμό……32
3.4.5 Αναλυτική περιγραφή σταδίων ξήρανσης με ψεκασμό……32
3.4.6 Προβλήματα κατά την ξήρανση με ψεκασμό……36
3.4.7 Μαλτοδεξτρίνη……37
**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**
Σκοπός της εργασίας……38
**Κεφάλαιο 1**
1.1 Παρασκευή μείγματος από εκχυλίσματα βοτάνων και τσάι του βουνού……39
1.2 Προσθήκη παράγοντα εγκλεισμού στο αρχικό μείγμα……40
1.3 Παστερίωση τελικών μειγμάτων με τον παράγοντα εγκλεισμού……43
1.4 Ανακαλλιέργεια προβιοτικών……44
1.5 Ενσωμάτωση προβιοτικών καλλιεργειών στο τελικό μείγμα……45
1.6 Ξήρανση με ψεκασμό των τελικών μειγμάτων με τις προβιοτικές καλλιέργειες……47
**Κεφάλαιο 2**
2.1 Καταμέτρηση προβιοτικών καλλιεργειών πριν από την ξήρανση……49
2.2 Καταμέτρηση προβιοτικών μικροοργανισμών μετά την ξήρανση……51
**Κεφάλαιο 3**
3. Αποτελέσματα-Συζήτηση……52
3.1 Προσδιορισμός επί τοις εκατό ξηρών στερεών αρχικού μείγματος……52
3.2 Προσδιορισμός επί τοις εκατό υγρασίας μαλτοδεξτρίνης 12,21 DE……52

3.3 Επιβίωση προβιοτικών μικροοργανισμών……53
Συμπεράσματα……62
Βιβλιογραφία……63

**Κατάλογος εικόνων**

Εικόνα 1 : Τσάι του βουνού, γαρύφαλλο, ιβίσκος στην αρχή της εκχύλισης(από τα αριστερά προς τα δεξιά)
Εικόνα 2 : Τσάι του βουνού, γαρύφαλλο, ιβίσκος στο τέλος της εκχύλισης(από τα αριστερά προς τα δεξιά)
Εικόνα 3 : Τελικό μείγμα μετά από ανάμειξη των εκχυλισμάτων
Εικόνα 4 : Παρακολούθηση θερμοκρασίας κατά την διάρκεια της παστερίωσης του μείγματος
Εικόνα 5: Ξηράντηρας ψεκασμού σε λειτουργία
Εικόνα 6: Οργανοληπτική αξιολόγηση έξι διαφορετικών ειδών σκόνης
Εικόνα 7: Καταμέτρηση προβιοτικών μικροοργανισμών στην υγρή τροφοδοσία

**Κατάλογος πινάκων**

Πίνακας 1: Υπολογισμός % ξηρών στερεών αρχικού μείγματος
Πίνακας 2: Υπολογισμοί % υγρασίας 12,21 DE μαλτοδεξτρίνης
Πίνακας 3: Υπολογισμός ποσότητας προστιθέμενης μαλτοδεξτρίνης
Πίνακας 4: Βασικά πειραματικά δεδομένα
Πίνακας 5: Αποτελέσματα 12DE πρώτη πειραματική σειρά
Πίνακας 6: Αποτελέσματα 21 DE πρώτη πειραματική σειρά
Πίνακας 7: Αποτελέσματα 12DE δεύτερη πειραματική σειρά
Πίνακας 8: Αποτελέσματα 21DE δεύτερη πειραματική σειρά
Πίνακας 9: Αποτελέσματα 12DE τρίτη πειραματική σειρά
Πίνακας 10: Αποτελέσματα 21DE τρίτη πειραματική σειρά
Πίνακας 11: Σύνοψη αποτελεσμάτων 12DE δειγμάτων
Πίνακας 12: Σύνοψη αποτελεσμάτων 21DE δειγμάτων
Πίνακας 13: Αποτελέσματα ελέγχου κανονικότητας
Πίνακας 14: Αποτελέσματα ελέγχου ομοιογένειας της διασποράς
Πίνακας 15: Αποτελέσματα μη παραμετρικής διπαραγοντικής ανάλυσης διασποράς(πειραματική σειρά)
Πίνακας 16: Αποτελέσματα μη παραμετρικής διπαραγοντικής ανάλυσης διασποράς(τύπος του δείγματος)
Πίνακας 17: Αποτελέσματα ελέγχου t-test(independent samples)
Πίνακας 18: Αποτελέσματα μη παραμετρικής μονοπαραγοντικής ανάλυσης διασποράς (κριτήριο Kruskal-Wallis

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα προβιοτικά μπορούν να θεωρηθούν λειτουργικά τρόφιμα, επειδή παρέχουν οφέλη για την υγεία πέρα από την διατροφική τους λειτουργία. Τα λειτουργικά τρόφιμα που περιέχουν προβιοτικά αποτελούν έναν από τους πιο πολλά υποσχόμενους κλάδους στην βιομηχανία των τροφίμων.Εδώ και δεκαετίες θεωρείται πως τα γαλακτοκομικής βάσεως παραδοσιακά προϊόντα αποτελούν το μέσο για την εισαγωγή των προβιοτικών στον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, το υψηλό ποσοστό του πληθυσμού που εμφανίζει δυσανεξία στη λακτόζη και αλλεργία στις πρωτεΐνες του γάλακτος αλλά και η ανάγκη των ανθρώπων για τρόφιμα που οφελούν την υγεία του σε συνδυασμό με την ανοδική τάση της χορτοφαγίας, έχουν δημιουργήσει την ανάγκη για ανάπτυξη λειτουργικών ροφημάτων μη γαλακτοκομικής βάσεως (Kandylis et al., 2016; Ugidos-Rodríguez et al., 2018).

Η επιστημονική έρευνα έχει εστιάσει κυρίως στην ενσωμάτωση προβιοτικών σε προϊόντα με βάση το σιτάρι καθώς και σε χυμούς φρούτων και λαχανικών. Στα προϊόντα αυτά τα προβιοτικά ενσωματώνονται μέσω της διαδικασίας της ζύμωσης που υφίστανται τα κατάλληλα υποστρώματα των προϊόντων αυτών. Παρόλ’ αυτά, παράγοντες που επιδρούν αρνητικά στην βιωσιμότητα των προβιοτικών όπως οι συνθήκες επεξεργασίας και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του τροφίμου στο οποίο ενσωματώνονται, έχουν καταστήσει αναγκαία την εφαρμογή τεχνικών ενθυλακώσεως κατά την ενσωμάτων των προβιοτικών στα τρόφιμα με σκοπό την προστασία τους. Αρκετές τεχνικές ενθυλακώσεως βασίζονται στην ξήρανση όπως η ξήρανση με ψεκασμό, η λυοφιλίωση, η ξήρανση κλίνης με ψεκασμό και η ενθυλάκωση με επικάλυψη σωματιδίων σε κλίνη. Σημαντικό ρόλο στην εφαρμογή των τεχνικών αυτών διαδραματίζει ο παράγοντας εγκλεισμού, που αντιμετωπίζει αποτελεσματικά προβλήματα που προκύπτουν κατά την διάρκεια της ξήρανσης και αφορούν την υγροσκοπικότητα του τροφίμου στο οποίο θα ενσωματωθούν τα προβιοτικά, την μικρή απόδοση και την υποβάθμιση των θρεπτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων του τελικού προϊόντος. Κυριότερος παράγοντας εγκλεισμού θεωρείται η μαλτοδεξτρίνη.

Στο θεωρητικό μέρος, στο πρώτο κεφάλαιο περιγράφονται εκτενώς τα σημαντικότερα στοιχεία που αφορούν τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά και η συσχέτιση που αυτά έχουν με τα λειτουργικά τρόφιμα. Στο δεύτερο κεφάλαιο, γίνεται αναφορά στα συστατικά του μη γαλακτοκομικής βάσης ροφήματος και την μέθοδο επεξεργασίας αυτών προς παραγωγή του προς ενσωμάτωση προβιοτικών ροφήματος και στο τρίτο κεφάλαιο περιγράφεται η τεχνική ενθυλάκωσης της ξήρανσης με ψεκασμό και η σημασία χρήσης του παράγοντα εγκλεισμού.

Στο πειραματικό μέρος, στο πρώτο κεφάλαιο αναλύεται η διαδικασία παρασκευής του μη γαλακτοκομικής βάσης ροφήματος καθώς και η διαδικασία της ενσωμάτωσης των προβιοτικών σε αυτό. Στο δεύτερο κεφάλαιο, περιγράφεται η πειραματική διαδικασία για τον έλεγχο της επιβίωσης των προβιοτικών μικροοργανισμών στο παραχθέν στιγμιαίο ρόφημα και στο τρίτο

κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα της μελέτης και τα συμπεράσματα που εξήχθησαν από αυτή.

## ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Κεφάλαιο 1

### 1.1 Λειτουργικά τρόφιμα

Από τις αρχές του 21ου αιώνα η κοινωνία βιώνει μία συνεχή αύξηση του προσδόκιμου ζωής και ταυτόχρονα δίδει μεγαλύτερη προσοχή στην ποιότητα. Οι καταναλωτές ενδιαφέρονται ιδιαίτερα για την υγεία τους και δίνουν μεγαλύτερη προσοχή τόσο στον τρόπο ζωής όσο και στην υγιεινή διατροφή (Szakály et al., 2012). Η αύξηση στην απαίτηση για αυτές τις λειτουργικές τροφές μπορεί να εξηγηθεί από το αυξανόμενο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης, την σταθερή αύξηση του προσδόκιμου της ζωής και την επιθυμία για την βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων (Siró et al., 2008). Ο όρος «λειτουργικό τρόφιμο» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην Ιαπωνία το 1984 ως αποτέλεσμα της έρευνας της σχέσεως μεταξύ διατροφής, οργανοληπτικής ικανοποίησης, ενίσχυσης και τροποποίησης των φυσιολογικών συστημάτων με σκοπό να καθοριστούν εκείνα τα προϊόντα τροφίμων, τα οποία είναι ενισχυμένα με ειδικά συστατικά τα οποία προσφέρουν πλεονεκτικές φυσιολογικές επιδράσεις (Hardy, 2000). Δεν υπάρχει κάποιος επίσημος ορισμός για τα λειτουργικά τρόφιμα κοινός για όλα τα κράτη. Ωστόσο, σύμφωνα με την ευρωπαϊκή κοινοπραξία «Επιστήμη των λειτουργικών τροφίμων στην Ευρώπη»(FUFOSE): «Ένα τρόφιμο μπορεί να χαρακτηριστεί ως «λειτουργικό» εάν αυτό είναι ικανοποιητικά καταδεδειγμένο ότι επηρεάζει ευεργετικά μία ή περισσότερες λειτουργίες στόχους στο σώμα, πέραν από τις επαρκείς διατροφικές επιδράσεις, με έναν τρόπο ο οποίος είναι σχετικός με μια βελτιωμένη κατάσταση της υγείας και με την ευζωία ή/και με την μείωση του κινδύνου εμφάνισης ασθένειας. Τα λειτουργικά τρόφιμα επιβάλλεται να παραμένουν τρόφιμα και είναι υποχρεωτικό να επιδεικνύουν τις επιδράσεις τους σε ποσότητες, οι οποίες αναμένονται φυσιολογικά να καταναλωθούν με τη διατροφή. Δεν αποτελούν χάπια ή κάψουλες, αλλά μέρος του τυπικού πρότυπου ενός τροφίμου (Hawkes, 2004). Τα λειτουργικά τρόφιμα εκτός από τα διατροφικά χαρακτηριστικά, έχουν ιδιότητες οι οποίες επιδρούν θετικά σε μία ή περισσότερες φυσιολογικές λειτουργίες. Αυτό το χαρακτηριστικό σχετίζεται με τα βιοενεργά συστατικά και επίσης εξαρτάται από τους διάφορους τεχνολογικούς χειρισμούς που εφαρμόζονται στα τρόφιμα (Arvanitoyannis & van Houwelingen-Koukaliaroglou, 2007). Τα περισσότερα από ένα φυσιολογικά οφέλη αποδίδονται στην παρουσία ποικίλων βιοενεργών συστατικών (Jibril & Abubakar, 2020).

## 1.2 Λειτουργικά τρόφιμα και επεξεργασία

Η πιο σημαντική πρόκληση είναι να διασφαλιστεί ότι τα λειτουργικά συστατικά δεν θα καταστραφούν και θα παραμείνουν ενεργά και βιοδιαθέσιμα μετά την επεξεργασία και την αποθήκευση (Day et al., 2009). Οι Stahl και Sies βρήκαν ότι η βιοδιαθεσιμότητα του λυκοπενίου βελτιωνόταν θερμαίνοντας κατάλληλα προετοιμασμένες τομάτες υπό την παρουσία ελαίου (Stahl & Sies, 1992). Από την άλλη, έχει βρεθεί ότι βράζοντας το σκόρδο για 15 λεπτά μειώνεται σημαντικά η ικανότητα του να αναστέλλει την δραστηριότητα της κυκλοοξυγενάσης στον πνεύμονα των πειραματόζωων και συνεπώς να συμμετέχει στην πρόληψη της θρόμβωσης, όπως το υδατικό εκχύλισμα ωμού ή μη επεξεργασμένου σκόρδου (Ali, 1995). Παρόμοιες μελέτες δείχνουν ότι η θέρμανση του σκόρδου σε μικροκύματα ή σε συμβατικό φούρνο πριν από το ξεφλούδισμα μπορεί να μειώσει δραματικά την ικανότητά του να μεταβάλλει την βιοενεργοποίηση ενός γνωστού πειραματικού καρκινογόνου των θηλαστικών (Song & Milner, 1999). Η επίδραση των διαφορετικών μεθόδων επεξεργασίας στην βιοδιαθεσιμότητα και την αποτελεσματικότητα των φυσιολογικά ενεργών συστατικών σε διάφορα λειτουργικά τρόφιμα χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Milner, 2000).

## 1.3 Κατηγορίες λειτουργικών τροφίμων

Ανάμεσα σε όλα τα είδη αγορών τροφίμων, τα λειτουργικά τρόφιμα έχουν κυρίως κυκλοφορήσει στις αγορές γαλακτοκομικών, αναψυκτικών, βρεφικών τροφών και ειδών ζαχαροπλαστικής (Bank et al., 2006). Τα λειτουργικά τρόφιμα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση τα εξής κριτήρια:1) την λειτουργικότητα,2) την προέλευση και 3) την παρουσία λειτουργικών συστατικών σύμφωνα με την δράση και την ισχύ της απόδειξης της επιστημονικής δηλώσεως για αυτά. Με βάση την λειτουργικότητά τους διακρίνονται σε αυτά που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ορμονική δράση και φυσική δράση. Με βάση την προέλευσή τους διακρίνονται σε αυτά που προέρχονται από φυτά και σε αυτά που προέρχονται από ζώα. Ανάλογα με την παρουσία βιοενεργών ή λειτουργικών συστατικών διακρίνονται σε αυτά που περιέχουν φυσικά λειτουργικά συστατικά και σε εκείνα που έχουν τροποποιηθεί για να περιέχουν λειτουργικά συστατικά. Ανάλογα με την δράση τους χωρίζονται σε αυτά που ενισχύουν τον οργανισμό με βιταμίνες και μέταλλα, που μειώνουν την χοληστερόλη, που διαθέτουν διαιτητικές ίνες, στα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά, τα συμβιωτικά καθώς και στα φυτοχημικά. Τέλος, με βάση την ισχύ της επιστημονικής απόδειξης για τα οφέλη που παρέχουν, τα ποίκιλα λειτουργικά τρόφιμα διακρίνονται σε : 1) πολύ ισχυρά, 2) ισχυρά, 3) μέτριας ισχύος, 4) αδύναμα έως μέτριας ισχύος και 5) αδύναμα (Jibril & Abubakar, 2020).

## 1.4 Λειτουργικά τρόφιμα με προβιοτικά

Όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, τα λειτουργικά τρόφιμα γενικά περιέχουν ένα ή και περισσότερα ευεργετικά συστατικά όπως τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά, οι αντιοξειδωτικές πολυφαινόλες και

στερόλες, τα καροτενοειδή και άλλα (Andlauer & Fürst, 2002; Granato et al., 2010; SHAH, 2001). Ανάμεσα στα τρόφιμα των οποίων οι ισχυρισμοί περί υγείας έχουν προωθηθεί ευρέως στα μέσα ενημέρωσης κατά τη διάρκεια των τελευταίων χρόνων και για τα οποία παρουσιάζονται πολυδιάστατες έρευνες για τις τεχνολογικές και βιομηχανικές τους χρήσεις, εκείνα με τα στελέχη προβιοτικών καλλιεργειών ξεχωρίζουν (Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001). Τα λειτουργικά τρόφιμα που περιέχουν προβιοτικά αποτελούν έναν από τους πιο πολλά υποσχόμενους κλάδους στην βιομηχανία των τροφίμων. Τα προβιοτικά μπορούν να θεωρηθούν λειτουργικά τρόφιμα επειδή παρέχουν οφέλη για την υγεία πέρα από την παραδοσιακή διατροφική λειτουργία (Lin, 2003). Επειδή τα προβιοτικά δεν έχουν παθογόνο δράση και καθώς το υψηλότερο επίπεδο ανοχής είναι αρκετά υψηλό, θα μπορούσαν να προωθηθούν ως ένα ευεργετικό συμπλήρωμα διατροφής. Παρακάτω, παρουσιάζονται ορισμένα σημαντικά στοιχεία τόσο για τα προβιοτικά όσο και για τα πρεβιοτικά και τα βότανα που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία του τελικού προϊόντος που παρασκευάσαμε, το οποίο θα νοείται χάρη σε αυτά και τη δράση τους λειτουργικό τρόφιμο σύμφωνα με τα στοιχεία που παρατέθηκαν ανωτέρω.

### 1.5 Ορισμός προβιοτικών

Ο όρος «προβιοτικός» προέρχεται από τα αρχαία ελληνικά «προ» και «βίος», που στην ουσία σημαίνει «υπέρ της ζωής» (Bagchi, 2014).Ο όρος «προβιοτικός» χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Lilley και Stillwell το 1965 για να περιγράψουν ουσίες που εκκρίνονται από ένα μικρόβιο διεγείροντας την ανάπτυξη ενός άλλου (Lilly & Stillwell, 1965). Έκτοτε στα προβιοτικά έχουν αποδοθεί πληθώρα ορισμών από επιστήμονες που δραστηριοποιούνταν σε αυτόν τον κλάδο. Το 2001, ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών επανακαθόρισε τα προβιοτικά ως «ζωντανούς μικροοργανισμούς οι οποίοι όταν διαχειρίζονται σε επαρκείς ποσότητες, παρέχουν οφέλη στην υγεία του ξενιστή» (FAO/WHO, 2001). Το 2013, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Γαστρεντερολογίας δημοσίευσε τις παγκόσμιες κατευθυντήριες οδηγίες για τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά και επιβεβαίωσε ότι η αποτελεσματικότητα των προβιοτικών είναι εξαρτώμενη από το στέλεχος και την προσληφθείσα δόση, διαψεύδοντας τον μύθο που υποστηριζόταν πως οποιοδήποτε γιαούρτι μπορεί να θεωρηθεί προβιοτικό (Guarner et al., 2012).

### 1.6 Ιστορική αναδρομή

Τα προβιοτικά χρησιμοποιούνταν πριν ακόμα ανακαλυφθούν τα μικρόβια. Ζυμώμενα προϊόντα γάλακτος απεικονίζονταν σε αιγυπτιακά ιερογλυφικά και ζυμώμενο γάλα βούβαλου χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά από θιβετιανούς νομάδες για να διατηρήσουν το γάλα τους κατά την διάρκεια των μακρών τους πεζοποριών (Guo et al., 2013). Το προφανές πλεονέκτημα για την υγεία από τον μεταβολισμό ποσοτήτων ζυμώμενων προϊόντων γάλακτος παρατηρήθηκε από τους επιστήμονες το 1800, ωστόσο η αιτία για αυτά τα οφέλη στην υγεία ήταν ακόμη άγνωστη. Ο Louis

Paster ταυτοποίησε τις ζύμες και τα βακτήρια που συμμετέχουν στην διαδικασία της ζύμωσης αλλά δεν συνέδεσε αυτά τα μικρόβια με οποιεσδήποτε επιδράσεις στην υγεία (Barnett, 2000). Ο Metchnikoff προσπάθησε πρώτος να ανακαλύψει την πιθανή επίδραση αυτών των μικροβίων για την ανθρώπινη υγεία. Συσχέτισε την ενισχυμένη μακροζωιία των Βούλγαρων αστών με την τακτική κατανάλωση ζυμώμενων γαλακτοκομικών προϊόντων όπως η γιαούρτι . Αυτό το συνέδεσε με τον *Bulgarian bacillus*, ο οποίος είχε ανακαλυφθεί από έναν Βούλγαρο φυσικό 27 ετών, τον Stamen Grigorov και στην συνέχεια πρότεινε ότι οι λακτοβάκιλλοι ίσως εξουδετερώνουν τις σηπτικές επιδράσεις του γαστρεντερικού μεταβολισμού που οδηγούσαν στην ασθένεια και το γήρας (Gasbarrini et al., 2016) . Ο Metchnikoff επίσης ανέφερε ότι «η εξάρτηση των εντερικών μικροβίων από το φαγητό καθιστά εφικτή την υιοθέτηση μέτρων ώστε να τροποποιηθεί η μικροβιακή χλωρίδα στα σώματα μας και να αντικατασταθούν τα επιβλαβή βακτήρια από εκείνα που είναι χρήσιμα». Αυτή η πρόταση περιγράφει με σαφή τρόπο την ιδέα των προβιοτικών. Η επιστημονική υπόθεση του Metchnikoff ευνόησε την δημιουργία και την ανάπτυξη της βιομηχανίας γαλακτοκομικών στην Γαλλία, της πρώτης στην Ευρώπη, χάρη στην χρήση ζυμώμενου γάλακτος που παρελήφθη από τον Bacillus bulgaricus (Gasbarrini et al., 2016).Υπάρχει γενική συναίνεση ότι το γιαούρτι και άλλα τρόφιμα που παράγονται από ζυμώμενο γάλα μπορούν να θεωρηθούν τα πρώτα λειτουργικά τρόφιμα (Acquistucci et al., 1999).

### 1.7 Μικροοργανισμοί που χαρακτηρίζονται ως προβιοτικοί

Τα γένη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* είναι τα κυρίως αναφερόμενα ως προβιοτικά. Αυτά τα βακτηριακά γένη απομονώνονται από το ανθρώπινο εντερικό σύστημα σε σημαντικούς πληθυσμούς. Το γένος *Lactobacillus* περιλαμβάνει διαφορετικά είδη με πιο σημαντικά ως προβιοτικά τα: 1) *L.acidophilus*, 2) *L.ramnosus*, 3) *L.bulgaricus*, 4) *L.reuteri*, 5) *L.casei*, 6) *L.johnsoni*, 7) *L.plantarum.* Αυτά τα είδη είναι ανθεκτικά στην οξύτητα του στομάχου και έχουν καλή ικανότητα να προσκολλώνται στα επιθηλιακά κύτταρα. Τα τελευταία χρόνια, οι ερευνητές προτείνουν την επαναταξινόμηση αρκετών ειδών που ανήκουν στο γένος *Lactobacillus* σε 25 νέα γένη, εξαιτίας της γονοτυπικής και φαινοτυπικής ποικιλότητας που παρατηρήθηκε στα 232 είδη που ανήκουν στο γένος *Lactobacillus* (Zheng et al., 2020). Το γένος *Bifidobacterium* ανήκει στο φύλο των Actinobacteria, καθώς τα βακτήρια του γένους έχουν μια χαρακτηριστική διακλαδισμένη μορφολογία. Τα πιο κοινά είδη προβιοτικών του γένους *Bifidobacterium* είναι τα:1) *B.animalis,* 2) *B.bifidum*, 3) *B.breve*, 4) *B.infantis*, 5) *B.lactis*, 6) *B.longum. O Streptocooccus thermophilus*, ο *Enterococcus faecalis,* ο *Enterococcus faecium*, ο *Pediococcus* και διάφοροι βάκιλλοι καθώς επίσης και ζύμες όπως ο *Saccharomyces cerevisiae* και ο *Saccharomyces bouldardii* εμφανίζουν ορισμένες προβιοτικές ιδιότητες (Stavropoulou & Bezirtzoglou, 2020).

## 1.8 Κριτήρια αξιολόγησης των προβιοτικών

Ένα σύνολο από κριτήρια έχουν προταθεί για την αξιολόγηση των προβιοτικών. Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά ενός προβιοτικού στελέχους είναι ότι θα πρέπει να είναι GRAS(Generally Regarded as Safe) (J. K. Collins et al., 1998; Gorbach, 2002; Havenaar & Huis In't Veld, 1992). Για ένα προβιοτικό θα πρέπει να ισχύουν από πλευράς ασφάλειας τα εξής: 1) όσα προορίζονται για ανθρώπινη χρήση να έχουν απομονωθεί κατά προτίμηση από γαστρεντερικό σωλήνα ανθρώπου 2) να μην είναι παθογόνο, 3) να ανθίσταται στην υδρόλυση από την χολή, 4) να μην μεταφέρει γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά, 5) να απομονώνεται από υγιή γαστρεντερικό σωλήνα και 6) να μην απομονώνεται από άτομα που έχουν ιστορικό με ασθένειες όπως η μολυσματική ενδοκαρδίτιδα ή διαταραχές του γαστρεντερικού σωλήνα. Από πλευράς λειτουργικότητας θα πρέπει:1) να είναι βιώσιμο στο περιβάλλον του γαστρεντερικού σωλήνα, 2) να είναι ανθεκτικό την οξύτητα του γαστρικού υγρού και στην υδρόλυση από τη χολή, 3) να προσκολλάται στον εντερικό επιθηλιακό ιστό, 4) να παράγει αντιμικροβιακές ουσίες προβάλλοντας ανταγωνισμό σε διάφορα παθογόνα βακτήρια όπως τα *Helicobacter pylori*, Samlonella spp., *Clostridium difficile,* 5) να τροποποιεί την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή, 6) να έχει αντικαρκινογόνες, αντιμεταλλαξιογόνες ιδιότητες, 7) να τροποποιεί την βιοχημεία του ξενιστή όπως το επίπεδο της χοληστερόλης του ορού ή την απορρόφηση των μετάλλων και 8) να παράγει λακτάση, λιπαρά οξέα βραχέος αλυσίδας ή βιταμίνες (Dunne et al., 2001; Guarner & Schaafsma, 1998; Saarela et al., 2000). Εκτός από τα κριτήρια λειτουργικότητας και ασφάλειας υπάρχουν και διάφορα τεχνολογικά κριτήρια που λαμβάνονται υπόψην κατά την επιλογή των προβιοτικών. Αυτά περιλαμβάνουν τα ακόλουθα :1) καλές οργανοληπτικές ιδιότητες, 2) αντίσταση στους φάγους, 3) βιωσιμότητα κατά την επεξεργασία και 4) σταθερότητα του προϊόντος κατά την αποθήκευση (Saarela et al., 2000).

## 1.9 Προβιοτικά και δράση για την πρόληψη ασθενειών

Μερικές από τις θετικές επιδράσεις των προβιοτικών στην ανθρώπινη υγεία συνοψίζονται στις παρακάτω: 1) αύξηση της ανοσολογικής αποκρίσεως, 2) θετική επίδραση στην εντερική μικροχλωρίδα, 3) μείωση του εντερικού pH, 4) βελτίωση της εντερικής λειτουργίας, 5) μείωση της χοληστερόλης, 6) μείωση της αμμωνίας και άλλων τοξικών συστατικών, 7) παραγωγή των βιταμινών του συμπλέγματος Β, 8) αποκατάσταση της εντερικής μικροχλωρίδας μετά από αντιβιοτική θεραπεία, 9) θεραπεία και πρόληψη της οξείας διάρροιας από τους ροτοϊούς, 10) ερέθισμα της ανοσολογικής απόκρισης(Gibson & Roberfroid, 1995). Μία συνοπτική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας από τους ειδικούς τόσο του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) όσο και του Οργανισμού Τροφίμων και Διατροφής (FAO) κατέδειξε ένα σχετικά μικρό αριθμό περιοχών στις οποίες τα προβιοτικά έχουν αποδειχθεί πως έχουν αποτελεσματική δράση κατά των ασθενειών. Παρακάτω θα παρατεθούν ορισμένα παραδείγματα (Reid et al., 2003). Γενικώς, οι

μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών περιλαμβάνουν την αύξηση του επιθηλιακού φραγμού, την πρόσφυση στην εντερική βλεννογόνο, την αναστολή της πρόσφυσης των παθογόνων μικροοργανισμών, τον αποκλεισμό των παθογόνων μέσω ανταγωνισμού και την παραγωγή αντιμικροβιακών ουσιών (Bermudez-Brito et al., 2012).

### 1.9.1 Καρκίνος

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου(CRC) είναι ο τέταρτος στην κατάταξη καρκίνος για τον οποίο γίνεται διάγνωση πιο συχνά καθώς και ο δεύτερος στην κατάταξη που αποτελεί αιτία θανάτου από καρκίνο στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (Benson et al., 2021). Το 2020, υπολογίστηκαν 104.610 νέες περιπτώσεις καρκίνου του παχέος εντέρου και 43.340 περιπτώσεις καρκίνου του πρωκτού. Κατά την διάρκεια της ίδιας χρονιάς 53.200 άτομα βρήκαν τον θάνατο από τον καρκίνο του πρωκτού και του εντέρου (Siegel et al., 2020). Ο Rauschenbakh απέδειξε ότι οι κακοήθεις όγκοι του λεμφοειδούς συστήματος ή η λευκαιμία παρατηρούνταν σε ποντίκια στα οποία είχε χορηγηθεί ινδολεοξικό οξύ (Rauschenbach et al., 1963), το οποίο είναι φυσικά μία ορμόνη, η οποία παράγεται από τα φυτά και από ορισμένα μικρόβια, όπως το *Fusarium delphinoides* (Kulkarni et al., 2013) και το *Pseudomonas syringae pv.savastanoi* (Yamada et al., 1985). Επομένως, ο σχηματισμός του ινδολεοξικού οξέος μπορεί να αποτελέσει σημαντική αίτια για την πρόκληση του καρκίνου. Έχει αποδειχθεί πως τα κολοβακτηρίδια παράγουν ινδολεοξικό οξύ (Weissbach et al., 1959), ωστόσο δεν έχουν καθορισθεί τα είδη που συμμετέχουν σε αυτό τον σχηματισμό. Αποδείχθηκε ότι μόλις 3 από τα 23 εντερικά αναερόβια βακτήρια συμμετέχουν σε αυτόν τον σχηματισμό με τις τρανσαμινάσες να συνδέουν την τρυπτοφάνη με το α-κετογλουταρικό οξύ προς 3 ινδολοπυροσταφυλικό οξύ και το τελευταίο αποκαρβοξυλιώνεται για να σχηματίσει το ινδολεοξικό οξύ. Αυτή η μεταβολική οδός μπορεί να είναι σημαντική για την βιοσύνθεση του ινδολεοξικού οξέος στο παχύ έντερο και την πρόκληση του καρκίνου του εντέρου (Chung et al., 1975). Ανάμεσα στα 1000 διαφορετικά είδη μικροοργανισμών που συνιστούν την μικροχλωρίδα του γαστρεντερικού σωλήνα του ανθρώπου βρίσκονται και τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος, τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην καθυστέρηση του σχηματισμού του καρκίνου του εντέρου, πιθανότατα επιδρώντας σε μεταβολικές, ανοσοποιητικές και προστατευτικές λειτουργίες. Τα προβιοτικά έχουν ανασταλτική επίδραση στην διαδικασία της καρκινογένεσης (Wolek et al., 2018). Οι παρακάτω μηχανισμοί έχουν περιγραφεί στην επιστημονική βιβλιογραφία ως οι κυρίως υπεύθυνοι για την αντικαρκινική δραστηριότητα των προβιοτικών: 1) τροποποίηση της σύνθεσης της εντερικής μικροχλωρίδας, 2) αλλαγές στην μεταβολική δραστηριότητα της εντερικής μικροχλωρίδας, 3) ένωση και διάσπαση των καρκινογόνων συστατικών που παρουσιάζονται στην εντερική κοιλότητα, 4) παραγωγή συστατικών με αντικαρκινική δραστηριότητα, όπως τα βραχέως αλυσίδας λιπαρά οξέα (SCFAs) καθώς και το συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA), 5) ανοσορρυθμιστική δράση, 6) βελτίωση του εντερικού φραγμού, 7) αλλαγές

στην φυσιολογία του ξενιστή, 8) αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων (dos Reis et al., 2017).

### 1.9.2 Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS)

Το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου είναι μία χρόνια λειτουργική διαταραχή του γαστρεντερικού συστήματος. Οι ασθενείς βιώνουν κοιλιακούς πόνους και μεταβολές στις συνήθειες του εντέρου, είτε εκδηλώνοντας διάρροια (IBS-D) είτε δυσκοιλιότητα (IBS-C) ή και τα δύο (IBS-M). Η γενετική προδιάθεση καθώς και περιβαλλοντικοί παράγοντες οι οποίοι περιλαμβάνουν την ηλικία, την διατροφή, το άγχος και τα γεωγραφικά χαρακτηριστικά, η χρήση των αντιβιοτικών και πιο σημαντικά η εντερική μικροχλωρίδα εμπλέκονται στην ανάπτυξη του IBS (Leylabadlo et al., 2022). Οι έρευνες δεν έχουν οριστικοποιηθεί καθώς δεν έχει βρεθεί κάποιος βιοδείκτης και επομένως για το IBS γίνεται διάγνωση κλινικά (Canavan et al., 2014). Γενικώς, το σύνδρομο παρουσιάζει ένα μεγάλο εύρος συμπτωμάτων και η ακριβής αιτιολογία του παραμένει άγνωστη σε ένα μεγάλο βαθμό (Durbán et al., 2013). Επηρεάζει το 11% του παγκόσμιου πληθυσμού (Lovell & Ford, 2012). Η μικροχλωρίδα του εντέρου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο σύνδρομο (S. M. Collins, 2014) και μάλιστα η μικροχλωρίδα των κοπράνων διαφέρει σε ασθενείς με PI-IBS (Post-Infectious IBS) από ότι εκείνη σε δείγματα υγιών ατόμων (Jalanka-Tuovinen et al., 2014). Η χρονική διακύμανση τόσο στη δομή όσο και στην λειτουργία της μικροχλωρίδας των κοπράνων έχει συσχετιστεί με την παρουσία και την ένταση των συμπτωμάτων του συνδρόμου (Durbán et al., 2013).

Εξαιτίας των σύγχρονων προκλήσεων για την θεραπεία του IBS, τα τελευταία χρόνια διάφοροι χειρισμοί του εντερικού μικροβιώματος έχουν συγκεντρώσει το ενδιαφέρον ως μία προσέγγιση για την θεραπεία του (Leylabadlo et al., 2022). Οι μηχανισμοί με τους οποίους δρουν τα προβιοτικά είναι ιδιαίτερα πολύπλοκοι, ωστόσο γενικά διαφαίνεται να είναι αποτελεσματικά στους ασθενείς του συνδρόμου. Παρολ' αυτά, από διάφορες μελέτες, είναι φανερό ότι τα προβιοτικά είναι πιο αποτελεσματικά σε μεμονωμένα συμπτώματα παρά στο σύνδρομο συνολικά. Εντούτοις, η σύγκριση θεωρείται δύσκολη καθώς κάθε μελέτη διαφέρει ως προς τον σχεδιασμό, τα στελέχη των προβιοτικών που χρησιμοποιούνται, τις χορηγηθείσες δόσεις καθώς και τον τρόπο χορήγησης αυτών. Οι ωφέλιμες επιδράσεις των προβιοτικών στη θεραπεία του συνδρόμου θα μπορούσαν να αποδοθούν στην αύξηση της μάζας των ωφέλιμων βακτηριών στο γαστρεντερικό σύστημα, στην μείωση της βακτηριακής υπερανάπτυξης στο λεπτό έντερο και στην αντιστροφή της ανισορροπίας μεταξύ των προ και αντι-φλεγνομονώδων κυτοκινών. Παράλληλα, τα προβιοτικά μπορούν να ενισχύσουν τον φραγμό της εντερικού βλενογόννου και να ομαλοποιήσουν την κινητικότητα του πεπτικού σωλήνα και την σπλαχνική ευαισθησία του. Συνοψίζοντας, οι δράσεις των προβιοτικών είναι οι ακόλουθες: 1) δρουν σαν φυσικός φραγμός, 2) ανταγωνίζονται για τα θρεπτικά συστατικά, 3) συμμετέχουν σε μεταβολικές αλληλεπιδράσεις, 4) ενισχύουν την εντερικό βλεννογόνο, 5)

παράγουν βακτηριοσίνη, 6) μειώνουν την εντερική διαπερατότητα και την βακτηριακή μετατόπιση και 7) ρυθμίζουν την εντερική φλεγμονώδη απόκριση ρυθμίζοντας την παραγωγή κυτοκινών και την ανοσοαπόκριση(Dai et al., 2013).

### 1.9.3 Αλλεργικές ασθένειες

Η επικράτηση των αλλεργικών διαταραχών αυξάνεται παγκοσμιώς επηρεάζοντας σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα της ζωής των ατόμων που πάσχουν από αυτές (H. T. Wang et al., 2019). Αυτές περιλαμβάνουν το άσθμα, την ρινίτιδα, την αναφυλαξία, την αλλεργία στα φάρμακα, τα έντομα και τα τρόφιμα, την κνίδωση, το έκζεμα και το αγγειοοίδημα (Ruby Pawankar et al., 2013). Υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για τον ρόλο που διαδραματίζουν τα προβιοτικά τόσο στην πρόληψη όσο και στην θεραπεία των αλλεργικών διαταραχών, δεδομένων των πρόσφατων αποδείξεων ότι ο κίνδυνος εμφάνισης αλλεργιών πιθανόν να σχετίζεται με την εντερική δυσβίωση (Wang et al., 2019).

### 1.9.4 Ατοπική Δερματίτιδα

Η ατοπική δερματίδια (γνωστή και ως ατοπικό έκζεμα) θεωρείται μία χρόνια φλεγμονώδη ασθένεια του δέρματος η οποία χαρακτηρίζεται από έντονο κνησμό καθώς και από υποτροπιάζουσες εκζεματικές βλάβες. Μολονότι αυτό αρχίζει πιο συχνά από την βρεφική ηλικία επηρεάζοντας δύο στα δέκα παιδιά, εντούτοις επικρατεί σε μεγάλο βαθμό και σε ενήλικες (Weidinger & Novak, 2016). Οι ανοσοποιητικοί μηχανισμοί στην ατοπική δερματίτιδα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκοι και λίγα είναι γνωστά για τον ρόλο του εντερικού μικροβιώματος στην αιτιοπαθογένεση και την σοβαρότητα της ασθένειας. Συγκεκριμένα, ο ρόλος αυτός παραμένει αμφιλεγόμενος. Υπάρχουν κάποια στοιχεία από μεγαλύτερες μελέτες που δείχνουν ότι η χορήγηση προβιοτικών μπορεί να μειώσει το κίνδυνο έναρξης νέας ατοπικής δερματίτιδας . Παρολ'αυτά, εξαιτίας της πολυπλοκότητας του εντερικού μικροβιώματος και των εξελισσόμενων τεχνικών στον τομέα της έρευνας, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην ατοπική δερματίτιδα (Jensen, 2019).

### 1.9.5 Άσθμα

Το άσθμα είναι μία χρόνια φλεγμονώδη ασθένεια των αναπνευστικών οδών, η οποία οδηγεί σε βήχα, σηριγμό, δύσπνοια και σφήξιμο στο στήθος. Το άσθμα αρχίζει συνήθως σε νεαρή ηλικία, ωστόσο ορισμένοι ασθενείς είναι πιθανό να το εμφανίσουν αργότερα. Αξίζει να σημειωθεί πως το άσθμα που εμφανίζεται κατά την παιδική ηλικία σχετίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό με την αλλεργία σε σχέση με το άσθμα που εμφανίζεται σε ενήλικα άτομα (Hammad & Lambrecht, 2021).Η μικροχλωρίδα του εντέρου είναι διαφορετική ανάμεσα σε υγιή άτομα και σε άτομα με άσθμα και αυτό σχετίζεται με την ανάπτυξη του άσθματος (Chunxi et al., 2020). Η υψηλή μικροβιακή ποικιλία συχνά θεωρείται ωφέλιμη. Μάλιστα, μία πρόσφατη έρευνα έδειξε μία σύνδεση μεταξύ χαμηλής

εντερικής μικροβιακής ποικιλίας κατά το πρώιμο στάδιο της ζωής και εμφάνισης του άσθματος στην παιδική ηλικία (Abrahamsson et al., 2014). Στην εντερική μικροβιακή ποικιλότητα είναι εφικτό να συμβάλλει ο θηλασμός των νεογέννητων (Oddy, 2017).Παράλληλα, με την ανάπτυξη του άσθματος έχει συνδεθεί η ύπαρξη συγκεκριμένων μικροοργανισμών του εντέρου. Για παράδειγμα, το *Clostridium* καθώς και η *Eggerthella lenta* βρίσκονταν σε αφθονία στα δείγματα ασθενών σε σχέση με τα υγιή δείγματα (Q. Wang et al., 2018). Παράλληλα, η μείωση των *Faecalibacterium* , *Bifidobacterium* και *Akkermansia* και η αύξηση των πληθυσμών *Candida* and *Rhodotorula* προκαλούσαν αύξηση στο κίνδυνο να εμφανίσει κάποιο παιδί άσθμα (Fujimura et al., 2016). Επιπλέον, ο αποικισμός στον πρώτο μήνα της ζωής από το *Clostridium difficile* σχετιζόταν με την ανάπτυξη άσθματος στην ηλικία των 6-7 χρονών (van Nimwegen et al., 2011). Συνεπώς, πιθανολογείται πως η καλά ισορροπημένη μικροβιακή χλωρίδα στον γαστρεντερικό σωλήνα μπορεί να επιφέρει οφέλη για την υγεία του ξενιστή και πως η μειωμένη μικροβιακή ποικιλότητα μπορεί να αποτελέσει έναν βιολογικό δείκτη για υποκείμενες παθολογικές καταστάσεις. Ωστόσο, η προβιοτική παρέμβαση έχει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα σε διάφορες μελέτες ως προς την πρόληψη και την θεραπεία του άσθματος (Chunxi et al., 2020) και ως εκ τούτου απαιτείται περαιτέρω έρευνα από την επιστημονική κοινότητα.

### 1.9.6 Αλλεργική ρινίτιδα

Η αλλεργική ρινίτιδα αποτελεί μία φλεγμονώδη διαταραχή του ρινικού βλεννογόνου και επηρεάζει πάνω από το 40% του πληθυσμού. Ανάμεσα σε όλα τα αίτια που οδηγούν στην φλεγμονή του βλεννογόνου, η αλλεργική ρινίτιδα θεωρείται το πιο κοινό, επηρεάζοντας 1 στα 6 άτομα(Kakli & Riley, 2016). Χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως φτέρνισμα, ρινόρροια, ρινική απόφραξη και κνησμό, που προκαλείται από τα εισπνεόμενα αλλεργιογόνα και την εμπλεκόμενη φλεγμονή του ρινικού βλεννογόνου(Meng et al., 2019).

## 1.10 Δόσεις προβιοτικών

Τα καταδεικνυόμενα οφέλη για την υγεία από την πρόσληψη των προβιοτικών μπορούν να αποκτηθούν όταν το τρόφιμο περιέχει την απαιτούμενη ελάχιστη ποσότητα βιώσιμων μικροοργανισμών κατά την κατανάλωση του. Η βιομηχανία των τροφίμων έχει υιοθετήσει γενικά το ελάχιστο προτεινόμενο επίπεδο των $10^6$ cfu $ml^{-1}$ στην ώρα της καταναλώσεως (Boylston et al., 2004; Kailasapathy & Rybka, 1997). Το Αμερικάνικο FDA έχει επίσης προτείνει ότι η ελάχιστη μετρούμενη ποσότητα προβιοτικών μικροοργανισμών σε ένα προβιοτικό τρόφιμο πρέπει να είναι τουλάχιστον $10^6$ cfu $ml^{-1}$. Ωστόσο, η επίδραση τόσο των συνθηκών επεξεργασίας όσο και της αποθηκεύσεως είναι σημαντικά για την προβιοτική βιωσιμότητα (Dinkçi et al., 2019). Εξαρτούμενης της ποσότητας που αφομοιώνεται και λαμβάνοντας υπόψην την επίδραση της αποθήκευσης στην βιωσιμότητα των προβιοτικών, η ημερήσια πρόσληψη $10^8$-$10^9$ προβιοτικών

μικροοργανισμών είναι απαραίτητη για να επιτευχθεί η προβιοτική δράση στον ανθρώπινο οργανισμό (Knorr, 1998). Έχει επίσης δηλωθεί ότι τα προβιοτικά προϊόντα πρέπει να καταναλώνονται τακτικά σε μία προσεγγιστική ποσότητα 100 g/ημέρα με σκοπό να προσφέρουν περίπου $10^9$ βιώσιμα κύτταρα μέσα στο έντερο (Karimi et al., 2011).

### 1.11 Ορισμός πρεβιοτικών

Η διεθνής επιστημονική ένωση για τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά συνεδρίασε το 2016 για να εξετάσει τον ορισμό και το πεδίο εφαρμογής των πρεβιοτικών. Σε συμφωνία με τα αρχικά δεδομένα για τα πρεβιοτικά και εκμεταλλευόμενοι τις τελευταίες επιστημονικές και κλινικές εξελίξεις, το πάνελ ενημέρωσε τον ορισμό των πρεβιοτικών ως: «ένα υπόστρωμα που χρησιμοποιείται επιλεκτικά από τους μικροοργανισμούς παρέχοντας όφελος για την υγεία». Αυτός ο ορισμός επεκτείνει το φάσμα των πρεβιοτικών, ώστε να συμπεριληφθούν πιθανώς και μη υδατανθρακικές ουσίες, εφαρμογές σε περιοχές του σώματος πέραν του γαστρεντερικού σωλήνα και διαφορετικές κατηγορίες πέραν του φαγητού. Η απαίτηση για μηχανισμούς στους οποίους μεσολαβεί η μικροχλωρίδα του εντέρου διατηρήθηκε. Για να θεωρείται μία ουσία ως πρεβιοτικό, θα πρέπει να έχουν καταγραφεί ευεργετικά οφέλη για την υγεία. Τελευταία, ο στόχος της συναινετικής δήλωσης μέσα από τον ορισμό των πρεβιοτικών είναι να προτρέψει τους ενδιαφερόμενους προς την κατάλληλη χρήση του όρου «πρεβιοτικός» έτσι ώστε να επιτευχθεί συνάφεια και συνοχή στις ερευνητικές αναφορές, στην προώθηση και την διάθεση στην αγορά των προϊόντων και στην ρυθμιστική εποπτεία της κατηγορίας (Gibson et al., 2017). Τα ακόλουθα ολιγομερή έχουν προταθεί ότι έχουν πρεβιοτική ικανότητα: 1.η λακτουλόζη, 2. οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες, 3. οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες, 4. οι ολιγοσακχαρίτες κυάμου σόγιας, 5. η λακτοσακχαρόζη, 6. οι γλυκο-ολιγοσακχαρίτες, 7. οι ξυλο-ολιγοσακχαρίτες, 8. οι ισομάλτο-ολιγοσακχαρίτες και 9. η παλατινόζη(Gibson et al., 2000).Εξ'αυτών, οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες, οι φρουκτοολίγοσακχαρίτες και η ινουλίνη είναι τα πιο γνωστά πρεβιοτικά (Al-Sheraji et al., 2013).

### 1.12 Οφέλη πρεβιοτικών για την υγεία

Οι άπεπτοι υδατάνθρακες μπορούν να χαρακτηριστούν ως πρεβιοτικοί αν πληρούν τα ακόλουθα κριτήρια :α. προβάλλουν αντίσταση στην οξύτητα του γαστρικού υγρού και στα ένζυμα των θηλαστικών, β. παρουσιάζουν επιδεκτικότητα στην ζύμωση από τα βακτήρια του εντέρου και γ. έχουν την ικανότητα να ενισχύουν την βιωσιμότητα ή/και την δραστηριότητα των ευεργετικών μικροοργανισμών (Gibson & Rastall, 2012). Τα πρεβιοτικά έχουν αναγνωριστεί για την ικανότητά τους να επηρεάζουν την μικροχλωρίδα του ξενιστή για το όφελος του ξενιστή (Gibson et al., 2017). Η τροποποίηση της μικροχλωρίδας μπορεί να συμβεί μέσω διατροφής που περιλαμβάνει πρεβιοτικά. Η προσέγγιση του να χρησιμοποιείται η διατροφή για να προκαλεί μικροβιακές αλλαγές προσφέρει μία άμεση προσέγγιση για την βελτίωση της υγείας. Είναι σημαντικό και λόγω

της ευρείας εφαρμογής της χρήσης των πρεβιοτικών να καθοριστούν τα οφέλη της υγείας που σχετίζονται με την πρόσληψή τους. Μία σημαντική προοπτική της χρήσης τους αφορά στην πρόληψη της οξείας γαστρεντερίτιδας διαμέσου της ενίσχυσης συγκεκριμένων συστατικών της μικροβιακής χλωρίδας. Επιπλέον, ίσως είναι πιθανή η βελτιωμένη προστασία από χρόνιες εντερικές διαταραχές (καρκίνος του παχέος εντέρου, σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου). Από αυτή τη προσέγγιση ίσως είναι περισσότερο επιδεκτικοί ορισμένοι πληθυσμοί-στόχοι όπως τα βρέφη, οι ηλικιωμένοι και τα άτομα που βρίσκονται σε νοσηλεία (Manning & Gibson, 2004).

### 1.13 Εφαρμογές των πρεβιοτικών στα τρόφιμα

Τα πρεβιοτικά μπορούν να προστεθούν σε ένα μεγαλύτερο φάσμα τροφίμων σε σύγκριση με τα προβιοτικά καθώς εκμεταλλεύονται την χρήση άπεπτων διαιτητικών συστατικών για να βελτιώσουν την εντερική υγεία. Σε αντίθεση με τα προβιοτικά όπου η βιωσιμότητα των καλλιεργειών είναι απαραίτητο να διατηρείται, με τα πρεβιοτικά δεν εμφανίζονται προβλήματα με την σταθερότητα στην θερμότητα ή την έκθεση στο οξυγόνο. Έτσι, ουσιαστικά κάθε τρόφιμο το οποίο περιέχει υδατάνθρακες μπορεί να εμπλουτιστεί με πρεβιοτικά. Παραδείγματα προϊόντων στα οποία τα πρεβιοτικά μπορούν να βρουν εφαρμογή με σκοπό την βελτίωση της εντερικής υγείας είναι τα προϊόντα αρτοποιίας, τα δημητριακά, τα μπισκότα, οι μπάρες, οι σούπες, οι σάλτσες, οι βρεφικές τροφές, τα κέικ, τα γλυκά, τα προϊόντα ζαχαροπλαστικής, οι επικαλύψεις για σαλάτες, διάφορα προϊόντα επάλειψης, ζυμώμενα γάλατα, ποτά και πιο συγκεκριμένα υγεινά ποτά (Al-Sheraji et al., 2013). Τα πρεβιοτικά έχουν βρεθεί σε διάφορα λαχανικά και φρούτα και θεωρούνται συστατικά λειτουργικών τροφίμων τα οποία παρουσιάζουν σημαντικά τεχνολογικά πλεονεκτήματα. Η προσθήκη τους βελτιώνει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά όπως τη γεύση και την υφή και ενισχύει την σταθερότητα των αφρών, των γαλακτωμάτων και την αίσθηση στο στόμα σε ένα μεγάλο εύρος εφαρμογών τους σε τρόφιμα όπως στον άρτο και στα γαλακτοκομικά προϊόντα (Al-Sheraji et al., 2013).

## Κεφάλαιο 2

### 2.1 Εκχυλίσματα βοτάνων

Τα φυτά αποτελούν φυσικούς αποθηκευτικούς χώρους θεραπευτικών παραγόντων, οι οποίοι συνήθως δεν προκαλούν παρενέργειες (Fennell et al., 2004). Τα φυσικά προϊόντα, όπως τα εκχυλίσματα των φυτών, ανοίγουν έναν νέο ορίζοντα για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών παραγόντων. Επιπλέον, παρέχουν απεριόριστες δυνατότητες για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων χάρη στην ασύγκριτη διαθεσιμότητα της χημικής ποικιλίας (Cos et al., 2006). Από τα αρχαία χρόνια σε διάφορες κουλτούρες παγκοσμίως φλεγμονώδεις διαταραχές και σχετιζόμενες ασθένειες έχουν θεραπευτεί με φυτά ή με φόρμουλες προερχόμενες από φυτά (Krishnaswamy, 2008; Rathore et al., 2007; Tapsell et al., 2006). Η αντιφλεγμονώδης δραστηριότητα διάφορων φυτικών εκχυλισμάτων και απομονωμένων συστατικών έχει ήδη διαπιστωθεί (Mueller et al., 2010). Αν και έχουν ταυτοποιηθεί μεμονωμένες ουσίες όπως φαινόλες και φαινολικά παράγωγα(κινόνες, φλαβονοειδή, φλαβόνες, ταννίνες ,λεκτίνες, πολυπεπτίδια, τερπενοειδή, έλαια, αιθέρια έλαια και αλκαλοειδή) ακόμα χρησιμοποιούνται εκχυλίσματα ολόκληρων φυτών (Cowan, 1999). Η εκχύλιση είναι το πρώτο σημαντικό βήμα στην ανάλυση των θεραπευτικών φυτών καθώς για περαιτέρω διαχωρισμό και χαρακτηρισμό είναι αναγκαίο να εξαχθούν οι επιθυμητές χημικές ουσίες από τα φυτικά προϊόντα. Η εκχύλιση των συστατικών των φυτών είναι απαραίτητη για την απομόνωση των βιολογικά ενεργών συστατικών και για την κατανόηση του ρόλου τους. Τα βασικά βήματα περιλαμβάνουν πρόπλυση, ξήρανση των φυτικών προϊόντων ή λυοφιλίωση και άλεση προκειμένου να ληφθεί ένα ομογενοποιημένο δείγμα. Η εκχύλιση από το φυτό είναι σημαντική καθώς οι διαλύτες χρησιμοποιούνται σε ποίκιλες συνθήκες όπως αυτές του χρόνου και της θερμοκρασίας εκχυλίσεως. Πρέπει να διασφαλίζεται ότι τα δυνητικά ενεργά συστατικά δεν καταστρέφονται ή υποβαθμίζονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκχυλίσεως. Διαφορετικοί τύποι συστημάτων εκχύλισης είναι διαθέσιμοι για την εξαγωγή του επιθυμητού ενεργού συστατικού. Το συγκεκριμένο σύστημα διαλύτη προς χρήση βασίζεται στη φύση του βιοενεργού συστατικού που αποτελεί στόχο. Για την εκχύλιση υδρόφιλων συστατικών απαιτούνται πολικοί διαλύτες όπως η μεθανόλη, η αιθανόλη ή ο οξικός αιθυλεστέρας. Για εκχύλιση περισσότερο λιπόφιλων συστατικών χρησιμοποιούνται διχλωρομεθάνιο και μεθανόλη σε αναλογία 1:1. Καθώς τα συστατικά στόχος μπορεί να είναι μη πολικά και θερμοευαίσθητα πρέπει να ληφθεί σοβάρα υπόψην η καταλληλότητα των μεθόδων εκχυλίσεως (Koparde et al., 2017). Οι ποσοτικές και ποιοτικές μελέτες των βιοενεργών συστατικών από φυτικά προϊόντα κυρίως βασίζονται στην επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εκχυλίσεως (Sasidharan et al., 2010; Smith, 2003). Τα βιοενεργά συστατικά από τα φυτικά υλικά μπορούν να εκχυλιστούν με ποίκιλες κλασσικές τεχνικές

εκχυλίσεως. Οι περισσότερες από αυτές τις τεχνικές βασίζονται στην εκχυλιστική δύναμη των διαφορετικών χρησιμοποιούμενων διαλυτών και την εφαρμογή της θερμότητας ή/και της ανάμειξης. Με σκοπό την παραλαβή βιοενεργών συστατικών από τα φυτά οι υπάρχουσες κλασσικές τεχνικές είναι : 1.Η εκχύλιση Soxhlet, 2.Η εκχύλιση με διαβροχή και 3.Η υδροαπόσταξη (Azmir et al., 2013). Υπάρχουν τρεις τύποι υδροαπόσταξης:1.Απόσταξη με νερό, 2.Απόσταξη με νερό και ατμό, 3.Άμεση απόσταξη με ατμό (Vankar, 2004). Τα σημαντικότερα μειονεκτήματα των συμβατικών μεθόδων εκχυλίσεως είναι οι μεγαλύτεροι χρόνοι εκχυλίσεως, η απαίτηση κοστοβόρων και υψηλής καθαρότητας διαλυτών, η εξάτμιση τεράστιων ποσοτήτων του διαλύτη, χαμηλή εκλεκτικότητα εκχύλισης και η αποσύνθεση των θερμοευαίσθητων συστατικών (Luque de Castro & García-Ayuso, 1998). Για να υπερνικηθούν αυτοί οι περιορισμοί των συμβατικών μεθόδων εκχυλίσεως νέες και πολλά υποσχόμενες τεχνικές εκχυλίσεως έχουν παρουσιαστεί, οι οποίες αναφέρονται σαν μη συμβατικές τεχνικές εκχυλίσεως. Μερικές από τις πιο υποσχόμενες τεχνικές είναι:1. Η εκχύλιση με υπέρηχους, 2.Η εκχύλιση με τη βοήθεια ενζύμων, 3.Η εκχύλιση με τη χρήση υπερκρίσιμων υγρών, 4.Η εκχύλιση πεπιεσμένου υγρού και 5.Η εκχύλιση με τη χρήση παλμικού ηλεκτρικού πεδίου (Azmir et al., 2013). Στην εν λόγω έρευνα, θα χρησιμοποιηθούν τα εκχυλίσματα από γαρύφαλλο, τσάι του βουνού και ιβίσκο, για τα οποία θα παρατεθούν κατωτέρω ορισμένα χρήσιμα για την μελέτη στοιχεία.

## 2.2 Πράσινη εκχύλιση

Η εκχύλιση φυσικών προϊόντων, για παράδειγμα στη βιομηχανία αρωμάτων θεωρούνταν «καθαρή» συγκρινόμενη με τις βιομηχανίες βαρέων χημικών, ωστόσο ερευνητές και εξειδικευμένοι επαγγελματίες βρήκαν ότι οι αρνητικές επιπτώσεις για το περιβάλλον είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές που αρχικά πίστευαν. Ο συνολικός περιβαλλοντικός αντίκτυπος ενός βιομηχανικού κύκλου εκχυλίσεως δεν είναι εύκολο να εκτιμηθεί. Ένας γενικός ορισμός της πράσινης χημείας είναι η εφεύρεση, ο σχεδιασμός και η εφαρμογή χημικών προϊόντων και διαδικασιών που έχουν ως σκοπό την μείωση ή την εξάλειψη της χρήσης και της παραγωγής επικίνδυνων ουσιών. Σε σχέση με την πράσινη εκχύλιση φυσικών προϊόντων αυτός ο ορισμός μπορεί να τροποποιηθεί ως ακολούθως: Η πράσινη εκχύλιση βασίζεται στην ανακάλυψη και τον σχεδιασμό διαδικασιών εκχυλίσεως, οι οποίες θα μειώσουν την κατανάλωση ενέργειας, θα επιτρέψουν την χρήση εναλλακτικών διαλυτών και ανανεώσιμων φυσικών προϊόντων και θα διασφαλίζουν ένα ασφαλές και υψηλής ποιότητας τελικό προϊόν/εκχύλισμα. Η εφαρμογή των τεχνολογιών πράσινης εκχύλισης έχει βελτιώσει την απόδοση της εκχύλισης με μία υψηλή συγκέντρωση ενεργών και θερμοευαίσθητων συστατικών με χαμηλότερη περιβαλλοντική επιβάρυνση, με μικρή διάρκεια και με αποτελεσματική χρήση του διαλύτη (Awad et al., 2021). Σε έρευνα σχετικά με την εκτίμηση των ενεργών συστατικών στο τσάι έπειτα από θερμή και ψυχρή έγχυση αντίστοιχα βρέθηκε ότι η μέθοδος εκχυλίσεως επηρεάζει ξεκάθαρα την ποσότητα και το

προφίλ των βιοενεργών συστατικών στα δείγματα από τσάι. Παρά το γεγονός ότι η χρήση ζεστού νερού κατά την προετοιμασία του εγχύματος τσαγιού είναι περισσότερο δημοφιλής, η ψυχρή εκχύλιση παρουσιάζεται σαν εναλλακτική στους καταναλωτές, καθώς παράγει ένα ρόφημα με υψηλότερες συγκεντρώσεις βιοενεργών συστατικών. Μολονότι τα εγχύματα από τσάι παρουσιάζουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα in vitro καθώς και βακτηριοστατική δραστηριότητα,δεν είναι σαφείς οι επιδράσεις in vivo και περαιτέρω έρευνες είναι ακόμη αναγκαίες για την καλύτερη κατανόηση της δράσης και των μηχανισμών (de Carvalho Rodrigues et al., 2015). Για την θερμή εκχύλιση εκχυλίστηκαν συνολικά 2.0 g δείγματος με 100 ml απιονισμένο νερό στους 80°C. Η εκχύλιση διεξήχθη με μαγνητική ανάδευση για 450 δευτερόλεπτα (Zielinski et al., 2014). Η ψυχρή έγχυση αποτελούνταν από 0,5 g τσάι με 20 ml απεσταγμένου νερού. Το έγχυμα διατηρήθηκε ακίνητο σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες στους 20-25°C και αναδευόταν χειρωνακτικά κάθε 30 λεπτά (Damiani et al., 2014).

## 2.3 Ιβίσκος(*Hibiscus sabdariffa L.)*

### 2.3.1 Προέλευση

Το *Hibiscus sabdariffa L.* αποτελεί μέλος της οικογένειας Malvaceae και θεωρείται μία πολύ σημαντική ετήσια καλλιέργεια, η οποία αναπτύσσεται επιτυχώς σε τροπικά και υποτροπικά κλίματα (Cobley, 1976). Είναι κοινώς γνωστό σαν Sorrel, Sour-sore, Queensland, Jelly plant, Jelly orka, Lemon bush, Florida cranberry σε διαφορετικές χώρες. Θεωρείται ότι προέρχεται από την Ασία (Ινδία έως Μαλαισία) ή την Τροπική Αφρική. Το φυτό είναι ευρέως γνωστό σε τροπικές ζώνες όπως η Καραϊβική, η Ινδία, η Κεντρική Αμερική, η Αφρική, η Βραζιλία, η Αυστραλία, η Χαβάη, η Φλόριντα, οι Φιλιππίνες κτλ. σαν οικιακή καλλιέργεια. Στο Σουδάν αποτελεί μία σημαντική καλλιέργεια εξαγωγής ιδιαίτερα στο δυτικό τμήμα όπου καταλαμβάνει την δεύτερη θέση αμέσως μετά το μαργαριταρένιο κέχρι, ενώ ακολουθείται από το *Sesamum* (Gautam, 2004).

### 2.3.2 Χρήση

Ο ιβίσκος είναι ένα ετήσιο φυτό που χρησιμοποιείται ως τρόφιμο, ζωοτροφή, φαρμακευτικό συμπλήρωμα διατροφής, στα καλλυντικά και στα φαρμακευτικά προϊόντα. Οι κάλυκες, τα φύλλα και οι μίσχοι έχουν όξινη γεύση. Ο χυμός από τους κάλυκες θεωρείται ως ένα ποτό που ενισχύει την ανθρώπινη υγεία χάρη στο υψηλό περιεχόμενο σε βιταμίνη C,σε ανθοκυάνες καθώς και σε άλλα αντιοξειδωτικά. Έχει πολλαπλές χρήσεις και τα εξωτερικά του φύλλα (τα οποία ονομάζονται κάλυκες) χρησιμοποιούνται συχνά στην παραγωγή ζελέ, χυμών, κρασιού, σιροπιού, ζελατίνης, κέικ, παγωτού, πουτίγκας και καρυκευμάτων. Το εξαιρετικό κόκκινο χρώμα του και η μοναδική του γεύση το καθιστούν ένα πολύτιμο προϊόν τροφίμων.

## 2.4 Τσάι του βουνού *(Sideritis spp.)*

### 2.4.1 Προέλευση

Το γένος *Sideritis* ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae (Romanucci et al., 2017a). Αυτό το γένος περιλαμβάνει περισσότερα από 150 είδη τα οποία είναι κατανεμημένα στις τροπικές και εύκρατες περιοχές του Βόρειου Ημισφαιρίου, από τις Μπαχάμες έως την Δυτική Κίνα και από την Γερμανία έως το Μαρόκκο. Τα περισσότερα είδη βρίσκονται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου, από τα Κανάρια νησιά και τα νησιά Μαδέϊρα έως τον Καύκασο. Μάλιστα, το μεγαλύτερο αριθμό διαφορετικών ειδών φαίνεται πως κατέχουν η Τουρκία και η Ισπανία. Στην Ισπανία, τα περισσότερα από αυτά βρίσκονται Νοτιοανατολικά της Ιβηρικής Χερσονήσου και στα Κανάρια Νησιά, ενώ στην Τουρκία ανευρίσκονται κυρίως στον Μαρμαρά και της περιοχές του Αιγαίου (González-Burgos et al., 2011; Güvenç et al., 2005). Στην Ελλάδα μόνο, 17 διαφορετικά είδη είναι ενδημικά, αρωματικά και πολύ παραγωγικά όπως: ο *Sideritis athoa* (που αναπτύσσεται στο όρος Άθος), ο *Sideritis clandestina* (που αναπτύσσεται κυρίως στα όρη Χελμός και Ταΰγετος στην Πελοπόννησο), ο *Sideritis scardica* (στο όρος Όλυμπος), ο *Sideritis raeseri* (στο όρος Παρνασσός), ο *Sideritis syriaca* (στα βουνά της Κρήτης, που είναι γνωστός σαν μαλοτήρα) και ο *Sideritis euboea* . Από αυτά ο *Sideritis raeseri*, ο *Sideritis scardica*, ο *Sideritis clandestina* και ο *Sideritis syriaca* μπορούν τόσο να καλλιεργηθούν όσο και να βρεθούν στην άγρια φύση (EMA/HMPC, 2016).

### 2.4.2 Χρήση

Το όνομα του φυτού με βάση τον Διοσκουρίδη προέρχεται από την ελληνική λέξη σίδερο (σίδηρος). Οι Αρχαίοι Έλληνες χρησιμοποιούσαν το τσάι από το εν λόγω φυτό για χιλιάδες χρόνια. Πίστευαν ότι αυτό το φυτό είχε την ιδιότητα να θεραπεύει πληγές και τραύματα από σιδερένια όπλα και σπαθιά (Piozzi et al., 2006). Τα είδη του *Sideritis* έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική για τις αντιμικροβιακές, αντιφλεγμονώδεις, αντιπικτηκτικές και πεπτικές τους ιδιότητες. Αυτά τα χρόνια, η φυτοχημεία του γένους *Sideritis* έχει μελετηθεί και έχουν ταυτοποιηθεί διάφορα τερπενοειδή, στερόλες, κουμαρίνες και πιο συγκεκριμένα γλυκοζίτες και αγλυκόνες φλαβονοειδών. Αναλυτικότερα, τα είδη από την Βαλκανική χερσόνησο έπειτα από μελέτη βρέθηκαν πλούσια σε φλαβονοειδή με υψηλή αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Στην παραδοσιακή ιατρική των βαλκανικών χωρών, ο *Sideritis raeseri* έχει χρησιμοποιηθεί ως τσάι από βότανα για την θεραπεία της φλεγμονής, γαστρεντερικών διαταραχών, κρυωμάτων και επίσης σαν τονωτικό, ενώ τα εκχυλίσματά του χρησιμοποιούνται ως συστατικό διαιτητικών συμπληρωμάτων για την αναιμία. Οι ξηρές του ταξιανθίες χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία ενός ροφήματος που καλείται «τσάι του βουνού» (Romanucci et al., 2017b).

## 2.5 Γαρύφαλλο (*Syzygium aromaticum*)

### 2.5.1 Προέλευση

Το *Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston (με συνώνυμο το *Syzygium aromaticum* (L.) Merr and Perry), κοινώς ονομαζόμενο γαρύφαλλο, ανήκει στην οικογένεια Myrtaceae και αποτελεί ένα σημαντικό αρωματικό μπαχαρικό. Το γαρύφαλλο εμπορικά καλλιεργείται στην Ινδία, τη Μαδαγασκάρη, την Ινδονησία, την Κεϋλάνη και την βόρεια Κίνα. Σύγχρονα, καλλιεργείται επίσης και στο Μπαγκλαντές σε μικρή κλίμακα (Nazrul et al., 2010). Σε περιορισμένη κλίμακα επιπλέον καλλιεργείται και στην Ινδία. Στην Ινδία αναπτύσσεται στις περιοχές Κεράλα, Ταμιλναντού, Καρνατάκα, Ανταμάν και στο νησί Νικομπάρ σε μία έκταση 1735 εκταρίων. Ωστόσο, είναι γηγενές στις Μολούκες νήσους της Ινδονησίας (Srivastava et al., 2005).

### 2.5.2 Χρήση

Τα γαρύφαλλα έχουν πολλές χρήσεις που κυμαίνονται από την μαγειρική έως και την ιατρική. Το γαρύφαλλο αποτελεί ένα πολύτιμο μπαχαρικό για την κουζίνα, το οποίο χρησιμοποιείται για να εμπλουτίσει κρεμμύδια, τομάτες, σαλάτες, τσάι βοτάνων και σούπες. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για να προσδώσει γεύση και άρωμα σε τσίχλες, προϊόντα κρέατος, μπισκότα, πίκλες, σοκολάτες, πουτίγκες, πάστες, καραμέλες, σάντουιτς και αναψυκτικά. Το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται για να προσδώσει αρωματικά συστατικά σε αρωματικά σαπούνια, οδοντόπαστες και φαρμακευτικά προϊόντα. Στην Ινδονησία, ένα μίγμα γαρυφάλλου και καπνού σε αναλογία 1:2 χρησιμοποιείται για την παρασκευή ενός ιδιαίτερου τσιγάρου που ονομάζεται «Kretek». Το γαρύφαλλο έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες εξαιτίας της παρουσίας των φλαβονοειδών. Καθαρό έλαιο γαρύφαλλου χρησιμοποιείται στην αρωματοθεραπεία της αρθρίτιδας και του ρευματισμού. Η πάστα από σκόνη γαρυφάλλου και μέλι χρησιμοποιείται για να θεραπεύσει καταστάσεις του δέρματος, ενώ η πάστα σκόνης γαρύφαλλου και νερού ενισχύει την διαδικασία επούλωσης τσιμπημάτων και κοψίματων. Χρησιμοποιείται στην θεραπεία γαστρεντερικών διαταραχών περιλαμβανομένης της ναυτίας, της διάρροιας, του φουσκώματος και της δυσπεψίας. Το έλαιο γαρυφάλλου βελτιώνει το ανοσοποιητικό σύστημα του σώματος και το βοηθά να παλεύει ενάντια στα εισβάλοντα μικρόβια. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για την θεραπεία της ονυχομύκωσης και της ασθένειας το «πόδι του αθλητή». Η εισπνοή του αιθέριου ελαίου γαρυφάλλου κατευνάζει ποίκιλες αναπνευστικές καταστάσεις όπως το άσθμα, το κρύωμα, ο βήχας, η βρογχίτιδα και η ιγμορίτιδα. Παράλληλα, τα γαρύφαλλα έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται στην θεραπεία του καρκινώματος του δέρματος και του πνεύμονα. Τα γαρύφαλλα είναι καλά για διαβητικούς ασθενείς καθώς ελέγχουν τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα. Η ευγενόλη προλαμβάνει τον σχηματισμό θρόμβων στο αίμα. Τοπική εφαρμογή αιθέριου ελαίου γαρύφαλλου ανακουφίζει από μυϊκές κράμπες. Τα γαρύφαλλα προλαμβάνουν την καταστροφή του αμφιβληστροειδή χιτώνα του

ματιού, το οποίο επιβραδύνει τον εκφυλισμό των μυών και βοηθά στην όραση σε μεγάλη ηλικία. Η εισπνοή του αρώματος γαρύφαλλου μειώνει τον λήθαργο, την κόπωση και τους πονοκεφάλους. Μόλις μια σταγόνα ελαίου γαρύφαλλου μπορεί να κατευνάσει τους πονοκεφάλους. Βελτιώνει την μνήμη ανακουφίζοντας από την διανοητική ομίχλη, την κατάθλιψη και την υπνηλία. Η αντιοξειδωτική δράση του γαρύφαλλου είναι υψηλότερη από κάθε άλλο θεραπευτικό φυτό. Μία σταγόνα ελαίου γαρύφαλλο είναι 400 φορές πιο ισχυρή από μία σταγόνα ελαίου από μύρτιλα. Το γαρύφαλλο χρησιμοποιείται σε συνθέσεις βοτάνων για την θεραπεία των ζώων. Για παράδειγμα, το έλαιο γαρυφάλλου βρίσκει εφαρμογή στην θεραπεία μολύνσεων του αυτιού σε σκύλους και σε γάτες (Rehman et al., 2017). Χρησιμοποιείται επιπρόσθετα σαν απωθητικό για τα κουνούπια (Trongtokit et al., 2005). Τέλος, διαθέτει αντιβακτηριδιακές ιδιότητες και χρησιμοποιείται σε μία ποικιλία από στοματικά διαλύματα, σπρέι για το λαιμό, οδοντόκρεμες και οδοντόπαστες για να θανατώνει τα παθογόνα βακτήρια. Μείγμα από ευγενόλη (το κυριότερο βιοενεργό συστατικό του γαρύφαλλου) και οξειδίου του ψευδαργύρου χρησιμοποιείται για την βραχυπρόθεσμη πλήρωση των κοιλοτήτων των δοντιών (Cai & Wu, 1996).

## Κεφάλαιο 3

### 3.1 Μη γαλακτοκομικά προβιοτικά ροφήματα

Τα τελευταία χρόνια, η απαίτηση των καταναλωτών για προβιοτικά προϊόντα που δεν βασίζονται σε γαλακτοκομικά έχει αυξηθεί και ως εκ τούτου η εφαρμογή των μη προβιοτικών καλλιεργειών σε μη γαλακτοκομικά προϊόντα και περιβάλλοντα συνιστά μία σημαντική πρόκληση (Mattila-Sandholm et al., 2002). Τα προβιοτικά προϊόντα συνήθως κυκλοφορούν στο εμπόριο υπό την μορφή ζυμώμενων γαλάτων και γιαουρτιών. Παρολ΄αυτά, με μία αύξηση στην χορτοφαγία των καταναλωτών στις ανεπτυγμένες χώρες, υπάρχει επίσης η απαίτηση για χορτοφαγικά προβιοτικά προϊόντα. Επιπλέον, η δυσανεξία στη λακτόζη και τα επίπεδα της χοληστερόλης είναι δύο σημαντικά μειονεκτήματα που σχετίζονται με τα ζυμώμενα γαλακτοκομικά προϊόντα (Heenan et al., 2004; K. Y. Yoon et al., 2006a). Η πλειοψηφία αυτών αποτελεί μη αλκοολούχα ροφήματα τα οποία κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη τα δημητριακά. Υπάρχει μία μεγάλη ποικιλία από παραδοσιακά μη γαλακτοκομικά ζυμώμενα ροφήματα, τα οποία παράγονται ανά τον κόσμο. Παραδείγματα τέτοιων προϊόντων αποτελούν: 1) το Boza που καταναλώνεται στην Βουλγαρία, την Αλβανία και την Ρουμανία, 2) το Mahewu που καταναλώνεται στην Αφρική και στις χώρες του Αραβικού κόλπου, 3) το Bushera που προετοιμάζεται στην Uganda, 4) το Pozol που καταναλώνεται στο Μεξικό και 5) το Togwa που καταναλώνεται στην Αφρική (Prado et al., 2008). Παρά τις προκλήσεις όσον αφορά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, υπάρχει ένα μεγάλο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη λειτουργικών ροφημάτων, τα οποία θα βασίζονται σε χυμούς φρούτων και θα είναι ενισχυμένα με προβιοτικά και πρεβιοτικά. Οι χυμοί φρούτων έχουν προταθεί σαν ένα ιδανικό μέσο ενσωμάτωσης για τα λειτουργικά συστατικά επειδή περιέχουν εκ φύσεως ευεργετικά θρεπτικά συστατικά, έχουν προφίλ γεύσεως ικανοποιητικό σε όλες τις ηλιακιακές ομάδες και επειδή εκλαμβάνονται ως υγιεινά και δροσιστικά (Tuorila & Cardello, 2002). Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι πλούσια σε λειτουργικά συστατικά τροφίμων όπως ο βιταμίνες, τα μέταλλα, οι διαιτητικές ίνες και τα αντιοξειδωτικά και δεν περιέχουν καθόλου γαλακτοκομικά αλλεργιογόνα, τα οποία πιθανόν να επηρεάζουν συγκεκριμένα τμήματα του πληθυσμού (Luckow & Delahunty, 2004). Παραδείγματα τέτοιων προϊόντων αποτελούν: 1) το Hardaliye που προκύπτει από τη φυσική ζύμωση του σταφυλιού (Arici & Coskun, 2001), 2) ένας προβιοτικός χυμός από τομάτα (K. Yoon et al., 2004), 3) ένας προβιοτικός χυμός από παντζάρι (Kyung et al., 2005), 4) ένας προβιοτικός χυμός από λάχανο (K. Y. Yoon et al., 2006b), 5) ένας προβιοτικός χυμός από καρότο και παντζάρι (Rakin et al., 2007) καθώς και μία ποικιλία άλλων προϊόντων.

### 3.2 Περιορισμοί κατά την ενσωμάτωση προβιοτικών στα τρόφιμα

Τα προϊόντα τροφίμων τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν φορείς προβιοτικών βακτηρίων εμφανίζουν περιορισμούς που αφορούν στην βιωσιμότητα των κυττάρων, η οποία

σχετίζεται με παραμέτρους όπως οξύτητα των μητρών των τροφίμων ή οι συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης. Κατά την διάρκεια της επεξεργασίας τα αναερόβια προβιοτικά δεν μπορούν να ανεχτούν υψηλές θερμοκρασίες και/ή έκθεση στον ατμοσφαιρικό αέρα (Ye et al., 2018). Επιπλέον, το όξινο περιβάλλον του γαστρεντερικού συστήματος και οι συγκεντρώσεις της χολής μπορεί να καταστούν κρίσιμοι παράγοντες για την επιβίωσή τους. Επομένως, τεχνικές όπως η μικροενθυλάκωση και ο εμπλουτισμός με πρεβιοτικές ουσίες προτείνονται για την προστασία τους (Frakolaki et al., 2020).

### 3.3 Τεχνικές ενθυλάκωσης με ξήρανση

Η ενθυλάκωση είναι μια διαδικασία που παγιδεύει μία ουσία (ενεργό μέσο) μέσα σε μία άλλη ουσία που αποτελεί το μέσο εγκλεισμού, παράγοντας σωματίδια της τάξης των νανόμετρων(nanoencapsulation), των μικρόμετρων (microencapsulation) ή των χιλιοστών. Υπάρχουν πολλές διαθέσιμες τεχνικές για την ενθυλάκωση των συστατικών των τροφίμων. Έχουν προταθεί πολλές τεχνικές ενθυλακώσεως, ωστόσο καμία από αυτές δεν μπορεί να θεωρηθεί ως μία διεθνώς εφαρμόσιμη διαδικασία για την ενθυλάκωση των βιοενεργών συστατικών των τροφίμων. Αυτό προκαλείται από το γεγονός ότι τα βιοενεργά συστατικά των τροφίμων έχουν δική τους χαρακτηριστική μοριακή δομή (Alamilla-Beltrán et al., 2005). Καθώς τα συστατικά που πρόκειται να ενθυλακωθούν βρίσκονται πολύ συχνά σε υγρή μορφή, πολλές τεχνολογίες βασίζονται στην ξήρανση. Διαφορετικές τεχνικές προτείνονται όπως η ξήρανση με ψεκασμό, η λυοφιλίωση, η ξήρανση κλίνης με ψεκασμό (spray-bed drying) και η ενθυλάκωση με επικάλυψη σωματιδίων σε κλίνη (Gallardo et al., 2013).

### 3.4 Ξήρανση με ψεκασμό

#### 3.4.1 Εισαγωγή

Η ξήρανση με ψεκασμό αποτελεί μια τεχνική επεξεργασίας αιωρούμενων σωματιδίων, η οποία χρησιμοποιεί την εκνέφωση ενός υγρού με σκοπό την δημιουργία σταγονιδίων τα οποία ξηραίνονται προς μεμονωμένα σωματίδια κατά την μετακίνηση τους κατά μήκος ενός ζεστού αερίου ξήρανσης, που συνηθώς είναι ο αέρας. Αποτελεί μια συνεχούς λειτουργίας επεξεργασία που λαμβάνει χώρα σε ένα στάδιο. Έχει εξελιχθεί σε μία από τις σημαντικότερες μεθόδους για την ξήρανση των υγρών τροφίμων στον Δυτικό κόσμο (Mujumdar, 2014). Ωστόσο, η τεχνολογία αυτή δεν είναι καινούρια και μάλιστα έχει καθιερωθεί στην τεχνολογία τροφίμων εδώ και πολλά χρόνια. Από τις πρώτες αναφορές στην μέθοδο θεωρούνται το 1865 σε μία πατέντα που περιέγραφε την ξήρανση με ψεκασμό σαν μέθοδο για την αύξηση της διάρκειας της ζωής των αυγών (La Mont, 1865) και το 1872 στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής από τον ευρεσιτέχνη της (Percy, 1872), ο οποίος και την περιέγραψε αναλυτικά. Η πρώτη σημαντική εφαρμογή της μεθόδου έγινε την

δεκαετία του 1920 για την ξήρανση με ψεκασμό του γάλακτος και απορρυπαντικών προϊόντων (Dilip M. Parikh, 2008).

### 3.4.2 Πλεονεκτήματα της ξήρανσης με ψεκασμό

Τα πλεονεκτήματα της ξήρανσης με ψεκασμό έχουν να κάνουν τόσο με τα μοναδικά χαρακτηριστικά των προϊόντων που υποβάλλονται στη τεχνική όσο και με την ίδια την επεξεργασία συγκριτικά με τις άλλες μεθόδους ξήρανσης .Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου συνοψίζονται στα εξής:

1. Διαχείριση θερμοευαίσθητων, μη θερμοευαίσθητων καθώς και θερμοάντοχων αντλήσιμων υγρών σαν πρώτη ύλη από την οποία μπορεί να παραχθεί η σκόνη. Τα θερμοευαίσθητα υλικά καθώς και τα βιοενεργά συστατικά τους υψηλής αξίας μπορούν να ξηρανθούν αποτελεσματικά ρυθμίζοντας κατάλληλα την θερμοκρασία ξηράνσης και το χρόνο επαφής ώστε να διατηρούν την βιοδραστικότητα τους.
2. Παραγωγή ξηρού υλικού με σχήμα, μέγεθος, μορφή, περιεκτικότητα υγρασίας και άλλες συγκεκριμένες ιδιότητες οι οποίες μπορούν να ελεγθούν ανεξαρτήτως της χωρητικότητας του ξηραντήρα και της θερμοευαισθησίας του υλικού.
3. Παροχή μεγάλης ευελιξίας στο σχεδιασμό του ξηραντήρα, με την ξήρανση ακόμα και πρώτων υλών που βασίζονται σε οργανικούς διαλύτες χωρίς τον κίνδυνο έκρηξης ή φωτιάς, την ξήρανση υδατικών πρώτων υλών (όπου οι παραγόμενες σκόνες παρουσιάζουν πιθανώς εκρηκτικές ιδιότητες ως ένα νέφος σκόνης στον αέρα), την ξήρανση τοξικών υλικών καθώς και πρώτων υλών οι οποίες απαιτούν χειρισμό σε ασηπτικές και υγιεινές συνθήκες ξήρανσης και τέλος την ξήρανση υγρών πρώτων υλών προς κοκκώδη, συσσωματοποιημένα και μη συσσωματοποιημένα προϊόντα.
4. Παροχή συνεχούς λειτουργίας, η οποία υπόκεινται τόσο σε συμβατικό όσο και σε έλεγχο με προγραμματιζόμενα υπολογιστικά συστήματα.
5. Δυνατότητα εφαρμογής μίας μεγάλης ποικιλίας ρυθμών παραγωγής (Mujumdar, 2014).
6. Η διαδικασία διαρκεί για μικρό χρονικό διάστημα με την ξήρανση με ψεκασμό να ολοκληρώνεται συνήθως σε λιγότερο από τρία λεπτά, γεγονός που επίσης συμβάλλει στην μείωση της κατανάλωσης της ενέργειας καθώς και στην προστασία των θερμοευαίσθητων υλικών.
7. Η απαίτηση σε εργατικό δυναμικό είναι μικρή και επομένως τα κόστη παραγωγής είναι μειωμένα.
8. Μπορεί να ξηρανθεί αποτελεσματικά μία ποικιλία πρώτων υλών όπως εναιωρήματα, διαλύματα και γαλακτώματα.
9. Το προϊόν που εξέρχεται από τον ξηραντήρα είναι πολύ υγιεινό.
10. Τα προϊόντα ξηράνσης με ψεκασμό έχουν ένα καλό επίπεδο σταθερότητας και σχετικά μεγάλη διάρκεια ζωής λόγω της χαμηλής ενεργότητας ύδατος .Επιπλέον, είναι εύκολο να αποθηκευτούν ,

να μεταφερθούν καθώς και να προετοιμαστούν. Υπόκεινται σε μικρό βαθμό ανεπιθύμητες βιοχημικές μεταβολές όπως η οξείδωση των λιπιδίων και η αμαύρωση.

11. Τα ανασυσταμένα προϊόντα τα οποία προκύπτουν από την επανενυδάτωση των αποξηραμένων προϊόντων είναι εύκολο να προετοιμαστούν και ομοιάζουν σημαντικά με τα φρέσκα προϊόντα (Selvamuthukumaran, 2019).

### 3.4.3 Μειονεκτήματα ξήρανσης με ψεκασμό

1. Υψηλό κόστος εγκατάστασης.
2. Χαμηλή θερμική απόδοση.
3. Η επικάθιση του προϊόντος στον θάλαμο ξήρανσης μπορεί να οδηγήσει στην λήψη υποβαθμισμένου προϊόντος ή ακόμα και σε κίνδυνο φωτιάς (Mujumdar, 2014).

### 3.4.4 Στάδια ξήρανσης με ψεκασμό

Η ξήρανση με ψεκασμό περιλαμβάνει κυρίως πέντε στάδια :

1. Συμπύκνωση : Η πρώτη ύλη συνήθως συμπυκνώνεται πριν την εισαγωγή της στον ξηραντήρα ψεκασμού

2. Εκνέφωση : Το στάδιο της εκνέφωσης δημιουργεί τις άριστες συνθήκες για την εξάτμιση προς ένα αποξηραμένο προϊόν με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά

3. Επαφή σταγονιδίου-αέρα : μέσα στο θάλαμο, το εκνεφωμένο υγρό έρχεται σε επαφή με το θερμό αέριο οδηγώντας στην εξάτμιση τουλάχιστον του 95% του νερού που περιέχεται στα σταγονίδια μέσα σε μόλις λίγα δευτερόλεπτα.

4. Ξήρανση των σταγονιδίων: η εξάτμιση της υγρασίας λαμβάνει χώρα σε δύο στάδια : 1) κατά την διάρκεια του πρώτου σταδίου υπάρχει επαρκής υγρασία στο σταγονίδιο για να αντικαταστήσει το υγρό  το οποίο εξατμίστηκε στην επιφάνεια και η εξάτμιση λαμβάνει χώρα με έναν σχετικά σταθερό ρυθμό και 2) το δεύτερο στάδιο ξεκινάει όταν δεν υπάρχει πια αρκετή υγρασία για να διατηρηθούν οι κορεσμένες συνθήκες στην επιφάνεια του σταγονιδίου προκαλώντας τον σχηματισμό ενός ξηρού περιβλήματος στην επιφάνεια. Η εξάτμιση τότε εξαρτάται από την διάχυση της υγρασίας διαμέσου του ξηρού περιβλήματος, του οποίου το πάχος αυξάνεται σταδιακά.

5. Διαχωρισμός: κυκλώνες, σακόφιλτρα, ηλεκτροστατικοί κατακρημνιστές ίσως μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον τελικό διαχωρισμό. Υγροί καθαριστές χρησιμοποιούνται συχνά για τον καθαρισμό και την ψύξη του αέρα ώστε να μπορεί να απελευθερωθεί στην ατμόσφαιρα(Patel et al., 2009).

### 3.4.5 Αναλυτική περιγραφή σταδίων της ξήρανσης με ψεκασμό

1. Προετοιμασία της πρώτης ύλης

Για την ξήρανση με ψεκασμό είναι εφικτή η χρήση πρώτων υλών με ένα μεγάλο εύρος (Samborska et al., 2022; Vehring et al., 2020a) ρεολογικών ιδιοτήτων όπως γαλακτώματα, διαλύματα χαμηλού ιξώδους καθώς και εναιωρήματα. Σε κάθε περίπτωση η πρώτη ύλη θα πρέπει να έχει προετοιμαστεί κατάλληλα πριν από την ξήρανση (Cheng et al., 2018).

## 2. Εκνέφωση

Η εκνέφωση της υγρής τροφοδοσίας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματική ξήρανση με ψεκασμό της εκάστοτε τροφοδοσίας. Η επιλογή του κατάλληλου σχεδίου εκνεφωτή βασίζεται στον απαιτούμενο ρυθμό ροής του υγρού- στόχου καθώς και στο μέγεθος των σταγονιδίων που προκύπτουν από την κατανομή του υγρού. Για αυτό το λόγο, διατίθενται διαφορετικοί τύποι εκνεφωτή με τους κυριότερους τους περιστροφικούς ή φυγοκεντρικούς εκνεφωτές, τους πνευματικούς εκνεφωτές ή ακροφύσια δύο ρευστών και τα ακροφύσια πιέσεως (Vehring et al., 2020b). Σε αντίθεση με τους συμβατικούς εκνεφωτές που βασίζονται στην πίεση και την κίνηση υψηλής ταχύτητας για να διατμήσουν το υγρό σε μικρές σταγόνες, οι υπερηχητικοί εκνεφωτές χρησιμοποιούν μόνο χαμηλή υπερηχητική παλλόμενη ενέργεια για την εκνέφωση (Rodriguez et al., 1999). Η υπερηχητική εκνέφωση μπορεί να ξεπεράσει ορισμένα μειονεκτήματα των παραδοσιακών εκνεφωτών. Οι περιστροφικοί, οι πνευματικοί και οι εκνεφωτές πιέσεως χρησιμοποιούν μόνο ένα μέρος της ενέργειας λειτουργίας τους (την φυγοκεντρική, την κινητική και την ενέργεια πιέσεως αντίστοιχα) για να διατμήσουν το υγρό, ενώ η περισσότερη από αυτή την ενέργεια μετατρέπεται σε κινητική ενέργεια των σωματιδίων. Σαν αποτέλεσμα, μπορούν να ανακύψουν προβλήματα, όπως ο μερικός διαχωρισμός των συστατικών στα μείγματα ή η παρουσία ελαττωμάτων στην επιφάνεια των μικροσωματιδίων. Η διάσταση των εξοπλισμών και το κόστος αυξάνει όταν η ταχύτητα των εκνεφωμένων σωματιδίων αυξάνει (Klaypradit & Huang, 2008).

### 2.1 Πνευματικοί εκνεφωτές (Gas(Air)-Assisted) ή ακροφύσια δύο ρευστών(Twin Fluid)

Τα ακροφύσια δύο ρευστών χρησιμοποιούν ένα σύστημα χαμηλής πιέσεως για την παροχή του υγρού, όπως μία περισταλτική αντλία και αντλούν την ενέργεια για την εκνέφωση από ένα αέριο υψηλής ταχύτητας το οποίο έρχεται σε στενή επαφή με το υγρό μετατρέποντας το σε σταγονίδια. Οι δύο κοινοί τύποι των εκνεφωτών αυτών χαρακτηρίζονται από την τοποθεσία στην οποία ο αέρας προσκρούει στο υγρό. Η εσωτερική ανάμειξη συνεπάγεται ότι ο αέρας και το υγρό έρχονται σε επαφή στο εσωτερικό του εκνεφωτή, ενώ με την εξωτερική ανάμειξη ο αέρας έρχεται σε επαφή με το υγρό απευθείας έξω από το ακροστόμιο του εκνεφωτή. Παρά το γεγονός πως με την εσωτερική ανάμειξη των δύο ρευστών επιτυγχάνεται πιο αποτελεσματική εκνέφωση, εντούτοις δεν παρέχει την προσαρμοστικότητα της εξωτερικής, όπου τόσο η παροχή της τροφοδοσίας όσο και του αέρα μπορούν κυμανθούν σε ένα ευρύ φάσμα (Lukasiewicz, 1989a). Σε σύγκριση με τους περιστροφικούς εκνεφωτές και τους εκνεφωτές πιέσεως, οι πνευματικοί εκνεφωτές παράγουν

μικρότερα μεγέθη υγρών σταγονιδίων. Είναι χρήσιμοι για την παραγωγή εξαιρετικά μικρών σταγονιδίων μεγέθους μικρότερου των 50 μm (Kim & Marshall, 1971).Το μέσο μέγεθος των σταγονιδίων είναι ανάλογο με το ιξώδες της υγρής τροφοδοσίας και της επιφανειακής τάσης και αντιστρόφως ανάλογο της αναλογίας της μάζας του αερίου εκνέφωσης προς την μάζα της υγρής τροφοδοσίας (Lukasiewicz, 1989b). Οι πνευματικοί εκνεφωτές είναι κατάλληλοι για χρήση τόσο σε μικρή όσο και σε βιομηχανική κλίμακα. Η ικανότητα παραγωγής μικρού μεγέθους σταγονιδίων ευνοεί την χρήση τους σε μικρής κλίμακας συστήματα ξήρανσης, όπου ο χρόνος παραμονής των σταγονιδίων προς ξήρανση είναι περιορισμένος. Τα μεγάλα σταγονίδια τείνουν να προσκρούουν στο παράπλευρο τοίχωμα των θαλάμων ξήρανσης εξαιτίας της μη ολοκληρωμένης ξήρανσης (Vehring et al., 2020b).

2.2 Περιστροφικοί ή φυγοκεντρικοί εκνεφωτές (Rotary Atomizer)

Ο περιστροφικός εκνεφωτής αποτελείται από έναν δίσκο ή έναν τροχό ο οποίος είναι τοποθετημένος κεντρικά στο πάνω τμήμα του θαλάμου ξήρανσης και περιστρέφεται σε ταχύτητες οι οποίες είναι μεγαλύτερες των 20000 στροφών το λεπτό. Η τροφοδοσία αντλείται υπό χαμηλή πίεση στον εκνεφωτή (<100psi), όπου επιταχύνεται προς την περιφέρεια του δίσκου και ρέει προς τον θάλαμο ξήρανσης. Η ενέργεια που απαιτείται για την εκνέφωση παρέχεται από τον κινητήρα του εκνεφωτή. Διασπάται σε σταγονίδια λόγω της διάτμησης εντός του υγρού και των δυνάμεων τριβής μεταξύ του αερομεταφερόμενου υγρού και του αέρα ξήρανσης .Με σκοπό την ρύθμιση του μεγέθους των σταγονιδίων διατίθενται μία ποικιλία από σχέδια δίσκων και τροχών. Απαιτούνται θάλαμοι ξήρανσης μεγάλης διαμέτρου καθώς τα σταγονίδια εξέρχονται από τον εκνεφωτή με υψηλή οριζόντια ταχύτητα. Οι περιστροφικοί εκνεφωτές είναι ακριβοί στην αγορά τους. Ωστόσο, παρέχουν ευελιξία καθώς τόσο η ροή της τροφοδοσίας όσο και η περιστροφική ταχύτητα του τροχού μπορούν να ρυθμιστούν ανεξάρτητα. Το μέσο μέγεθος των παραγόμενων σταγονιδίων είναι ανάλογο της παροχής της υγρής τροφοδοσίας, του ιξώδους και της επιφανειακής τάσης και αντιστρόφως ανάλογο της διαμέτρου και της περιστροφικής ταχύτητας του τροχού (Lukasiewicz, 1989a). Το μέσο μέγεθος των σταγονιδίων που παράγονται είναι κάτω από 100 μm. Τα κόστη αγοράς και συντήρησης θεωρούνται υψηλά (Gebhardt, 1988).

2.3 Εκνεφωτές πιέσεως (Pressure nozzles or Hydraulic nozzles)

Οι εκνεφωτές πιέσεως εκνεφώνουν το υγρό αναγκάζοντας το να περάσει μέσα από μία μικρή οπή, οπότε η ενέργεια πιέσεως μετατρέπεται σε κινητική και έτσι το υγρό ψεκάζεται στο θάλαμο ξήρανσης με υψηλή ταχύτητα. Ο ρυθμός παροχής του εκνεφωτή περιορίζεται από το μέγεθος της οπής και είναι ανάλογος προς την εφαρμοζόμενη πίεση. Καθώς αποτελεί μία τεχνική υψηλής πιέσεως οι αντλίες της τροφοδοσίας είναι σχετικά ακριβές και είναι δύσκολο να συντηρηθούν. Από την άλλη, οι εκνεφωτές δεν είναι ιδιαίτερα ακριβοί, ωστόσο η παραμικρή φθορά μπορεί να προκαλέσει σημαντικές παραλλαγές στον σχηματισμό των σταγονιδίων του σπρέϊ. Το μέγεθος των

σταγονιδίων είναι ανάλογο προς το μέγεθος των μετρητικών περασμάτων, το ιξώδες της τροφοδοσίας και την επιφανειακή τάση της. Αντιστρόφως ανάλογο είναι δε, προς την πίεση του εκνεφωτή (Lukasiewicz, 1989).

3. Επαφή σταγονιδίου-αέρα

Αυτή η επαφή λαμβάνει χώρα κατά την διάρκεια της εκνέφωσης και εκκινεί το στάδιο της ξήρανσης. Ανάλογα με την τοποθέτηση του εκνεφωτή σε σχέση με τον κατανεμητή του θερμού αέρα, μπορεί κανείς να διακρίνει την ξήρανση που διεξάγεται με ομορροή και την ξήρανση που διεξάγεται με αντιρροή. Στην διαδικασία ομορροής το υγρό ψεκάζεται στην ίδια κατεύθυνση με την ροή του θερμού αέρα διαμέσου του συστήματος, η θερμοκρασία εισόδου του θερμού αέρα είναι 150-220°C, η εξάτμιση συντελείται στιγμιαία (Fleming, 1921) και για αυτό οι ξηρές σκόνες θα εκτεθούν σε μέτριες θερμοκρασίες, γεγονός που περιορίζει τις θερμικές υποβαθμίσεις. Αντίθετα, κατά την διάρκεια της ξήρανσης με ψεκασμό κατ' αντιρροή, το υγρό ψεκάζεται στην αντίθετη κατεύθυνση από την ροή του θερμού αέρα και για αυτό το ξηρό προϊόν εκτίθεται σε υψηλές θερμοκρασίες, το οποίο περιορίζει τις εφαρμογές αυτής της διαδικασίας για τα θερμοευαίσθητα προϊόντα. Παρόλ΄αυτά, το κύριο πλεονέκτημα της διαδικασίας κατ'αντιρροή είναι ότι θεωρείται πιο οικονομική στα πλαίσια της καταναλισκόμενης ενέργειας (Gharsallaoui et al., 2007).

4. Ξήρανση των σταγονιδίων

Την στιγμή που οι σταγόνες και ο θερμός αέρας έρχονται σε επαφή, δημιουργούνται ισορροπίες θερμοκρασίας και μερικής πίεσης των ατμών μεταξύ υγρών και αερίων φάσεων. Επιπλέον, η μεταφορά της θερμότητας διεξάγεται από τον αέρα προς το προϊόν σαν αποτέλεσμα της διαφοράς θερμοκρασίας ενώ η μεταφορά της υγρασίας διεξάγεται προς την αντίθετη κατεύθυνση εξαιτίας της διαφοράς στην πίεση του ατμού.

Βασιζόμενη στην θεμελιώδη θεωρία της ξήρανσης, τρία διαδοχικά βήματα μπορούν να διακριθούν .Αμέσως μόλις ο θερμός αέρας και το υγρό έρθουν σε επαφή, η μεταφορά της θερμότητας προκαλεί πρωτεύοντος την αύξηση της θερμοκρασίας των σταγόνων μέχρι μία σταθερή τιμή. Αυτή η θερμοκρασία ορίζεται σαν την θερμοκρασία υγρού βολβού του αέρα ξήρανσης. Μετά από αυτό, η εξάτμιση του νερού της σταγόνας διεξάγεται σε σταθερή θερμοκρασία και μερική πίεση των ατμών του νερού. Ο βαθμός της διάχυσης του νερού από τον πυρήνα της σταγόνας προς την επιφάνεια συνήθως είναι σταθερός και ίσος με τον ρυθμό εξάτμισης της επιφανείας. Τελικά, όταν το περιεχόμενο του νερού της σταγόνας φτάσει σε μία κρίσιμη τιμή, μία ξηρή κρούστα σχηματίζεται στην επιφάνεια της σταγόνας και ο ρυθμός ξήρανσης μειώνεται ταχύτατα με την πρόοδο του μετώπου της ξήρανσης και πλέον εξαρτάται από τον ρυθμό διάχυσης του νερού διαμέσου της κρούστας. Η ξήρανση θεωρητικά έχει ολοκληρωθεί όταν η θερμοκρασία των σωματιδίων εξισορροπηθεί με την θερμοκρασία του αέρα (Gharsallaoui et al., 2007).

5. Διαχωρισμός σκόνης-αέρα ξήρανσης

Ο διαχωρισμός της σκόνης από τον αέρα ξήρανσης λαμβάνει χώρα σε ένα με τρία στάδια ανάλογα με το μέγεθος της λειτουργίας και το σχεδιασμό του θαλάμου ξήρανσης. Τα τραχιά σωματίδια μπορούν να συλλεχθούν στον πυθμένα του κωνικού θαλάμου ξηράνσης, η λεπτή σκόνη χρησιμοποιώντας κυκλώνες ενώ ο τελικός καθαρισμός του αέρα διεξάγεται με τη χρήση πληντρίδων, σακόφιλτρων ή ηλετροστατικών κατακρημνιστών. Σε πολλές εγκαταστάσεις, οι κυκλώνες χρησιμοποιούνται ως κύριοι διαχωριστές της σκόνης, ενώ τα σακόφιλτρα ή οι πληντρίδες υγρού καθαρισμού χρησιμοποιούνται σαν δευτερεύοντες ή τελικοί συλλέκτες της σκόνης. Σε μικρές εγκαταστάσεις όλη η σκόνη μπορεί να συλλεχθεί στον κυκλώνα χωρίς ξεχωριστή συλλογή στον θάλαμο ξήρανσης (B. Bhandari, 2008).

### 3.4.6 Προβλήματα κατά την ξήρανση με ψεκασμό

Κατά την ξήρανση με ψεκασμό χυμών από φρούτα και λαχανικά ανακύπτουν σημαντικές προκλήσεις καθώς η απόδοση είναι μικρή, παρατηρείται επικάθιση του προϊόντος στα τοιχώματα και μία τάση των κόκκων της σκόνης να συσσωματοποιούνται. Αυτά τα προβλήματα αποδίδονται στα συστατικά τους, τα οποία είναι πλούσια σε σάκχαρα και σε οργανικά οξέα όπως φρουκτόζη, γλυκόζη, σακχαρόζη και το κιτρικό οξύ, τα οποία είναι συστατικά με χαμηλό μοριακό βάρος και χαμηλές θερμοκρασίες υαλώδους μεταπτώσεως (Tg) (σακχαρόζη : 62 ° C, φρουκτόζη : 5 ° C , γλυκόζη : 31°C). Όταν κατά την ξήρανση η θερμοκρασία ανέρχεται 20 ° C υψηλότερα από την θερμοκρασία υαλώδους μεταπτώσεως, αυξάνεται η μοριακή κινητικότητα των υπεύθυνων συστατικών, γεγονός που οδηγεί στην παραλαβή ενός προϊόντος που είναι κολλώδες, υγροσκοπικό και έχει φτωχές ρεολογικές ιδιότητες (B. R. Bhandari et al., 2007). Για αυτό, οι φορείς είναι από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κατά την ξήρανση με ψεκασμό καθώς χωρίς αυτούς η ξήρανση με ψεκασμό πλούσιων σε σάκχαρα υλικών θα ήταν ιδιαιτέρως δύσκολη. Οι φορείς όπως η μαλτοδεξτρίνη και το αραβικό κόμμι αυξάνουν την απόδοση του προϊόντος, μειώνουν την υγροσκοπικότητα και την περιεχόμενη υγρασία της παραληφθείσας σκόνης και συνεισφέρουν στην διατήρηση των θρεπτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων του προϊόντος μέσα από μία αύξηση στο ασκορβικό οξύ, την βιταμίνη C, το ολικό φαινολικό περιεχόμενο, την περιεκτικότητα σε φλαβονοειδή καθώς και στην αντιοξειδωτική του δράση (Igual et al., 2014). Επιπλέον, πρόσθετα υψηλού μοριακού βάρους πριν την εκνέφωση του προϊόντος έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας υαλώδους μεταπτώσεως του (Truong et al., 2005). Οι πιο κοινά χρησιμοποιούμενοι παράγοντες επικάλυψης θεωρούνται η μαλτοδεξτρίνη, το αραβικό κόμμι, το συμπύκνωμα πρωτεΐνης ορού γάλακτος, το κηρώδες άμυλο (άνευ αμυλόζης) και γενικότερα άμυλα κάθε είδους, η ινουλίνη, η ζελατίνη, η πηκτίνη, η μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, η μεθυλοκυτταρίνη, τα αλγινικά, το φωσφορικό ασβέστιο καθώς και διάφοροι συνδυασμοί τους

(Adetoro et al., 2020a, 2020b; Phisut, 2012; Shishir & Chen, 2017; Suhag & Nanda, 2016; Turkiewicz et al., 2020). Η επιλογή του κατάλληλου παράγοντα επικάλυψης εξαρτάται από τον σκοπό της διεργασίας καθώς και από την φυσικοχημική συμπεριφορά του προς επεξεργασία προϊόντος (Shishir & Chen, 2017). Παρακάτω γίνεται αναφορά στην μαλτοδεξτρίνη που χρησιμοποιήθηκε ως παράγοντας εγκλεισμού των προβιοτικών στο παραχθέν ρόφημα από τσάι του βουνού και εκχυλίσματα βοτάνων.

### 3.4.7 Μαλτοδεξτρίνη

Τα εμπορικά προϊόντα υδρόλυσης του αμύλου ταξινομούνται με βάση το ισοδύναμο δεξτρόζης (DE). Οι μαλτοδεξτρίνες είναι εξ'ορισμού προϊόντα υδρόλυσης του αμύλου τα οποία περιλαμβάνουν μονάδες α-D-γλυκόζης ενωμένες με 1-4 γλυκοζιτικούς δεσμούς με ένα ισοδύναμο δεξτρόζης μικρότερο από 20 και μία γενική μορφή του τύπου [$(C_6H_{10}O_5)nH_20$]. Σαν ισοδύναμο δεξτρόζης ορίζεται το ποσοστό των ανάγοντων σακχάρων σε ένα σιρόπι υπολογισμένο σε ξηρή βάση. Ο ορισμός των μαλτοδεξτρινών μπορεί συνεπώς να αποδοθεί ως υλικά τα οποία έχουν ένα ισοδύναμο δεξτρόζης μεταξύ του 3 και του 20 (Kennedy et al., 1995). Τα προϊόντα μετατροπής του αμύλου με τιμές ισοδύναμου δεξτρόζης πάνω από 20 αναφέρονται ως σιρόπια γλυκόζης (Qi & Tester, 2018). Τα προϊόντα μετατροπής του αμύλου με μικρή μόνο ποσότητα δεξτρόζης είναι γνωστά σαν δεξτρίνες, ενώ εκείνα με ισοδύναμο δεξτρόζης όχι πάνω από 20, τα οποία περιλαμβάνουν μικρές ποσότητες δεξτρόζης είναι γνωστά σαν μαλτοδεξτρίνες (Mollan & Çelik, 1996).

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Σκοπός της εργασίας

Στην παρούσα έρευνα, σκοπός ήταν η παραγωγή ενός στιγμιαίου ροφήματος από εκχυλίσματα βοτάνων και τσάι του βουνού εμπλουτισμένου με προβιοτικές καλλιέργιειες και η μελέτη της βιωσιμότητας των καλλιεργειών. Το προϊόν κρύας εκχύλισης στο οποίο έγινε η ενσωμάτωση των προβιοτικών καλλιεργειών αποτελείτο από ένα μείγμα σε συγκεκριμένες αναλογίες από τσάι του βουνού(*Sideritis scardica*), γαρύφαλλο(*Syzygium aromaticum*) και ιβίσκο(*Hibiscus sabdariffa*) το οποίο είχε αναπτυχθεί και μελετηθεί από τους (Konteles et al., 2021). Οι προβιοτικές καλλιέργειες προετοιμάζονταν στο εργαστήριο Μικροβιολογίας με ανακαλλιέργεια λυοφιλιωμένης σκόνης που χρησιμοποιείται σαν εμπορικό μείγμα για την παρασκευή γιαούρτης. Η ενσωμάτωση των προβιοτικών στο κρύο εκχύλισμα από βότανα και τσάι του βουνού έγινε με μικροενθυλάκωση χρησιμοποιώντας την τεχνική της ξήρανσης με ψεκασμό. Ο παράγοντας εγκλεισμού που χρησιμοποιήθηκε ήταν η μαλτοδεξτρίνη και συγκεκριμένα η μελέτη εστιάστηκε στην χρήση μαλτοδεξτρίνης 12 και 21 DE (ισοδύναμα δεξτρόζης). Τόσο πριν όσο και μετά την παραγωγή της σκόνης καταμετρήθηκε η βιωσιμότητα των προβιοτικών καλλιεργειών με τη μέθοδο της καταμέτρησης των αποικιών. Οι πειραματικές διεργασίες πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Χημείας, Ανάλυσης και Σχεδιασμού Διεργασιών Επεξεργασίας Τροφίμων, στο εργαστήριο Μικροβιολογίας και στο εργαστήριο Μηχανικής του τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων.

## Κεφάλαιο 1

### 1.1 Παρασκευή μείγματος από εκχυλίσματα βοτάνων και τσάι του βουνού

Υλικά

1.Τσάι του βουνού (*Sideritis scardica*) (αποξηραμένο)

2. Γαρύφαλλο (*Syzygium aromatica*) (αποξηραμένο)

3. Ιβίσκος (Hibiscus *sabdariffa*) (αποξηραμένο)

Όργανα

1.Διηθητικό χαρτί

2.Γυάλινο χωνί

3.Ποτήρια ζέσεως των 500, 600, 1000, 2000 ml

4.Ογκομετρικός κύλινδρος των 1000 ml

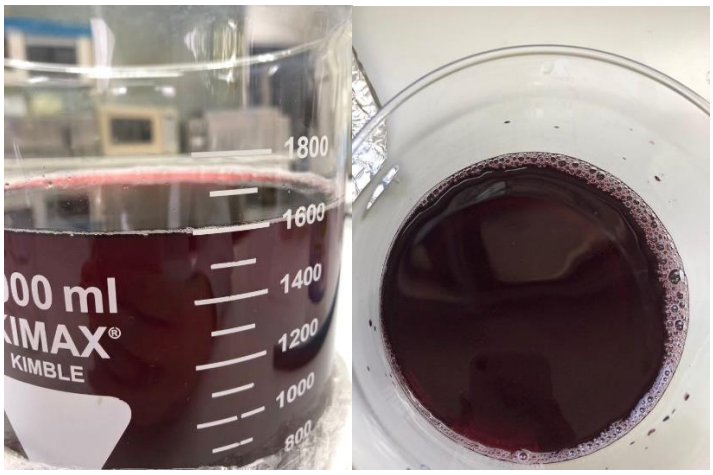
5. Αναλυτικός ζυγός

Πειραματική πορεία

Αρχικά, ζυγίστηκαν οι απαιτούμενες ποσότητες των αποξηραμένων υλικών. Προτείνεται η προετοιμασία ψυχρών εκχυλισμάτων σε αναλογία 1:30(w/v) σε αποστειρωμένο νερό (Skąpska et al., 2017). Ταυτόχρονα, για την παρασκευή 2 λίτρων ενός μείγματος από τα εκχυλίσματα των υλικών προτείνεται το τσάι του βουνού, το γαρύφαλλο και ο ιβίσκος να αναμειχθούν μετά από κρύα εκχύλιση τους με αναλογία 5:3:2 (Konteles et al., 2021). Έτσι, ζυγίστηκαν 33,4 g τσάι του βουνού,20 g γαρύφαλλο και 13,4 g ιβίσκο σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας. Έπειτα, αυτές οι ποσότητες μεταφέρθηκαν ποσοτικά σε ποτήρια ζέσεως των 2000ml, 600 και 500 ml αντίστοιχα στις οποίες είχαν μεταφερθεί με την βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου 1000ml, 1000, 600 και 400 ml νερό αντίστοιχα. Το νερό δεν απαιτείται να είναι αποστειρωμένο σε αυτό το στάδιο καθώς επρόκειτο να ακολουθήσει παστερίωση του τελικού μείγματος. Στη συνέχεια, τα ποτήρια ζέσεως τοποθετήθηκαν σκεπασμένα σε σκοτεινό μέρος για 24 ώρες έως ότου να ολοκληρωθεί η κρύα εκχύλιση. Την επόμενη μέρα, απομακρύνθηκαν τα στερεά κατάλοιπα των εκχυλισμένων υλικών με διήθηση με τη βοήθεια ενός γυάλινου χωνιού καθώς και ενός διηθητικού χαρτιού. Επειδή μέρος του νερού απορροφάται από τα πορώδη αποξηραμένα στερεά υλικά που εκχυλίζονται, οι ποσότητες των εκχυλισμάτων δεν μεταφέρθηκαν ποσοτικά στα νέα ποτήρια ζέσεως ίδιου όγκου. Οπότε, κατά την τελική ανάμειξη των κρύων εκχυλισμάτων έπρεπε να ληφθεί εκ νέου υπόψην η προτεινόμενη αναλογία μεταξύ αυτών και να γίνουν κατάλληλοι υπολογισμοί και διορθώσεις.

Εικόνα 1: Τσάι του βουνού, γαρύφαλλο, ιβίσκος στην αρχή της εκχύλισης(από τα αριστερά προς τα δεξιά)

Εικόνα 2: Τσάι του βουνού, γαρύφαλλο, ιβίσκος στο τέλος της εκχύλισης (από τα αριστερά προς τα δεξιά)




Εικόνα 3: Αρχικό μείγμα μετά από ανάμειξη των εκχυλισμάτων

## 1.2 Προσθήκη παράγοντα εγκλεισμού στο αρχικό μείγμα

<u>Υλικά</u>

Μαλτοδεξτρίνη σε σκόνη 6 DE

Μαλτοδεξτρίνη σε σκόνη 12 DE

Μαλτοδεξτρίνη σε σκόνη 21 DE

<u>Όργανα</u>

Αποστειρωμένα σε φλόγα κουταλάκια αλουμινίου

Θερμαντική πλάκα με αναδευτήρα

Μαγνητικός αναδευτήρας

Αναλυτικός ζυγός ακριβείας

Ογκομετρικές φιάλες των 500,1000 ml με βιδωτά πώματα

Πειραματική πορεία

Στο εργαστήριο διατίθενται τρία είδη μαλτοδεξτρίνης με διαφορετικό ισοδύναμο δεξτρόζης (6 DE,12DE,21DE). Με πιλοτικά πειράματα που διεξήχθησαν, παρήχθησαν έξι διαφορετικά είδη σκόνης χωρίς προβιοτικές καλλιέργειες. Τα τρία πρώτα είδη είχαν το καθένα έναν διαφορετικό τύπο μαλτοδεξτρίνης και η αναλογία ξηρών στερεών μαλτοδεξτρίνης -αρχικού μείγματος ήταν 10:1, ενώ τα υπόλοιπα τρία είχαν και εκείνα το καθένα έναν διαφορετικό τύπο ματοδεξτρίνης και η αναλογία ξηρών στερεών μαλτοδεξτρίνης-αρχικού μείγματος ήταν σε όλα 5:1. Κατά την οργανοληπτική αξιολόγηση των διαφορετικών ειδών σκόνης, η μαλτοδεξτρίνη 6 DE απορρίφθηκε καθώς το τελικό μείγμα είχε μειωμένη γλυκύτητα σε σχέση με τις άλλους δύο τύπους μαλτοδεξτρίνης που χρησιμοποιήθηκαν. Επιπλέον, η αναλογία ξηρών στερεών μαλτοδεξτρίνης-αρχικού μείγματος 10:1 απορρίφθηκε καθώς κατά την διενέργεια της ξήρανσης με ψεκασμό παρατηρήθηκε έντονη επικάθιση προϊόντος στα τοιχώματα του κυκλώνα. Επομένως, επιδιώκοντας την δημιουργία δύο τελικών μειγμάτων με τους δύο διαφορετικούς παράγοντες εγκλεισμού(12 DE,21 DE),το αρχικό μείγμα χωρίστηκε σε δύο ίσα μέρη και τοποθετήθηκε ισόποσα σε δύο ογκομετρικές φιάλες των 500 ml με βιδωτά πώματα. Στη συνέχεια, αποδεχόμενοι την αναλογία ξηρών στερεών μαλτοδεξτρίνης-τελικού μείγματος 5:1, προκειμένου να υπολογιστεί η ποσότητα κάθε τύπου μαλτοδεξτρίνης που επρόκειτο να προστεθεί στα δύο ίσα μέρη του αρχικού μείγματος, προσδιορίστηκαν πειραματικά τα ολικά ξηρά στερεά του αρχικού μείγματος εκχυλισμάτων χωρίς τον παράγοντα εγκλεισμού και η υγρασία των δύο διαφορετικών τύπων μαλτοδεξτρίνης (12 DE, 21 DE). Αφού ολοκληρώθηκαν οι υπολογισμοί, όπως αυτοί παρουσιάζονται παρακάτω, τοποθετήθηκε κάθε ογκομετρική φιάλη πάνω σε θερμαντική πλάκα με αναδευτήρα και αρχικά στο εσωτερικό τους βυθίστηκε αποστειρωμένος μαγνητικός αναδευτήρας, οπότε και το σύστημα τέθηκε σε λειτουργία. Στη συνέχεια, προστέθηκε σταδιακά και υπό άσηπτες συνθήκες με αποστειρωμένο αλουμινένιο κουτάλι στο εσωτερικό των φιαλών η προζυγισμένη ποσότητα μαλτοδεξτρίνης, η οποία και διαλυόταν σταδιακά με τη βοήθεια ήπιας θέρμανσης καθώς και του μαγνητικού αναδευτήρα. Μετά το πέρας της διαλυτοποίησης της μαλτοδεξτρίνης εντός των φιαλών, αποσύρθηκαν οι μαγνήτες, σφραγίστηκαν οι ογκομετρικές φιάλες και στη συνέχεια οδηγήθηκαν στο σύστημα παστεριώσεως.

1.Προσδιορισμός ξηρών στερεών αρχικού μείγματος

Υλικά

Ειδικές φιάλες για τοποθέτηση αρχικού μείγματος

Όργανα

Υπερκαταψύκτης

Αναλυτικός ζυγός ακριβείας

Συσκευή λυοφιλίωσης

Πειραματική πορεία

1. Προσδιορισμός επί τοις εκατό ξηρών στερεών αρχικού μείγματος

Για τον προσδιορισμό των επί τοις εκατό ξηρών στερεών του αρχικού μείγματος ζυγίστηκαν σε δύο ειδικές φιάλες, σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας, ποσότητες από το αρχικό μείγμα που προέκυψε από την ανάμειξη των εκχυλισμάτων από το τσάι, το γαρύφαλλο και τον ιβίσκο. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε υπερκαταψύκτη, ο οποίος λειτουργεί στους -80$^{o}$C και όταν ολοκληρώθηκε η κατάψυξή τους τοποθετήθηκαν στην συσκευή λυοφιλίωσης προκειμένου να συντελεστεί η ξήρανση των δύο αρχικών μειγμάτων. Όταν αυτή ολοκληρώθηκε απομακρύνθηκαν οι φιάλες με το αποξηραμένο υλικό από την συσκευή και μεταφέρθηκαν σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας για τον προσδιορισμό του βάρους τους.

2. Προδιορισμός επί τοις εκατό υγρασίας μαλτοδεξτρίνης 12,21 DE

Υλικά

Μαλτοδεξτρίνη 12,21 DE σε σκόνη

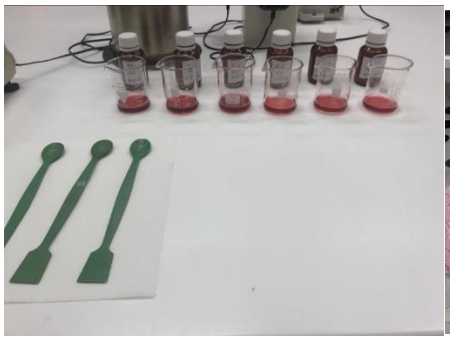
Αλουμινένια δοχεία μίας χρήσης

Όργανα

Ξηραντήρας κενού

Πειραματική πορεία

Για τον προσδιορισμό της επί τοις εκατό περιεκτικότητας σε υγρασία των δύο τύπων μαλτοδεξτρίνης (12,21 DE), ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας εις τριπλούν μικρές ποσότητες από κάθε τύπο μαλτοδεξτρίνης εντός αλουμινένιων δοχείων μίας χρήσης. Στη συνέχεια, τα δοχεία αυτά που έφεραν κατάλληλη σήμανση προς διαχωρισμό των διαφορετικών δειγμάτων οδηγήθηκαν προς ξήρανση υπό κενό. Όταν η διαδικασία ολοκληρώθηκε, ζυγίστηκαν εκ νέου και πραγματοποιήθηκαν οι κατάλληλοι υπολογισμοί για τον προσδιορισμό της εκατοστιαίας περιεκτικότητας σε υγρασία του καθενός από τους δύο διαθέσιμους τύπους μαλτοδεξτρίνης.



Εικόνα 6: Οργανοληπτική αξιολόγηση έξι διαφορετικών ειδών σκόνης

### 1.3 Παστερίωση τελικών μειγμάτων με τον παράγοντα εγκλεισμού

Όργανα

Κατσαρόλα

Ηλεκτρονικό θερμόμετρο

Θερμαντική πλάκα

Χρονόμετρο

Υδατόλουτρο (σε θερμοκρασία περιβάλλοντος)

Πειραματική πορεία

Καθώς δεν είναι γνωστή η μικροβιολογική κατάσταση των τελικών μειγμάτων με τους δύο διαφορετικούς παράγοντες εγκλεισμού, διενεργήθηκε μικροβιολογικός έλεγχος για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα και για ζύμες μύκητες. Δεδομένου ότι τα αποτελέσματα έδειξαν πολύ μικρή παρουσία μικροοργανισμών διενεργήθηκε παστερίωση των τελικών μειγμάτων σε ήπιες συνθήκες για την διασφάλιση της ασφάλειας των τελικών μειγμάτων με τον παράγοντα εγκλεισμού, στα οποία επρόκειτο στη συνέχεια να ενσωματωθούν οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί και στα οποία ως εκ τούτου θεωρούνταν ανεπιθύμητη η παρουσία άλλων μικροοργανισμών, παθογόνων και μη. Για τον σκοπό αυτό, οι δύο ογκομετρικές φιάλες με τα τελικά μείγματα εκχυλισμάτων και τους δύο διαφορετικούς παράγοντες εγκλεισμού τοποθετήθηκαν σφραγισμένες εντός κατσαρόλας η οποία ήταν πληρωμένη κατά τα ¾ με αποστειρωμένο νερό και η οποία βρισκόταν πάνω σε θερμαντική πλάκα. Η θερμοκρασία εντός της κατσαρόλας καταγραφόταν διαρκώς με θερμόμετρο που ήταν τοποθετημένο εντός ογκομετρικής φιάλης χωρίς πώμα πληρωμένης με απεσταγμένο νερό και μόλις εκείνη σταθεροποιήθηκε στους 65$^{o}$C, τότε τοποθετήθηκαν οι φιάλες στο εσωτερικό της κατσαρόλας με τέτοιο τρόπο ώστε να καλύπτονται πλήρως με νερό τουλάχιστον έως τον λαιμό κάθε φιάλης. Με ηλεκτρονικό θερμόμετρο παρακολουθούνταν η θερμοκρασία στο εσωτερικό των φιαλών. Όταν σταθεροποιήθηκε εκ νέου η θερμοκρασία στο εσωτερικό της κατσαρόλας στους 65$^{o}$C ,τότε άρχισε η χρονομέτρηση και λήφθηκε μέριμνα ώστε οι φιάλες να παραμείνουν εντός του θερμού νερού για 5 λεπτά. Μετά την πάροδο του εν λόγω χρόνου, αποσύρθηκε η κατσαρόλα από την φωτιά και οι φιάλες τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο προκειμένου να ψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθως, οι φιάλες που δεν επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν άμεσα για πειραματικούς σκοπούς, τοποθετήθηκαν εντός ψυγείου και παρέμειναν εκεί μέχρι τον επόμενο πειραματικό χειρισμό.

Εικόνα 4: Παρακολούθηση θερμοκρασίας κατά την διάρκεια της παστερίωσης του μείγματος

### 1.4 Ανακαλλιέργεια προβιοτικών

Υλικά

Yo-Mix 601 LYO 200 DCU

MRS broth (de Man,Rogosa,Sharpe)

Όργανα

Τριβλία Petri

Αποστειρωμένα σε φλόγα κουταλάκια αλουμινίου

Κατσαρόλα

Γκαζάκι

Αναπτήρας

Ογκομετρικές φιάλες 500 ml με βιδωτά πώματα

Falcons 50 ml

Γυάλινη ράβδος ανάδευσης

Vortex

Επωαστικός κλίβανος

Αποστειρωτήρας

Πειραματική πορεία

Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος

Αρχικά, παρασκευάστηκε το θρεπτικό υπόστρωμα που επρόκειτο να χρησιμοποιηθεί για τη καλλιέργεια των προβιοτικών μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, διαλύθηκαν από το εμπορικό σκεύασμα του θρεπτικού υποστρώματος σε σκόνη, 52 g σκόνης σε 1 λίτρο απιονισμένο νερό εντός μίας κατσαρόλας. Στη συνέχεια, αναδεύτηκε το διάλυμα περαιτέρω με γυάλινη ράβδο αναδεύσεως πάνω από την φλόγα έως ότου να διαυγαστεί πλήρως εντός λίγων λεπτών από την έναρξη του βρασμού. Όταν ολοκληρώθηκε η διαύγαση, το διάλυμα αφέθηκε σε ηρεμία για να

κρυώσει ελαφρώς και στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε ογκομετρικές φιάλες με βιδωτά πώματα των 500 ml, οι οποίες ακολούθως μεταφέρθηκαν στον αποστειρωτήρα για να αποστειρωθούν. Μετά την ολοκλήρωση της αποστείρωσης τοποθετήθηκαν στο ψυγείο εφόσον δεν επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν άμεσα για πειραματικούς σκοπούς.

Ανακαλλιέργεια προβιοτικών

Πηγή των προβιοτικών μικροοργανισμών αποτελεί ένα σκεύασμα σε σκόνη που χρησιμοποιείται για την παρασκευή γιαούρτης και περιέχει μείγμα προβιοτικών στελεχών και πιο συγκεκριμένα των *Streptococcus thermoplhilus* και *Lactobacillus delbrueckii.* Το εν λόγω λυοφιλιωμένο σκεύασμα είναι το Yo-Mix 601 LYO 200 DCU. Πρώτα απ' όλα, έγινε πλήρωση έως τα 25 ml 18 falcons των 50 ml με αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα MRS broth(de Man, Rogosa, Sharpe).Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας και προστέθηκαν κάτω από άσηπτες συνθήκες με αποστειρωμένο κουταλάκι αλουμινίου 0,2 g από το σκεύασμα σε κάθε ένα από τα 18 falcons με το αποστειρωμένο θρεπτικό υπόστρωμα. Για να συντελεστεί πλήρης διαλυτοποίηση της σκόνης εντός των σωλήνων έγινε ανακίνηση αυτών με την βοήθεια του κυκλοαναδευτήρα vortex. Έπειτα, όλοι οι σωλήνες που εμβολιάστηκαν με τους προβιοτικούς μικροοργανισμούς μεταφέρθηκαν στον επωαστικό κλίβανο, όπου και διατηρήθηκαν για 2 ημέρες στους 37$^{o}$C προκειμένου να αναπτυχθούν οι μικροοργανισμοί.

### 1.5 Ενσωμάτωση προβιοτικών καλλιεργειών στο τελικό μείγμα

Αντιδραστήρια

Ισότονο αραιωτικό υγρό

Όργανα

Θερμαντική πλάκα με αναδευτήρα

Μαγνητικός αναδευτήρας

Αναλυτικός Ζυγός ακριβείας

Φυγόκεντρος

Κυκλοαναδευτήρας vortex

Μικροπιπέτα 1ml

Ογκομετρικός κύλινδρος 10 ml

Πειραματική πορεία

Μετά την παστερίωση των δύο φιαλών με τον διαφορετικό παράγοντα εγκλεισμού, οι φιάλες διατηρήθηκαν στο ψυγείο μέχρι να ολοκληρωθεί η επώαση των προβιοτικών καλλιεργειών. Μετά το πέρας του καθορισμένου χρόνου επώασης , τα falcons με τις προβιοτικές καλλιέργειες απομακρύθηκαν από τον επωαστικό θάλαμο και παρατηρήθηκε εμφανής ανάπτυξη των καλλιεργειών ως λευκό ίζημα στον πυθμένα των ειδικών σωλήνων. Πριν την ενσωμάτωση των προβιοτικών καλλιεργειών εντός των δύο φιαλών προηγήθηκε καθαρισμός των καλλιεργειών από

το υπερκείμενο υγρό, που αποτελούσε το υγρό θρεπτικό υπόστρωμα. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της διαδικασίας της φυγοκέντρισης. Αναλυτικότερα, τα 18 falcons μεταφέρθηκαν στην φυγοκεντρική συσκευή και υποβλήθηκαν σε ψυχρή φυγοκέντρηση στους 4 $^{o}$C και σε 2000 rpm για 10 λεπτά. Μετά την πρώτη φυγοκέντριση απορρίφθηκε το υγρό θρεπτικό υπόστρωμα και παρέμειναν στον πυθμένα των σωλήνων υπό τη μορφή ιζίματος οι προβιοτικές καλλιέργειες. Στη συνέχεια, μεταφέρθηκαν σε κάθε σωλήνα με ογκομετρικό κύλινδρο 9 ml ισότονου αραιωτικού υγρού και οι σωλήνες αναδεύτηκαν με την βοήθεια του κυκλοαναδευτήρα vortex για την επαναδιαλυτοποίηση των προβιοτικών καλλιεργειών. Ακολούθησαν ακόμα δύο κύκλοι φυγοκέντρισης στις ίδιες συνθήκες για αποτελεσματικότερο καθαρισμό των προβιοτικών καλλιεργειών. Όταν ολοκληρώθηκε η φυγοκέντριση, απορρίφθηκε το αραιωτικό υγρό από όλους τους σωλήνες και παρέμειναν οι προβιοτικές καλλιέργειες στον πυθμένα των σωλήνων ως ίζημα , έτοιμες για να ενσωματωθούν στις δύο φιάλες των τελικών μειγμάτων με τους δύο διαφορετικούς τύπους του παράγοντα εγκλεισμού. Από τους 18 σωλήνες με τις προβιοτικές καλλιέργειες οι μισές επρόκειτο να ενσωματωθούν στη μία φιάλη με το τελικό μείγμα και την μαλτοδεξτρίνη 12 DE, ενώ οι υπόλοιπες επρόκειτο να ενσωματωθούν στη δεύτερη φιάλη με το τελικό μείγμα και την μαλτοδεξτρίνη 21 DE. Η διαδικασία ενσωμάτωσης ήταν η εξής και επαναλήφθηκε με τον ίδιο τρόπο για την ενσωμάτωση των προβιοτικών καλλιεργειών σε κάθε φιάλη και σε κάθε πειραματικό κύκλο: Αρχικά, προσδιορίστηκε το απόβαρο ενός σωλήνα falcon σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας. Στη συνέχεια, προσδιορίστηκε στον ζυγό το βάρος καθενός από τους 9 σωλήνες falcon που επρόκειτο να ενσωματωθούν στη φιάλη με το τελικό μείγμα. Γνωρίζοντας το απόβαρο του σωλήνα, υπολογίστηκε το καθαρό βάρος των προβιοτικών καλλιεργειών που εμπεριέχονταν εντός των σωλήνων και που επρόκειτο να μεταφερθούν εντός του τελικού μείγματος. Έπειτα, για να διευκολυνθεί η μεταφορά των προβιοτικών καλλιεργειών από κάθε σωλήνα στο εσωτερικό της φιάλης, λήφθηκε με μικροπιπέτα ποσότητα 1 ml από το τελικό μείγμα και με τη βοήθεια του vortex επαναδιαλυτοποιήθηκε εντός αυτού το ίζημα των προβιοτικών καλλιεργειών που βρισκόταν εντός του σωλήνα falcon. Η φιάλη που επρόκειτο υποδεχτεί το νέο αυτό διάλυμα βρισκόταν πάνω στη θερμαντική πλάκα σε ήπια θέρμανση και σε ανάδευση λόγω της παρουσίας του μαγνητικού αναδευτήρα. Ακολούθησε η έγχυση του διαλύματος προβιοτικών-τελικού μείγματος εντός της φιάλης και επαναλήφθηκε η ίδια διαδικασία και για τους υπόλοιπους 8 σωλήνες falcon.

Παρατηρήσεις

1) Ιδιαίτερη έμφαση πρέπει να δοθεί στο γεγονός πως η μεταφορά των προβιοτικών καλλιεργειών από τους σωλήνες falcon εντός της φιάλης με το τελικό μείγμα δεν ήταν ποσοτική καθώς ποσότητα αυτών παρέμεινε εντός των σωλήνων ακόμα και όταν πραγματοποιήθηκαν εκπλύσεις αυτών με το τελικό μείγμα. Επομένως, καθίσταται δύσκολος ο ακριβής προσδιορισμός της ποσότητας των προβιοτικών καλλιεργειών που προστέθηκαν στο τελικό μείγμα. Αυτή η ποσότητα προσδιοριζόταν

ζυγίζοντας την φιάλη με το τελικό μείγμα πριν και μετά από την προσθήκη των προβιοτικών καλλιεργειών.

2) Οι προβιοτικές καλλιέργειες παρά την επαναδιαλυτοποίηση τους με το τελικό μείγμα παρουσίαζαν την τάση να καθιζάνουν εντός της φιάλης. Για τον λόγο αυτό συνίσταται διαρκής και αδιάκοπη μηχανική ανάδευση του περιεχομένου της φιάλης κατά την προσθήκη των προβιοτικών καλλιεργειών καθώς και κατά την διάρκεια οποιουδήποτε άλλου πειραματικού χειρισμού.

### 1.6 Ξήρανση με ψεκασμό των τελικών μειγμάτων με τις προβιοτικές καλλιέργειες

Όργανα

Αποστειρωμένο γυάλινο σιφώνιο 50 ml

Πουάρ

Αποστειρωμένες κωνικές φιάλες των 250 ml

Αποστειρωμένα φιαλίδια με βιδωτό πώμα

Ξηραντήρας ψεκασμού εργαστηριακής κλίμακας (Mini Spray Dryer (by BUCHI,Switzerland))

Χρονόμετρο

Αποστειρωμένο γυάλινο χωνί

Εργαστηριακής κλίμακας ξηραντήρας ψεκασμού

Εργαστηριακά διατίθεται ο ξηραντήρας ψεκασμού Mini Spray Dryer (by BUCHI,Switzerland), ο οποίος διαθέτει εκνεφωτή δύο ρευστών(πνευματικός εκνεφωτής) και επιπλέον μπορεί να χρησιμοποιήσει και εκνεφωτή υπερήχων. Για τον διαχωρισμό των σωματιδίων χρησιμοποιεί κυκλώνες. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά αυτού του συστήματος είναι (Wisniewski, 2015):

1.Μέγιστη εξάτμιση του νερού [ml/h] : 1.000

2.Διαστάσεις (Πλάτος x Βάθος x Ύψος ) (mm) : 650x700x1.100

3.Μέγιστη θερμοκρασία εισόδου (°C) : 220

4. Μέγιστη ογκομετρική παροχή αέρα ($m^3$/min) : 0,58

5. Μέγιστη ογκομετρική παροχή υγρής τροφοδοσίας (mL/min) : -

6.Βάρος (kg) : 46

7. Ισχύς (kW) : 2,9

8.Ισχύς αντιστάσεως θέρμανσης του αέρα (kW) : 2,3

Πειραματική πορεία

Αφού ολοκληρώθηκε η ενσωμάτωση των προβιοτικών καλλιεργειών στις δύο φιάλες με τα δύο διαφορετικά είδη μαλτοδεξτρίνης ελήφθησαν και από τις δύο φιάλες δείγματα με την βοήθεια αποστειρωμένων ογκομετρικών σιφωνίων με πουάρ και μεταφέρθηκαν εντός αποστειρωμένων ογκομετρικών φιαλών με βιδωτά πώματα, όπου και διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία ψυγείου για μικροβιολογικές και χημικές αναλύσεις. Στην συνέχεια, έλαβε χώρα η διαδικασία της ξήρανσης με ψεκασμό των δύο διαφορετικών δειγμάτων. Αρχικά, ο ξηραντήρας λειτουργούσε με κυκλοφορία

ζεστού νερού η οποία και διακόπηκε μετά από λίγα λεπτά προκειμένου να διασφαλιστούν οι απαιτούμενες στείρες συνθήκες. Έπειτα και αφού έχουν ρυθμιστεί κατάλληλα όλες οι παράμετροι λειτουργίας της συσκευής, τοποθετήθηκε στην τροφοδοσία η πρώτη ογκομετρική φιάλη και έτσι ξεκίνησε η διαδικασία της ξήρανσης. Διαμέσου του κυκλώνα και εντός λίγων λεπτών της ώρας ελήφθη στο εσωτερικό μίας αποστειρωμένης κωνικής φιάλης η πρώτη σκόνη. Με το πέρας της διαδικασίας όλη η σκόνη μεταφέρθηκε από την κωνική με τη βοήθεια γυάλινου αποστειρωμένου χωνιού εντός κατάλληλα σημασμένων ογκομετρικών μικρών φιαλιδίων με πώμα και διατηρήθηκαν εκεί σφραγισμένες για μικροβιολογικές και χημικές αναλύσεις. Η διεργασία αυτή επαναλήφθηκε και για την δεύτερη φιάλη και για ακόμα δύο φορές στις επόμενες πειραματικές σειρές ,όπως περιγράφτηκε. Οι παράμετροι λειτουργίας της συσκευής παραμένουν σταθερές σε όλες τις πειραματικές σειρές και καθ'όλη την διάρκεια της ξήρανσης και είναι οι εξής :

1. Θερμοκρασία εισόδου: 120◦C
2. Θερμοκρασία εξόδου : 65◦C
3. Aspirator: 100 %
4. Pump : 20%
5. Nozzle: 2

Εικόνα 5: Ξηραντήρας ψεκασμού σε λειτουργία

## Κεφάλαιο 2

### 2.1 Καταμέτρηση προβιοτικών μικροοργανισμών πριν από την ξήρανση

Υλικά

MRS agar(de Man, Rogosa, Sharpe)

Ισότονο αραιωτικό υγρό

Όργανα

Αποστειρωτήρας

Αυτόματη πιπέτα 1000 μL

Τριβλία Petri

Επωαστικός κλίβανος

Θάλαμος αναεροβίωσης

Φάκελος αναεροβίωσης

Κυκλοαναδευτήρας vortex

Αναλυτικός ζυγός ακριβείας

Γκαζάκι

Πειραματική πορεία

Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος

Αρχικά, παρασκευάστηκε το θρεπτικό υπόστρωμα που επρόκειτο να χρησιμοποιηθεί για τη καλλιέργεια των προβιοτικών μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, διαλύθηκαν από το εμπορικό σκεύασμα του θρεπτικού υποστρώματος σε σκόνη 64 g σε 1 λίτρο απιονισμένο νερό εντός μίας κατσαρόλας. Στη συνέχεια, αναδεύτηκε το διάλυμα περαιτέρω με γυάλινη ράβδο αναδεύσεως πάνω από την φλόγα έως ότου να διαυγαστεί πλήρως εντός λίγων λεπτών από την έναρξη του βρασμού. Όταν ολοκληρώθηκε η διαύγαση, το διάλυμα αφέθηκε να κρυώσει ελαφρώς και στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε ογκομετρικές φιάλες με βιδωτά πώματα των 500 ml, οι οποίες ακολούθως μεταφέρθηκαν στον αποστειρωτήρα για να αποστειρωθούν. Μετά την ολοκλήρωση της αποστείρωσης τοποθετήθηκαν στο ψυγείο εφόσον δεν επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν άμεσα για πειραματικούς σκοπούς.

Καλλιέργεια προβιοτικών από τα δείγματα πριν από την ξήρανση

Όπως έγινε γνωστό πριν από την ξήρανση των δύο διαφορετικών δειγμάτων με τις ενσωματωμένες προβιοτικές καλλιέργειες ποσότητα αυτών παρελήφθη για περαιτέρω αναλύσεις. Μία από τις αναλύσεις που παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το προϊόν είναι η καταμέτρηση των προβιοτικών καλλιεργειών τόσο πριν όσο και μετά την ξήρανση . Για την καταμέτρηση του αριθμού των προβιοτικών καλλιεργειών στα δείγματα πριν από την ξήρανση η πορεία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: Αρχικά, το επιθυμητό κάθε φορά δείγμα απομακρύνθηκε από το ψυγείο και

διατηρήθηκε σε διαρκή ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα πάνω σε θερμαντική πλάκα

προς αποφυγή σχηματισμού ιζήματος από τις καλλιέργειες. Είναι σημαντικό η κατανομή αυτών να είναι ομοιόμορφη σε όλη τη μάζα του δείγματος προς αποφυγή σφαλμάτων κατά τις μετρήσεις. Με ηλεκτρονική πιπέτα των 1000μL ελήφθη 1ml από το δείγμα και μεταφέρθηκε σε γυάλινο φιαλίδιο το οποίο περιείχε 9 ml ισότονο αραιωτικό υγρό. Το φιαλίδιο αυτό αποτελούσε την πρώτη δεκαδική αραίωση και στη συνέχεια ανακινήθηκε καλά με την βοήθεια του κυκλοαναδευτήρα vortex. Από το φιαλίδιο αυτό ελήφθη εκ νέου 1 ml και μεταφέρθηκε σε δεύτερο φιαλίδιο που περιείχε 9 ml ισότονο αραιωτικό υγρό, ακολούθησε ανάδευση σε vortex και η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για ακόμα 5 φορές, ώστε εν τέλει να έχουν προκύψει 7 δεκαδικές αραιώσεις του αρχικού δείγματος. Για κάθε αραίωση χρησιμοποιήθηκαν δύο τριβλία. Έτσι, από την πρώτη αραίωση ελήφθη 1 ml, έπειτα από ανάδευση, με την πιπέτα και τοποθετήθηκε στο κέντρο του κατάλληλα σημασμένου τριβλίου και η ίδια διαδικασία έγινε και δεύτερη φορά για το δεύτερο τριβλίο που αφορούσε στην ίδια αραίωση. Ελήφθη μέριμνα ώστε οι συνθήκες διενέργειας της ενσωμάτωσης να είναι άσηπτες και το κάθε τριβλίο να σφραγίζεται σύντομα μετά την οποιαδήποτε πειραματική παρέμβαση. Η πορεία αυτή ακολουθήθηκε και για τις υπόλοιπες αραιώσεις. Αφού προετοιμάστηκαν  όλα τα τριβλία και το στερεό θρεπτικό υπόστρωμα είχε ρευστοποιηθεί, εφόσον βρίσκονταν στην κατάλληλη θερμοκρασία, η οποία ορίζεται σαν την μέγιστα ανεκτή έπειτα από επαφή της φιάλης με γυμνό χέρι , περιχύθηκε εντός όλων των τριβλίων τα οποία έπειτα ανακινούνταν  κυκλικά μετά το σφράγισμα για να εξασφαλιστεί η ομοιόμορφη κατανομή του δείγματος εντός αυτών. Τα τριβλία αφέθηκαν να ψυχθούν ώστε να στερεοποιηθεί το θρεπτικό υλικό και τέλος τοποθετήθηκαν μαζί με φάκελο αναεροβίωσης σε θάλαμο αναεροβίωσης και στη συνέχεια σε επωαστικό κλίβανο στους 37◦C για 3 ημέρες. Η ίδια πορεία επαναλήφθηκε για το δεύτερο δείγμα καθώς και για τις επόμενες δύο πειραματικές σειρές.

Εικόνα 7: Καταμέτρηση προβιοτικών μικροοργανισμών στην υγρή τροφοδοσία

## 2.2 Καταμέτρηση προβιοτικών μικροοργανισμών μετά την ξήρανση

Υλικά

MRS agar

Ισότονο αραιωτικό υγρό

Όργανα

Αποστειρωτήρας

Αυτόματη πιπέτα 1000 μL

Τριβλία Petri

Επωαστικός κλίβανος

Θάλαμος αναεροβίωσης

Φάκελος αναεροβίωσης

Κυκλοαναδευτήρας vortex

Αναλυτικός ζυγός ακριβείας

Γκαζάκι

Πειραματική πορεία

Αρχικά, παρασκευάστηκε το στερεό θρεπτικό υπόστρωμα σύμφωνα με τις ανωτέρω οδηγίες. Αφού έγιναν διαθέσιμες οι σκόνες μετά την ξήρανση με βάση την πειραματική πορεία που περιγράφτηκε αναλυτικά παραπάνω, με την μέθοδο της ενσωμάτωσης εμβολιάστηκαν τα τριβλία με τα δείγματα της σκόνης και επωάστηκαν στη κατάλληλη θερμοκρασία. Το μοναδικό σημείο στο οποίο απαιτήθηκε να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή ήταν η αρχική διαλυτοποίηση του δείγματος της σκόνης εντός του φιαλιδίου με το ισότονο αραιωτικό υγρό που θα αποτελούσε και την πρώτη αραίωση. Η διαλυτοποίηση έπρεπε να είναι πλήρης ώστε οι μικροοργανισμοί να κατανεμηθούν ομοιόμορφα εντός του φιαλιδίου. Η ποσότητα της σκόνης που διαλυτοποιήθηκε ήταν 1g.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Μετά την ολοκλήρωση του χρονικού διαστήματος της επώασης καταμετρήθηκαν οι αποικίες στα τριβλία τόσο πριν όσο και μετά την ξήρανση και συντελέστηκαν οι κατάλληλοι υπολογισμοί προκειμένου να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με την βιωσιμότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών μετά από την ξήρανση με ψεκασμό, η οποία εφαρμόστηκε στα μείγματα προς παραγωγή σκόνης. Η βιωσιμότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών εκφράστηκε σε ποσοστό επί τοις εκατό .

## Κεφάλαιο 3

## 3. Αποτελέσματα-Συζήτηση

### 3.1. Προσδιορισμός επί τοις εκατό ξηρών στερεών αρχικού μείγματος

Με βάση τους υπολογισμούς, η εκατοστιαία περιεκτικότητα του αρχικού μείγματος σε ξηρά στερεά ήταν 0,6878 .

Πίνακας 1: Υπολογισμός % ξηρών στερεών αρχικού μείγματος

| Φιάλες | Μικτό βάρος φιαλών πριν την λυοφιλίωση (φιάλη+αρχικό μείγμα) (g) | Μικτό βάρος φιαλών μετά την λυοφιλίωση (φιάλη+αρχικό μείγμα) (g) | Απόβαρο φιαλών (g) | Βάρος αρχικού μείγματος (g) | Βάρος Σκόνης (g) | Ξηρά στερεά% | Μέσος Όρος %ξηρά στερεά |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Φιάλη 1 | 340,4 | 236,0 | 235,3 | 105,1 | 0,7 | 0,6666 | 0,6878 |
| Φιάλη 2 | 586,9 | 377,1 | 375,6 | 211,3 | 1,5 | 0,7099 | |

### 3.2 Προδιορισμός επί τοις εκατό υγρασίας μαλτοδεξτρίνης 12,21 DE

Με βάση τους υπολογισμούς η εκατοστιαία περιεκτικότητα σε υγρασία του τύπου 12 DE μαλτοδεξτρίνη ήταν 2,750%, ενώ η εκατοστιαία περιεκτικότητα σε υγρασία του τύπου 21 DE μαλτοδεξτρίνη ήταν 3,180%.

Πίνακας 2: Υπολογισμοί % υγρασίας 12,21 DE μαλτοδεξτρίνης

| | Απόβαρο δοχείου (g) | Βάρος δοχείου πριν την ξήρανση(g) | | | Βάρος δοχείου μετά από την ξήρανση (g) | | | Υγρασία % (g) | | | Μ.Ο % $H_2O$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 | Δείγμα 3 | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 | Δείγμα 3 | Δείγμα 1 | Δείγμα 2 | Δείγμα 3 | Δείγματα 1,2,3 |
| 12 DE | 2,166 | 4,292 | 4,156 | 3,640 | 4,160 | 4,046 | 3,548 | 3,075 | 2,647 | 2,523 | 2,750 |
| 21 DE | 2,166 | 5,328 | 5,081 | 4,574 | 5,146 | 4,921 | 4,438 | 3,416 | 3,149 | 2,973 | 3,180 |

Με βάση τους παραπάνω υπολογισμούς και το βάρος του διαθέσιμου κάθε φορά αρχικού μείγματος, κατέστη εφικτός ο υπολογισμός της ποσότητας της μαλτοδεξτρίνης που έπρεπε να προστεθεί κάθε φορά, έτσι ώστε η αναλογία ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης προς ξηρά στερεά αρχικού μείγματος να είναι ίση με 5/1. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η συνολική πειραματική διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές. Την πρώτη φορά εκτέλεσης του πειράματος ο υπολογισμός της ποσότητας της μαλτοδεξτρίνης που έπρεπε να προστεθεί έγινε βασιζόμενος σε θεωρητικές τιμές της υγρασίας της μαλτοδεξτρίνης, των ξηρών στερεών και της πυκνότητας του αρχικού μείγματος και ως εκ τούτου η πρακτική αναλογία εμφάνισε θετική απόκλιση στην πρώτη πειραματική σειρά.

Πίνακας 3: Υπολογισμός ποσότητας προστιθέμενης μαλτοδεξτρίνης

| Δείγματα | Βάρος αρχικού μείγματος(g) | Ξηρά στερεά αρχικού Μείγματος(g) | Βάρος μαλτοδεξτρίνης (g) | Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης(g) | Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος/ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης |
|---|---|---|---|---|---|
| 12DE1 | 792,1 | 5,45 | 44,4 | 43,18 | 7,93 |
| 21DE1 | 756,8 | 5,21 | 44,4 | 42,99 | 8,26 |
| 12 DE2 | 724,2 | 4,98 | 26,55 | 25,82 | 5,18 |
| 21DE2 | 725,4 | 4,99 | 26,72 | 25,87 | 5,18 |
| 12DE3 | 406,9 | 2,80 | 14,90 | 14,48 | 5,18 |
| 21DE3 | 390,9 | 2,69 | 14,39 | 13,93 | 5,18 |

## 3.3 Επιβίωση προβιοτικών μικροοργανισμών

Όπως περιγράφτηκε παραπάνω, για την καταμέτρηση των προβιοτικών μικροοργανισμών διενεργήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις τόσο στο τελικό μείγμα πριν από την ξήρανση όσο και στην σκόνη που παράχθηκε. Τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων επεξεργάστηκαν καταλλήλως ώστε να καταστεί εφικτός ο υπολογισμός της επί τοις εκατό επιβίωσης των προβιοτικών μικροοργανισμών και στα δύο διαφορετικά δείγματα σε κάθε πειραματική σειρά. Παρακάτω παρατίθενται τα βασικά πειραματικά δεδομένα και υπολογισμοί που οδήγησαν στην εξαγωγή των αριθμητικών αποτελεσμάτων σε κάθε δείγμα σε κάθε πειραματική σειρά.

Πίνακας 4: Βασικά πειραματικά δεδομένα

| | |
|---|---|
| Υγρασία μαλτοδεξτρίνης 12 DE (%) | 2,750 |
| Υγρασία μαλτοδεξτρίνης 21 DE (%) | 3,179 |
| Υγρασία σκόνης (12DE) | 1,989 |
| Υγρασία σκόνης (21DE) | 1,858 |
| Υγρασία βιομάζας (%) | 94,404 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (%) | 0,688 |

Οι παρακάτω τύποι υπολογισμών εφαρμόστηκαν με βάση τα ανωτέρω πειραματικά δεδομένα στα δείγματα κάθε πειραματικής σειράς :

Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος=
[Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος(%)*(Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά(g)-Μαλτοδεξτρίνη(g))]/100

Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g)= [(100-Υγρασία Μαλτοδεξτρίνης(%))*Μαλτοδεξτρίνη (g)]/100

Ξηρά στερεά βιομάζας(g)=[(100-Υγρασία βιομάζας(%))*Βιομάζα(g)/100]

Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας(g)= Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης(g) +Ξηρά στερεά βιομάζας(g) + Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g)

Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml)=Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g υγρής τροφοδοσίας) (Θεωρείται προσεγγιστικά ότι η πυκνότητα της υγρής τροφοδοσίας είναι ίση με 1)

Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας)= Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία(cfu/g υγρής τροφοδοσίας)*[Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) + Βιομάζα (g)]/Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας(g)

Προβιοτικά στη σκόνη(cfu/g ξηρών στερεών σκόνης)=Προβιοτικά στη σκόνη (cfu/g σκόνης)* [(100-Υγρασία σκόνης (%))/100]

Επιβίωση (%)=Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία(cfu/g ξηρών στερεών σκόνης)/Προβιοτικά στη σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας)

Λογαριθμική επιβίωση(%)=LogΠροβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία(cfu/g ξηρών στερεών σκόνης)/LogΠροβιοτικά στη σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας)

1η πειραματική σειρά

Πίνακας 5: Αποτελέσματα 12DE πρώτη πειραματική σειρά

| 12DE | |
|---|---|
| Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) | 836,5 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g) | 5,448 |
| Μαλτοδεξτρίνη (g) | 44,4 |
| Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g) | 43,179 |
| Βιομάζα (g) | 5,3 |
| Ξηρά στερεά βιομάζας (g) | 0,297 |
| Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας (g) | 48,924 |
| Στερεά υγρής τροφοδοσίας (%) | 5,812 |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml υγρής τροφοδοσίας) | $2,69*10^5$ |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας) | $4,63*10^6$ |
| Προβιοτικά στην σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών σκόνης) | $8,77*10^4$ |
| Επιβίωση (%) | 1,90 |
| Λογαριθμική επιβίωση(%) | 74,162 |

Πίνακας 6: Αποτελέσματα 21 DE πρώτη πειραματική σειρά

| 21DE | |
|---|---|
| Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) | 801,2 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g) | 5,205 |
| Μαλτοδεξτρίνη (g) | 44,4 |
| Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g) | 42,988 |
| Βιομάζα (g) | 3,6 |

| | |
|---|---|
| Ξηρά στερεά βιομάζας (g) | 0,201 |
| Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας (g) | 48,395 |
| Στερεά υγρής τροφοδοσίας (%) | 6,013 |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml υγρής τροφοδοσίας) | $3,40*10^4$ |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας) | $5,65*10^5$ |
| Προβιοτικά στην σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών σκόνης) | $2,45*10^3$ |
| Επιβίωση (%) | 0,43 |
| Λογαριθμική επιβίωση(%) | 58,904 |

$2^η$ πειραματική σειρά

Πίνακας 7: Αποτελέσματα 12DE δεύτερη πειραματική σειρά

| 12DE | |
|---|---|
| Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) | 750,8 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g) | 4,981 |
| Μαλτοδεξτρίνη (g) | 26,551 |
| Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g) | 25,821 |
| Βιομάζα (g) | 8,5 |
| Ξηρά στερεά βιομάζας (g) | 0,476 |
| Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας (g) | 31,278 |
| Στερεά υγρής τροφοδοσίας (%) | 4,120 |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml υγρής τροφοδοσίας) | $8,55*10^7$ |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας) | $2,08*10^9$ |
| Προβιοτικά στην σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών σκόνης) | $2,20*10^6$ |
| Επιβίωση (%) | 0,11 |
| Λογαριθμική επιβίωση(%) | 68,074 |

Πίνακας 8: Αποτελέσματα 21DE δεύτερη πειραματική σειρά

| 21DE | |
|---|---|
| Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) | 752,1 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g) | 4,989 |
| Μαλτοδεξτρίνη (g) | 26,715 |
| Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g) | 25,866 |
| Βιομάζα (g) | 9,0 |
| Ξηρά στερεά βιομάζας (g) | 0,504 |

| | |
|---|---|
| Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας (g) | 31,359 |
| Στερεά υγρής τροφοδοσίας (%) | 4,120 |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml υγρής τροφοδοσίας) | $1,29*10^8$ |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας) | $3,12*10^9$ |
| Προβιοτικά στην σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών σκόνης) | $5,38*10^6$ |
| Επιβίωση (%) | 0,17 |
| Λογαριθμική επιβίωση(%) | 70,898 |

3η πειραματική σειρά

Πίνακας 9: Αποτελέσματα 12DE τρίτη πειραματική σειρά

| 12DE | |
|---|---|
| Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) | 421,15 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g) | 2,794 |
| Μαλτοδεξτρίνη (g) | 14,893 |
| Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g) | 14,484 |
| Βιομάζα (g) | 4,93 |
| Ξηρά στερεά βιομάζας (g) | 0,276 |
| Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας (g) | 17,554 |
| Στερεά υγρής τροφοδοσίας (%) | 4,120 |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml υγρής τροφοδοσίας) | $3,13*10^7$ |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας) | $7,60*10^8$ |
| Προβιοτικά στην σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών σκόνης) | $2,14*10^7$ |
| Επιβίωση (%) | 2,82 |
| Λογαριθμική επιβίωση(%) | 82,546 |

Πίνακας 10: Αποτελέσματα 21DE τρίτη πειραματική σειρά

| 21DE | |
|---|---|
| Τελικό μείγμα χωρίς προβιοτικά (g) | 405,11 |
| Ξηρά στερεά αρχικού μείγματος (g) | 2,687 |
| Μαλτοδεξτρίνη (g) | 14,390 |
| Ξηρά στερεά μαλτοδεξτρίνης (g) | 13,932 |
| Βιομάζα (g) | 5,37 |
| Ξηρά στερεά βιομάζας (g) | 0,300 |
| Ξηρά στερεά υγρής τροφοδοσίας (g) | 16,920 |
| Στερεά υγρής τροφοδοσίας (%) | 4,122 |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/ml υγρής τροφοδοσίας) | $2,26*10^7$ |
| Προβιοτικά στην υγρή τροφοδοσία (cfu/g ξηρών στερεών υγρής τροφοδοσίας) | $5,48*10^8$ |

| | |
|---|---|
| Προβιοτικά στην σκόνη (cfu/g ξηρών στερεών σκόνης) | $1,71*10^7$ |
| Επιβίωση (%) | 3,13 |
| Λογαριθμική επιβίωση(%) | 82,779 |

Πίνακας 11: Σύνοψη αποτελεσμάτων 12DE δειγμάτων

| | N0 | N | Επιβίωση(%) | Λογαριθμική Επιβίωση (%) | Μείωση λογαρίθμων |
|---|---|---|---|---|---|
| 12 DE1 | 4,63E+06 | 8,77E+04 | 1,90 | 74,16 | 1,72 |
| 12 DE2 | 2,08E+09 | 2,20E+06 | 0,11 | 68,07 | 2,97 |
| 12 DE3 | 7,60E+08 | 2,14E+07 | 2,82 | 82,55 | 1,55 |

Πίνακας 12: Σύνοψη αποτελεσμάτων 21DE δειγμάτων

| | N0 | N | Επιβίωση(%) | Λογαριθμική επιβίωση (%) | Μείωση λογαρίθμων |
|---|---|---|---|---|---|
| 21 DE1 | 5,65E+05 | 2,45E+03 | 0,43 | 58,90 | 2,34 |
| 21 DE2 | 3,12E+09 | 5,38E+06 | 0,17 | 70,90 | 2,76 |
| 21 DE3 | 5,48E+08 | 1,71E+07 | 3,13 | 82,78 | 1,50 |

Για την ερμηνεία των παραπάνω αποτελεσμάτων χρησιμοποιείται το στατιστικό πρόγραμμα ανάλυσης SPSS.Οι στατιστικές αναλύσεις που θα πραγματοποιηθούν απαιτούν την κανονικότητα των τιμών των δειγμάτων που πρόκειται να αναλυθούν. Οι βασικότεροι έλεγχοι για την κανονικότητα είναι τα κριτήρια Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk. Εφόσον το Sig. έχει τιμή μεγαλύτερη του 0,05 και συγκεκριμένα τιμή 0,267 με βάση το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov και 0,145 με βάση το κριτήριο Shapiro-Wilk θεωρείται ότι ισχύει η κανονική κατανομή για τις τιμές των δειγμάτων.

Πίνακας 13 : Αποτελέσματα ελέγχου κανονικότητας

**Tests of Normality**

| | Kolmogorov-Smirnov[a] | | | Shapiro-Wilk | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| survival | ,267 | 6 | ,200* | ,846 | 6 | ,145 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

1ος έλεγχος

Αρχικά, επιδιώκεται να προσδιοριστεί εάν η πειραματική σειρά ή ο τύπος του δείγματος επιδρούν στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών. Για τον σκοπό αυτό θα εφαρμοστεί διπαραγοντική ανάλυση διασποράς (two-way ANOVA).Η ανάλυση διασποράς (Analysis of Variance-ANOVA) είναι γνωστό πως για να εφαρμοστεί προϋποθέτει τόσο οι τιμές των δειγμάτων να ακολουθούν κανονική κατανομή, όσο και να μην υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις

διασπορές των δειγμάτων. Απαιτείται δηλαδή η ύπαρξη ομοιογένειας της διασποράς , η οποία στατιστικά ελέγχεται με το κριτήριο Levene. Με βάση τον παρακάτω πίνακα, η τιμή p είναι μικρότερη του 0,05 , άρα η μηδενική υπόθεση απορρίπτεται και υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις διασπορές των δειγμάτων. Επομένως, εφόσον δεν υπάρχει ομοιογένεια στην διασπορά εφαρμόζεται μη παραμετρική διπαραγοντική ανάλυση διασποράς (two-way ANOVA).

Πίνακας 14: Αποτελέσματα ελέγχου ομοιογένειας της διασποράς

**Tests of Homogeneity of Variances**

| | | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| survival | Based on Mean | 6,883E+30 | 2 | 3 | ,000 |
| | Based on Median | 6,883E+30 | 2 | 3 | ,000 |
| | Based on Median and with adjusted df | 6,883E+30 | 2 | 1,473 | ,000 |
| | Based on trimmed mean | 6,840E+30 | 2 | 3 | ,000 |

Ho=Μηδενική υπόθεση=Ο τύπος του δείγματος(12,21DE) δεν επιδρά στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών

Ho=Μηδενική υπόθεση=Η πειραματική σειρά (πρώτη, δεύτερη, τρίτη) δεν επιδρά στατιστικώς σημαντικά στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών

Πίνακας 15: Αποτελέσματα μη παραμετρικής διπαραγοντικής ανάλυσης διασποράς(πειραματική σειρά)

**Test Statistics[a]**

| | |
|---|---|
| N | 6 |
| Chi-Square | 1,091 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | ,580 |

a. Friedman Test

Σχετικά με την πειραματική σειρά , η τιμή p (p-value)=0,580 είναι μεγαλύτερη του επιπέδου σημαντικότητας που είναι 0,05 ή 5 %.Άρα η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται και θεωρείται πως ο παράγοντας πειραματική σειρά δεν επιδρά στατιστικώς σημαντικά στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών.

Πίνακας 16: Αποτελέσματα μη παραμετρικής διπαραγοντικής ανάλυσης διασποράς(τύπος του δείγματος)

**Test Statistics[a]**

| | |
|---|---|
| N | 3 |
| Chi-Square | ,333 |
| df | 1 |
| Asymp. Sig. | ,564 |

a. Friedman Test

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, αναφορικά με τον τύπο του δείγματος η τιμή p (p-value)=0,564 είναι μεγαλύτερη του επίπεδου σημαντικότητας που είναι 0,05 ή 5 %. Επομένως, η μηδενική υπόθεση σχετικά με τον τύπο του δείγματος δεν απορρίπτεται και θεωρείται πως ο τύπος του δείγματος δεν επιδρά στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών.

2ος έλεγχος

Μία επιπλέον πληροφορία που παρουσιάζει ενδιαφέρον είναι αν η επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών διαφέρει ανάμεσα στα δύο διαφορετικά δείγματα (12,21 DE).Για τον σκοπό αυτό εφαρμόζεται το t-test(independent samples).

Ho=Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των δύο δειγμάτων(12DE,21DE)

Πίνακας 17:Αποτελέσματα ελέγχου t-test(independent samples)

**Independent Samples Test**

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Significance | | | | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | F | Sig. | t | df | One-Sided p | Two-Sided p | Mean Difference | Std. Error Difference | Lower | Upper |
| survival | Equal variances assumed | ,280 | ,625 | ,297 | 4 | ,391 | ,782 | ,36667 | 1,23634 | -3,06597 | 3,79931 |
| | Equal variances not assumed | | | ,297 | 3,885 | ,391 | ,782 | ,36667 | 1,23634 | -3,10626 | 3,83959 |

Παρατηρείται ότι ο στατιστικός έλεγχος διασπορών με το κριτήριο Levene δίνει την τιμή p=0,625 που είναι μεγαλύτερη από την τιμή a=0,05 που δείχνει ότι η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται και επομένως δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των δύο διαφορετικών δειγμάτων (12,21DE).

3ος έλεγχος

Τέλος, ελέγχεται αν η επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών διαφέρει ανάμεσα στις 3 πειραματικές σειρές. Για τον σκοπό αυτό εφαρμόζεται μη παραμετρική μονοπαραγοντική ανάλυση διασποράς (κριτήριο Kruskal-Wallis).

Ho=Μηδενική υπόθεση=Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των τριών πειραματικών σειρών

Πίνακας 18: Αποτελέσματα μη παραμετρικής μονοπαραγοντικής ανάλυσης διασποράς (κριτήριο Kruskal-Wallis)

**Test Statistics[a,b]**

| | survival |
|---|---|
| Kruskal-Wallis H | 4,571 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | ,102 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: experiment

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, η τιμή p, η οποία είναι ίση με 0,102 είναι μεγαλύτερη του 0,05 και επομένως η μηδενική υπόθεση δεν απορρίπτεται. Συνεπώς, σε επίπεδο σημαντικότητας 5 % δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών από τις τρεις πειραματικές σειρές.

Η επιβίωση και η βιωσιμότητα των προβιοτικών μπορούν να επηρεαστούν από την έκθεση σε διαφορετικές καταστάσεις στρες, όπως η επεξεργασία για να ενσωματωθούν στην μήτρα του τροφίμου, η αποθήκευση και η μεταφορά διαμέσου του γαστρεντερικού περάσματος, η θερμοκρασία (ψυχρή και θερμή), τα οξέα, το οξειδωτικό στρες και η χολή (Terpou et al., 2019). Από την άλλη μεριά, τα προβιοτικά ανταποκρίνονται στα διάφορα είδη στρες χρησιμοποιώντας ποικίλους μηχανισμούς δράσης (Fiocco et al., 2019) .Γενικώς, τα γαλακτοκομικά προϊόντα θεωρούνται οι κυρίαρχοι φορείς για την μεταφορά των προβιοτικών στον άνθρωπο, καθώς τα γαλακτοκομικά τρόφιμα παρέχουν τις ιδανικές συνθήκες για την βιωσιμότητα των προβιοτικών χάρη στην υψηλή ρυθμιστική τους ικανότητα και επιπλέον τα συστατικά του γάλακτος(μικέλλες καζεϊνών, λιποσφαιρίδια, λακτόζη) παρέχουν φυσική προστασία στα προβιοτικά κατά τη διάρκεια του περάσματος τους από τον γαστρεντερικό σωλήνα (Ranadheera et al., 2019). Σε γενικές γραμμές θεωρείται δύσκολη η διατήρηση της προβιοτικής βιωσιμότητας σε μη γαλακτοκομικές μήτρες, καθώς τα περισσότερα προβιοτικά απομονώνονται από γαλακτοκομικές πηγές και επομένως αυτά τα στελέχη δεν βρίσκουν ευνοϊκές συνθήκες για να διατηρήσουν την βιωσιμότητα τους. Σε αυτό το πλαίσιο ,οι φυτικές μήτρες έχουν μικρότερη διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, δυσμενές PH, αντιθρεπτικούς παράγοντες και έλλειψη ρυθμιστικής ικανότητας (Rasika et al., 2021).Ωστόσο παρά τις δυσμενείς συνθήκες, πολλές φυτικές μήτρες μπορούν να διατηρήσουν την βιωσιμότητα των προβιοτικών. Επιπλέον, η παροχή στα ζωντανά κύτταρα ενός φυσικού φραγμού έναντι στις αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες αποτελεί μία πρόσφατη προσέγγιση που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον (Solanki et al., 2013). Οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν υψηλότερη βιωσιμότητα σε ενθυλακωμένα προβιοτικά από ότι σε ελεύθερα κύτταρα μετά την ενσωμάτωση αυτών σε μη γαλακτοκομικής βάσης ροφήματα και την έκθεση τους σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες. Επίσης, τα ενθυλακωμένα προβιοτικά παρουσιάζουν υψηλότερη βιωσιμότητα μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα αποθηκεύσεως και αποτρέπουν την ζύμωση των ελεύθερων κυττάρων σε μη γαλακτοκομικής βάσης ροφήματα. Χαμηλή θερμοκρασία συντήρησης των μη γαλακτοκομικής βάσης ροφημάτων αποτρέπει την ζύμωση και ευνοεί την διατήρηση της υψηλής βιωσιμότητας των ενθυλακωμένων προβιοτικών στο τέλος της αποθηκεύσεως. Συνολικά, μετά την διενέργεια της ξήρανσης με ψεκασμό παρατηρείται καταστροφή των προβιοτικών μικροοργανισμών που κυμαίνεται από 1,5 έως και 2,9 λογαρίθμους. Σε αντίστοιχη έρευνα, κατά την οποία συντελέστηκε μικροενθυλάκωση προβιοτικών βακτηρίων σε χυμό από σμέουρα με ξήρανση υπό ψεκασμό, η θανάτωση των προβιοτικών μικροοργανισμών

κυμαινόταν ανάλογα με την θερμοκρασία εισόδου και την αναλογία μαλτοδεξτρίνης ξηρών στερεών χυμού από περίπου 1,5 έως και 4,5 λογαρίθμους. Οι θερμοκρασίες εισόδου που εξετάστηκαν σε αυτήν την περίπτωση ήταν 100,115 και 130 ◦C , ενώ οι αναλογίες μαλτοδεξτρίνης -ξηρών στερεών χυμού ήταν 1, 1,5 και 2 (Anekella & Orsat, 2013).Κατά τη ενσωμάτωση προβιοτικών καλλιεργειών σε μείγμα από χυμό ασερόλας και σιριγκουέλας με ξήρανση υπό ψεκασμό και σε θερμοκρασία 140◦C, κατά την εξέταση τριών διαφορετικών τύπων μαλτοδεξτρίνης(5,10,15 DE), η θανάτωση των προβιοτικών μικροοργανισμών ήταν περίπου 1- 2 λογάριθμοι σε όλα τα δείγματα (Souza et al., 2020). Επιπλέον, κατά την ενσωμάτωση με ξήρανση υπό ψεκασμό προβιοτικών σε χυμό από φρούτα του πάθους με θερμοκρασία εισόδου 130◦C χρησιμοποιώντας διαφορετική συγκέντρωση της μαλτοδεξτρίνης παρατηρήθηκαν περίπου από 1,2 έως 2 λογάριθμοι μείωση στην επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών (Dias et al., 2018).

Με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα, με την τεχνική της ξηράνσεως με ψεκασμό για την ενθυλάκωση των προβιοτικών μικροοργανισμών στο μη γαλακτοκομικής βάσης φυτικό ρόφημα που παρασκευάστηκε, οι προβιοτικοί μικροοργανισμοί επιβιώνουν και στα δύο διαφορετικά δείγματα(12,21 DE) σε κάθε πειραματική σειρά.Με βάση τις στατιστικές αναλύσεις δεν παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές στην επιβίωση ούτε ανάμεσα στις τιμές των δύο διαφορετικών δειγμάτων ούτε ανάμεσα στις τιμές των διαφορετικών πειραματικών σειρών. Παράλληλα, τόσο ο τύπος της μαλτοδεξτρίνης όσο και η πειραματική σειρά δεν φαίνεται να επιδρούν στην επιβίωση των προβιοτικών.

**Συμπεράσματα**

Όπως περιγράφτηκε αναλυτικά στο πειραματικό μέρος, συγκεκριμένες ποσότητες από τσάι του βουνού, γαρύφαλλο και ιβίσκο υπέστησαν κρύα εκχύλιση και αναμείχθηκαν σε κατάλληλη αναλογία προκειμένου να προκύψει το αρχικό μείγμα στο οποίο επρόκειτο να ενσωματωθούν οι προβιοτικές καλλιέργειες. Από τον πειραματικό προσδιορισμό της υγρασίας του αρχικού αυτού μείγματος προέκυψε ότι η υγρασία του είναι μικρότερη του 1 % και συγκεκριμένα 0,6878 %. Με βάση αυτή την τιμή, καθίσταται αντιληπτό ότι για την εφαρμογή της ξήρανσης με ψεκασμό ως τεχνικής για την ενσωμάτωση των προβιοτικών καλλιεργειών στην υγρή τροφοδοσία σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η προσεκτική επιλογή και προσθήκη του παράγοντα εγκλεισμού, ο οποίος πέρα από τις ευνοϊκές τεχνολογικές του επιδράσεις προσδίδει στην τροφοδοσία σώμα και όγκο που είναι επιθυμητά στην περίπτωση που επιδιώκεται το προϊόν να διατίθεται εμπορικά υπό την μορφή σκόνης(Visavarungroj & Remon, 2008). Επιπλέον, κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω έρευνα της επίδρασης της ποσότητας και της ταυτότητας του παράγοντα εγκλεισμού στην βιωσιμότητα των προβιοτικών μικροοργανισμώ.Αναφορικά με την επιβίωση των προβιοτικών μικροοργανισμών, όπως παρουσιάστηκε στα πειραματικά αποτελέσματα δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές στην επιβίωση των μικροοργανισμών ανάμεσα στις τιμές των διαφορετικών δειγμάτων (12DE,21DE) και στις τιμές των διαφορετικών πειραματικών σειρών και επιπλέον ούτε το είδος του δείγματος αλλά ούτε και η πειραματική σειρά επιδρούν στην επιβίωση. Αν και έχει επιτευχθεί με βάση την πλειονότητα των ερευνών, μετά την ξήρανση με ψεκασμό , βιωσιμότητα των προβιοτικών μικροοργανισμών στις μη γαλακτοκομικές μήτρες της τάξης του $10^6$cfu/ml, που είναι και η επιθυμητή για τον χαρακτηρισμό ενός τροφίμου ως προβιοτικό, χρειάζεται περαιτέρω έρευνα ώστε να βελτιστοποιηθεί η προβιοτική επιβίωση είτε μέσω αριστοποίησης της εφαρμοζόμενης τεχνικής είτε μέσω της εφαρμογής εναλλακτικών τεχνικών είτε μέσω της χρήσης τεχνολογικών βοηθημάτων. Σε κάθε περίπτωση, πρέπει να λαμβάνεται υπόψην η μοναδικότητα της σύστασης της χρησιμοποιούμενης φυτικής μήτρας και να διενεργούνται κατάλληλες αναλύσεις σε αυτήν ώστε να δημιουργούνται πιθανές συσχετίσεις με τα πειραματικά αποτελέσματα.

## Βιβλιογραφία


Abrahamsson, T. R., Jakobsson, H. E., Andersson, A. F., Björkstén, B., Engstrand, L., & Jenmalm, M. C. (2014). Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clinical & Experimental Allergy*, *44*(6), 842–850. https://doi.org/10.1111/CEA.12253

Acquistucci, R., D'Egidio, M. G., & Vallega, V. (1999). Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. *British Journal of Nutrition*, *81*(4), S1–S27. https://doi.org/10.1017/S0007114599000471

Adetoro, A. O., Opara, U. L., & Fawole, O. A. (2020a). Effect of Carrier Agents on the Physicochemical and Technofunctional Properties and Antioxidant Capacity of Freeze-Dried Pomegranate Juice (Punica granatum) Powder. *Foods 2020, Vol. 9, Page 1388*, *9*(10), 1388. https://doi.org/10.3390/FOODS9101388

Adetoro, A. O., Opara, U. L., & Fawole, O. A. (2020b). Effect of Carrier Agents on the Physicochemical and Technofunctional Properties and Antioxidant Capacity of Freeze-Dried Pomegranate Juice (Punica granatum) Powder. *Foods 2020, Vol. 9, Page 1388*, *9*(10), 1388. https://doi.org/10.3390/FOODS9101388

Alamilla-Beltrán, L., Chanona-Pérez, J. J., Jiménez-Aparicio, A. R., & Gutiérrez-Lopez, G. F. (2005). Description of morphological changes of particles along spray drying. *Journal of Food Engineering*, *67*(1–2), 179–184. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2004.05.063

Ali, M. (1995). Mechanism by which garlic (Allium sativum) inhibits cyclooxygenase activity. Effect of raw versus boiled garlic extract on the synthesis of prostanoids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *53*(6), 397–400. https://doi.org/10.1016/0952-3278(95)90102-7

Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, *5*(4), 1542–1553. https://doi.org/10.1016/J.JFF.2013.08.009

Andlauer, W., & Fürst, P. (2002). Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Research International*, *35*(2–3), 171–176. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00179-X

Anekella, K., & Orsat, V. (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, *50*(1), 17–24. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2012.08.003

Arici, M., & Coskun, F. (2001). Hardaliye: fermented grape juice as a traditional Turkish beverage. *Food Microbiology*, *18*(4), 417–421. https://doi.org/10.1006/FMIC.2001.0413

Arvanitoyannis, I. S., & van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (2007). Functional Foods: A Survey of Health Claims, Pros and Cons, and Current Legislation.

*Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408390590967667*, *45*(5), 385–404. https://doi.org/10.1080/10408390590967667

Awad, A. M., Kumar, P., Ismail-Fitry, M. R., Jusoh, S., Ab Aziz, M. F., & Sazili, A. Q. (2021). Green Extraction of Bioactive Compounds from Plant Biomass and Their Application in Meat as Natural Antioxidant. *Antioxidants 2021, Vol. 10, Page 1465*, *10*(9), 1465. https://doi.org/10.3390/ANTIOX10091465

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, *117*(4), 426–436. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2013.01.014

Bagchi, T. (2014). Traditional food & modern lifestyle: Impact of probiotics. *The Indian Journal of Medical Research*, *140*(3), 333. /pmc/articles/PMC4248377/

Bank, T. W., Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., & Pehu, E. (2006). *Agriculture and Rural Development Discussion Paper 30 Health Enhancing Foods Opportunities for Strengthening the Sector in Developing Countries*. http://www.worldbank.org/rural

Barnett, J. (2000). A history of research on yeasts 2: Louis Pasteur and his contemporaries, 1850–1880. *Yeast*, *16*(8), 755–771. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1097-0061(20000615)16:8%3C755::AID-YEA587%3E3.0.CO;2-4

Benson, A. B., Venook, A. P., Al-Hawary, M. M., Arain, M. A., Chen, Y. J., Ciombor, K. K., Cohen, S., Cooper, H. S., Deming, D., Farkas, L., Garrido-Laguna, I., Grem, J. L., Gunn, A., Hecht, J. R., Hoffe, S., Hubbard, J., Hunt, S., Johung, K. L., Kirilcuk, N., … Gurski, L. A. (2021). Colon Cancer, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, *19*(3), 329–359. https://doi.org/10.6004/JNCCN.2021.0012

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic Mechanisms of Action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *61*(2), 160–174. https://doi.org/10.1159/000342079

Bhandari, B. (2008). Spray drying and powder properties. In *Food Drying Science and Technology:Microbiology,Chemistry,Appplications* (p. 230). https://books.google.com/books?hl=el&lr=&id=_U71yVlyFD0C&oi=fnd&pg=PA215&dq=filters+spray+drying&ots=6WD59Lsk0K&sig=sEkzq0UBinreQeCsy0lGjAyx6HI

Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (2007). Problems Associated With Spray Drying Of Sugar-Rich Foods. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/07373939708917253*, *15*(2), 671–684. https://doi.org/10.1080/07373939708917253

Boylston, T. D., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B., & Reinheimer, J. A. (2004). Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. *International Dairy Journal*, *14*(5), 375–387. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2003.08.008

Cai, L., & Wu, C. D. (1996). Compounds from Syzygium aromaticum possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of Natural Products*, *59*(10), 987–990. https://doi.org/10.1021/NP960451Q

Canavan, C., West, J., & Card, T. (2014). The epidemiology of irritable bowel syndrome. *Clinical Epidemiology*, *6*(1), 71. https://doi.org/10.2147/CLEP.S40245

Cheng, F., Zhou, X., & Liu, Y. (2018). *Methods for Improvement of the Thermal Efficiency during Spray Drying*. *53*, 1031. https://doi.org/10.1051/e3sconf/20185301031

Chunxi, L., Haiyue, L., Yanxia, L., Jianbing, P., & Jin, S. (2020). The Gut Microbiota and Respiratory Diseases: New Evidence. *Journal of Immunology Research*, *2020*. https://doi.org/10.1155/2020/2340670

Cobley, L. (1976). *An introduction to the botany of tropical crops.* https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19776718993

Collins, J. K., Thornton, G., & Sullivan, G. O. (1998). Selection of Probiotic Strains for Human Applications. *International Dairy Journal*, *8*(5–6), 487–490. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00073-9

Collins, S. M. (2014). A role for the gut microbiota in IBS. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 2014 11:8*, *11*(8), 497–505. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.40

Cos, P., Vlietinck, A. J., Berghe, D. vanden, & Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro "proof-of-concept." *Journal of Ethnopharmacology*, *106*(3), 290–302. https://doi.org/10.1016/J.JEP.2006.04.003

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, *12*(4), 564–582. https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564

Dai, C., Zheng, C. Q., Jiang, M., Ma, X. Y., & Jiang, L. J. (2013). Probiotics and irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *19*(36), 5973. https://doi.org/10.3748/WJG.V19.I36.5973

Damiani, E., Bacchetti, T., Padella, L., Tiano, L., & Carloni, P. (2014). Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, *33*(1), 59–66. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2013.09.010

Day, L., Seymour, R. B., Pitts, K. F., Konczak, I., & Lundin, L. (2009). Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science & Technology*, *20*(9), 388–395. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2008.05.002

de Carvalho Rodrigues, V., da Silva, M. v., dos Santos, A. R., Zielinski, A. A. F., & Haminiuk, C. W. I. (2015). Evaluation of hot and cold extraction of bioactive compounds in teas. *International Journal of Food Science & Technology*, *50*(9), 2038–2045. https://doi.org/10.1111/IJFS.12858

Dias, C. O., dos Santos Opuski de Almeida, J., Pinto, S. S., de Oliveira Santana, F. C., Verruck, S., Müller, C. M. O., Prudêncio, E. S., & de Mello Castanho Amboni, R. D. (2018). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery. *Food Bioscience*, *24*, 26–36. https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2018.05.006

Dilip M. Parikh. (2008, September 1). *Advances in Spray Drying Technology: New Applications for a Proven Process*. https://www.researchgate.net/profile/Dilip-Parikh/publication/286380973_Advances_in_spray_drying_technology_New_applications_for_a_proven_process/links/570686ad08aec668ed95d326/Advances-in-spray-drying-technology-New-applications-for-a-proven-process.pdf

Dinkçi, N., Akdeniz, V., & Akalin, A. S. (2019). Survival of probiotics in functional foods during shelf life. *Food Quality and Shelf Life*, 201–233. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817190-5.00006-9

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

Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G. C., Shanahan, F., & Collins, J. K. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *73*(2), 386s–392s. https://doi.org/10.1093/AJCN/73.2.386S

Durbán, A., Abellán, J. J., Jiménez-Hernández, N., Artacho, A., Garrigues, V., Ortiz, V., Ponce, J., Latorre, A., & Moya, A. (2013). Instability of the faecal microbiota in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *FEMS Microbiology Ecology*, *86*(3), 581–589. https://doi.org/10.1111/1574-6941.12184

EMA/HMPC. (2016). *Final Assessment report on Sideritis scardica Griseb.; Sideritis clandestina (Bory & Chaub.) Hayek; Sideritis raeseri Boiss. & Heldr.; Sideritis syriaca L., Herba(38455/2015)*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-sideritis-scardica-griseb-sideritis-clandestina-bory-chaub-hayek-sideritis_en.pdf

FAO, & WHO. (2001). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm

Fennell, C. W., Lindsey, K. L., McGaw, L. J., Sparg, S. G., Stafford, G. I., Elgorashi, E. E., Grace, O. M., & van Staden, J. (2004). Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*, *94*(2–3), 205–217. https://doi.org/10.1016/J.JEP.2004.05.012

Fiocco, D., Longo, A., Arena, M. P., Russo, P., Spano, G., & Capozzi, V. (2019). How probiotics face food stress: They get by with a little help. *Https://Doi.Org/10.1080/10408398.2019.1580673*, *60*(9), 1552–1580. https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1580673

Fleming, R. S. (1921). The Spray Process of Drying. *Industrial and Engineering Chemistry*, *13*(5), 447–449. https://doi.org/10.1021/IE50137A024

Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2020). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Https://Doi.Org/10.1080/10408398.2020.1761773*, *61*(9), 1515–1536. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1761773

Fujimura, K. E., Sitarik, A. R., Havstad, S., Lin, D. L., Levan, S., Fadrosh, D., Panzer, A. R., Lamere, B., Rackaityte, E., Lukacs, N. W., Wegienka, G., Boushey, H. A., Ownby, D. R., Zoratti, E. M., Levin, A. M., Johnson, C. C., & Lynch, S. v. (2016). Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nature Medicine*, *22*(10), 1187–1191. https://doi.org/10.1038/NM.4176

Gallardo, G., Guida, L., Martinez, V., López, M. C., Bernhardt, D., Blasco, R., Pedroza-Islas, R., & Hermida, L. G. (2013). Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. *Food Research International*, *52*(2), 473–482. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2013.01.020

Gasbarrini, G., Bonvicini, F., & Gramenzi, A. (2016). Probiotics History. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *50*, S116–S119. https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000697

Gautam, R. (2004). *Sorrel—A lesser-known source of medicinal soft drink and food in India*. http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/9453

Gebhardt, M. R. (1988). Rotary Disk Atomization. *Weed Technology*, *2*(1), 106–113. https://doi.org/10.1017/S0890037X00030189

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, *40*(9), 1107–1121. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2007.07.004

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP)

consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology 2017 14:8*, *14*(8), 491–502. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75

Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2012). Prebiotics: Development & Application. *Prebiotics: Development & Application*. https://doi.org/10.1002/9780470023150

Gibson, G. R., Rastall, Robert., & Berry Ottaway, Peter. (2000). *Prebiotics : new developments in functional foods*. 108. https://books.google.com/books/about/Prebiotics.html?hl=el&id=TVxGAAAACAAJ

Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition*, *125*(6), 1401–1412. https://doi.org/10.1093/JN/125.6.1401

González-Burgos, E., Carretero, M. E., & Gómez-Serranillos, M. P. (2011). Sideritis spp.: Uses, chemical composition and pharmacological activities - A review. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 135, Issue 2, pp. 209–225). https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.03.014

Gorbach, S. L. (2002). Probiotics in the third millennium. *Digestive and Liver Disease*, *34*(SUPPL. 2), S2–S7. https://doi.org/10.1016/S1590-8658(02)80155-4

Granato, D., Ribeiro, J. C. B., Castro, I. A., & Masson, M. L. (2010). Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, *121*(3), 899–906. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.01.014

Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Krabshuis, J., Lemair, T., Kaufmann, P., de Paula, J. A., Fedorak, R., Shanahan, F., Sanders, M. E., Szajewska, H., Ramakrishna, B. S., Karakan, T., & Kim, N. (2012). World gastroenterology organisation global guidelines: Probiotics and prebiotics october 2011. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *46*(6), 468–481. https://doi.org/10.1097/MCG.0B013E3182549092

Guarner, F., & Schaafsma, G. J. (1998). Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, *39*(3), 237–238. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(97)00136-0

Guo, X., Long, R., Kreuzer, M., Ding, L., Shang, Z., Zhang, Y., Yang, Y., & Cui, G. (2013). Importance of Functional Ingredients in Yak Milk-Derived Food on Health of Tibetan Nomads Living Under High-Altitude Stress: A Review. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408398.2011.584134*, *54*(3), 292–302. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.584134

Güvenç, A., Houghton, P. J., Duman, H., Coşkun, M., & Şahin, P. (2005). Antioxidant activity studies on selected Sideritis species native to Turkey. *Pharmaceutical Biology*, *43*(2), 173–177. https://doi.org/10.1080/13880200590919528

Hammad, H., & Lambrecht, B. N. (2021). The basic immunology of asthma. *Cell*, *184*(6), 1469–1485. https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.02.016

Hardy, G. (2000). Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition*, *16*(7–8), 688–689. https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00332-4

Havenaar, R., & Huis In't Veld, J. H. J. (1992). Probiotics: A General View. *The Lactic Acid Bacteria Volume 1*, 151–170. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3522-5_6

Hawkes, C. (2004). *Nutrition labels and health claims: the global regulatory environment*. World Health Organisation.

Heenan, C. N., Adams, M. C., Hosken, R. W., & Fleet, G. H. (2004). Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT - Food Science and Technology*, *37*(4), 461–466. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2003.11.001

Igual, M., Ramires, S., Mosquera, L. H., & Martínez-Navarrete, N. (2014). Optimization of spray drying conditions for lulo (Solanum quitoense L.) pulp. *Powder Technology*, *256*, 233–238. https://doi.org/10.1016/J.POWTEC.2014.02.003

Jalanka-Tuovinen, J., Salojärvi, J., Salonen, A., Immonen, O., Garsed, K., Kelly, F. M., Zaitoun, A., Palva, A., Spiller, R. C., & de Vos, W. M. (2014). Faecal microbiota composition and host–microbe cross-talk following gastroenteritis and in postinfectious irritable bowel syndrome. *Gut*, *63*(11), 1737–1745. https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2013-305994

Jensen, P. (2019). *Acta Dermato-Venereologica*. https://doi.org/10.2340/00015555-3008

Jibril, H., & Abubakar, S. A. (2020). Basis for classification of functional foods: A review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, *13*(1), 138–144. https://doi.org/10.4314/bajopas.v13i1

Kailasapathy, K., & Rybka, S. (1997). L. acidophilus and Bifidobacterium spp.-their therapeutic potential and survival in yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, *52*(1), 28–35. https://search.proquest.com/openview/a9a28e8ec615748f43350b076df02b70/1?pq-origsite=gscholar&cbl=36914

Kakli, H. A., & Riley, T. D. (2016). Allergic Rhinitis. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, *43*(3), 465–475. https://doi.org/10.1016/J.POP.2016.04.009

Kandylis, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M., & Koutinas, A. A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Current Opinion in Food Science*, *7*, 58–63. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.11.012

Karimi, R., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. (2011). Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. *Dairy Science & Technology 2011 91:3*, *91*(3), 283–308. https://doi.org/10.1007/S13594-011-0005-X

Kennedy, J. F., Knill, C. J., & Taylor, D. W. (1995). Maltodextrins. *LC-GC North America*, *22*(SUPPL.), 65–82. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2159-4_3

Kim, K. Y., & Marshall, W. R. (1971). Drop-size distributions from pneumatic atomizers. *AIChE Journal*, *17*(3), 575–584. https://doi.org/10.1002/AIC.690170318

Klaypradit, W., & Huang, Y. W. (2008). Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. *LWT - Food Science and Technology*, *41*(6), 1133–1139. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2007.06.014

Knorr, D. (1998). Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, *9*(8–9), 295–306. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00051-X

Konteles, S. J., Strati, I. F., Giannakourou, M., Batrinou, A., Papadakis, S., Ourailoglou, D., Zoumpoulakis, P., & Sinanoglou, V. J. (2021). Instant Herbal Powder: Functionality Assessment through Chemical, Microbiological and Shelf Life Kinetics. *Https://Doi.Org/10.1080/00032719.2021.2011897*, *55*(9), 1505–1516. https://doi.org/10.1080/00032719.2021.2011897

Koparde, A. A., Magdum, C. S., & Doijad, R. C. (2017). PHYTO ACTIVE COMPOUNDS FROM HERBAL PLANT EXTRACTS: ITS EXTRACTION, ISOLATION AND CHARACTERIZATION. *Akshada et al. World Journal of Pharmaceutical Research World Journal of Pharmaceutical Research SJIF Impact Factor*, *6*(8), 1186–1205. https://doi.org/10.20959/wjpr20178-8958

Krishnaswamy, K. (2008). Traditional Indian spices and their health significance. *Asia Pac J Clin Nutr*, *17*(S1), 265–268.

Kyung, Y. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2005). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, *38*(1), 73–75. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2004.04.008

la Mont, C. (1865). *Improvement in preserving eggs* (Patent No. 51,263). United States Patent Office.

Leylabadlo, H. E., Heravi, F. S., Soltani, E., Abbasi, A., Kafil, H. S., Parsaei, M., Sanaie, S., Ahmadian, Z., & Ghotaslou, R. (2022). The role of gut microbiota in the treatment of irritable bowel syndrome. *Reviews in Medical Microbiology*, *33*(1), E89–E104. https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000284

Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science*, *147*(3659), 747–748. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.147.3659.747

Lin, D. C. (2003). Probiotics As Functional Foods. *Nutrition in Clinical Practice*, *18*(6), 497–506. https://doi.org/10.1177/0115426503018006497

Lourens-Hattingh, A., & Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, *11*(1–2), 1–17. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X

Lovell, R. M., & Ford, A. C. (2012). Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical*

*Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, *10*(7), 712-721.e4. https://doi.org/10.1016/J.CGH.2012.02.029

Luckow, T., & Delahunty, C. (2004). Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. *Food Research International*, *37*(8), 805–814. https://doi.org/10.1016/J.FOOD-RES.2004.04.003

Lukasiewicz, S. J. (1989a). Spray-Drying Ceramic Powders. *Journal of the American Ceramic Society*, *72*(4), 617–624. https://doi.org/10.1111/J.1151-2916.1989.TB06184.X

Lukasiewicz, S. J. (1989b). Spray-Drying Ceramic Powders. *Journal of the American Ceramic Society*, *72*(4), 617–624. https://doi.org/10.1111/J.1151-2916.1989.TB06184.X

Luque de Castro, M. D., & García-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*, *369*(1–2), 1–10. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00233-5

Manning, T. S., & Gibson, G. R. (2004). Prebiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, *18*(2), 287–298. https://doi.org/10.1016/J.BPG.2003.10.008

Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, *12*(2–3), 173–182. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00099-1

Meng, Y., Wang, C., & Zhang, L. (2019). Recent developments and highlights in allergic rhinitis. *Allergy*, *74*(12), 2320–2328. https://doi.org/10.1111/ALL.14067

Milner, J. A. (2000). Functional foods: the US perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *71*(6), 1654S-1659S. https://doi.org/10.1093/AJCN/71.6.1654S

Mollan, M. J., & Çelik, M. (1996). Maltodextrin. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*, *24*(C), 307–349. https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60697-8

Mueller, M., Hobiger, S., & Jungbauer, A. (2010). Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chemistry*, *122*(4), 987–996. https://doi.org/10.1016/J.FOOD-CHEM.2010.03.041

Mujumdar, A. S. (2014). Industrial Spray Drying Systems. *In Handbook of Industrial Drying*, 221–256. https://doi.org/10.1201/B17208-21/INDUSTRIAL-SPRAY-DRYING-SYSTEMS-ARUN-MUJUMDAR

Nazrul, M., Bhuiyan, I., Begum, J., Nandi, N. C., & Akter, F. (2010). Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (Syzigium caryophyllatum (L.) Alston). *African Journal of Plant Science*, *4*(11), 451–454. http://www.academicjournals.org/ajps

Oddy, W. H. (2017). Breastfeeding, Childhood Asthma, and Allergic Disease. *Annals of Nutrition & Metabolism*, *70 Suppl 2*(2), 26–36. https://doi.org/10.1159/000457920

Patel, R. P., Patel, M. P., & Suthar, A. M. (2009). Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*, *2*(10). http://www.indjst.orgIndianJ.Sci.Technol.

Percy, S. R. (1872). *Improvement in drying and concentrating liquid substances by atomizing* (Patent No. 125,406). United States Patent Office.

Phisut, N. (2012). Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal*, *19*(4), 1297–1306.

Piozzi, F., Bruno, M., Rosselli, S., & Maggio, A. (2006). The Diterpenoids from the Genus Sideritis. *Studies in Natural Products Chemistry*, *33*(PART M), 493–540. https://doi.org/10.1016/S1572-5995(06)80033-5

Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, *41*(2), 111–123. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2007.10.010

Qi, X., & Tester, R. F. (2018). Is Starch or Maltodextrin "Glucose?" *Starch/Staerke*, *70*(9–10). https://doi.org/10.1002/STAR.201700304

Rakin, M., Vukasinovic, M., Siler-Marinkovic, S., & Maksimovic, M. (2007). Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food Chemistry*, *100*(2), 599–602. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.09.077

Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Baines, S. K., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Pimentel, T. C., Wittwer, A. E., Naumovski, N., Graça, J. S., Sant'Ana, A. S., Ajlouni, S., & Vasiljevic, T. (2019). Probiotics in Goat Milk Products: Delivery Capacity and Ability to Improve Sensory Attributes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *18*(4), 867–882. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12447

Rasika, D. M., Vidanarachchi, J. K., Rocha, R. S., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Sant'Ana, A. S., & Ranadheera, C. S. (2021). Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. *Current Opinion in Food Science*, *38*, 8–20. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2020.10.025

Rathore, B., Mahdi, A. A., Paul, B. N., Saxena, P. N., & Das, S. K. (2007). Indian Herbal Medicines: Possible Potent Therapeutic Agents for Rheumatoid Arthritis. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, *41*(1), 12–17. https://doi.org/10.3164/JCBN.2007002

Rehman, R., Mushtaq, A., & el Zerey-Belaskri, A. (2017). *Clove: A review of a precious species with multiple uses Enseignant-chercheur View project essential oils View project*. www.iscientific.org/Journal.html

Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M. T., & McCormick, J. K. (2003). Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, *16*(4), 658–672.

https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.658-672.2003/ASSET/64DEB45D-8A8A-47CB-960A-EE8AE21CE3F8/ASSETS/GRAPHIC/CM0430074001.JPEG

Rodriguez, L., Passerini, N., Cavallari, C., Cini, M., Sancin, P., & Fini, A. (1999). Description and preliminary evaluation of a new ultrasonic atomizer for spray-congealing processes. *International Journal of Pharmaceutics*, *183*(2), 133–143. https://doi.org/10.1016/S0378-5173(99)00076-9

Romanucci, V., di Fabio, G., D'Alonzo, D., Guaragna, A., Scapagnini, G., & Zarrelli, A. (2017a). Traditional uses, chemical composition and biological activities of Sideritis raeseri Boiss. & Heldr. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *97*(2), 373–383. https://doi.org/10.1002/JSFA.7867

Romanucci, V., di Fabio, G., D'Alonzo, D., Guaragna, A., Scapagnini, G., & Zarrelli, A. (2017b). Traditional uses, chemical composition and biological activities of Sideritis raeseri Boiss. & Heldr. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *97*(2), 373–383. https://doi.org/10.1002/JSFA.7867

Ruby Pawankar, Stephen T. Holgate, G.Walter Canonica, Richard F. Lockey, & Michael S. Blaiss. (2013). *White Book on Allergy*. https://www.worldallergy.org/wao-white-book-on-allergy

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, *84*(3), 197–215. https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00375-8

Samborska, K., Poozesh, S., Barańska, A., Sobulska, M., Jedlińska, A., Arpagaus, C., Malekjani, N., & Jafari, S. M. (2022). Innovations in spray drying process for food and pharma industries. *Journal of Food Engineering*, *321*, 110960. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2022.110960

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2010). Extraction, Isolation And Characterization Of Bioactive Compounds From Plants' Extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *8*(1), 1–10. https://doi.org/10.4314/ajtcam.v8i1.60483

Selvamuthukumaran, M. (2019). *Handbook on Spray Drying Applications for Food Industries*. https://www.google.com/books?hl=el&lr=&id=KxSiD-wAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT7&dq=kind+of+atomizers+spray+drying&ots=7V0V9iQJgR&sig=8bsIs6I_AEVgzTNtV9H_NbzlEG4

SHAH, N. P. (2001). Functional foods from probiotics and prebiotics : Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. *Food Technology (Chicago)*, *55*(11).

Shishir, M. R. I., & Chen, W. (2017). Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science and Technology*, *65*, 49–67. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.05.006

Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *70*(1), 7–30. https://doi.org/10.3322/CAAC.21590/FORMAT/PDF

Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, *51*(3), 456–467. https://doi.org/10.1016/J.APPET.2008.05.060

Skąpska, S., Marszałek, K., Woźniak, Ł., Zawada, K., & Wawer, I. (2017). Aronia dietary drinks fortified with selected herbal extracts preserved by thermal pasteurization and high pressure carbon dioxide. *LWT - Food Science and Technology*, *85*, 423–426. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.11.001

Smith, R. M. (2003). Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*, *1000*(1–2), 3–27. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00511-9

Solanki, H. K., Pawar, D. D., Shah, D. A., Prajapati, V. D., Jani, G. K., Mulla, A. M., & Thakar, P. M. (2013). Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent. *BioMed Research International*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/620719

Song, K., & Milner, J. A. (1999). Heating Garlic Inhibits Its Ability to Suppress 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-Induced DNA Adduct Formation in Rat Mammary Tissue. *The Journal of Nutrition*, *129*(3), 657–661. https://doi.org/10.1093/JN/129.3.657

Souza, M., Mesquita, A., Veríssimo, C., Grosso, C., Converti, A., & Maciel, M. I. (2020). Microencapsulation by spray drying of a functional product with mixed juice of acerola and ciriguela fruits containing three probiotic lactobacilli. *Https://Doi.Org/10.1080/07373937.2020.1862182*, *40*(6), 1185–1195. https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1862182

Srivastava, A. K., Srivastava, S. K., & Syamsundar, K. v. (2005). Bud and leaf essential oil composition of Syzygium aromaticum from India and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, *20*(1), 51–53. https://doi.org/10.1002/FFJ.1364

Stahl, W., & Sies, H. (1992). Uptake of Lycopene and Its Geometrical Isomers Is Greater from Heat-Processed than from Unprocessed Tomato Juice in Humans. *The Journal of Nutrition*, *122*(11), 2161–2166. https://doi.org/10.1093/JN/122.11.2161

Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in Medicine: A Long Debate. *Frontiers in Immunology*, *11*, 2192. https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.02192/BIBTEX

Suhag, Y., & Nanda, V. (2016). Evaluation of Different Carrier Agents with Respect to Physico-Chemical, Functional and Morphological Characteristics of Spray Dried Nutritionally Rich

Honey Powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, *40*(6), 1429–1437. https://doi.org/10.1111/JFPP.12728

Szakály, Z., Szente, V., Kövér, G., Polereczki, Z., & Szigeti, O. (2012). The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite*, *58*(1), 406–413. https://doi.org/10.1016/J.APPET.2011.11.003

Tapsell, L. C., Hemphill, I., Cobiac, L., Patch, C. S., Sullivan, D. R., Fenech, M., Roodenrys, S., Keogh, J. B., Clifton, P. M., Williams, P. G., Fazio, V. A., & Inge, K. E. (2006). Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *The Medical Journal of Australia.*, *185*(4 Suppl). https://doi.org/10.5694/J.1326-5377.2006.TB00548.X

Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients 2019, Vol. 11, Page 1591*, *11*(7), 1591. https://doi.org/10.3390/NU11071591

Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., Komalamisra, N., & Apiwathnasorn, C. (2005). Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, *19*(4), 303–309. https://doi.org/10.1002/PTR.1637

Truong, V., Bhandari, B. R., & Howes, T. (2005). Optimization of co-current spray drying process of sugar-rich foods. Part I—Moisture and glass transition temperature profile during drying. *Journal of Food Engineering*, *71*(1), 55–65. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2004.10.017

Tuorila, H., & Cardello, A. v. (2002). Consumer responses to an off-flavor in juice in the presence of specific health claims. *Food Quality and Preference*, *13*(7–8), 561–569. https://doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00076-3

Turkiewicz, I. P., Wojdyło, A., Tkacz, K., Lech, K., Michalska-Ciechanowska, A., & Nowicka, P. (2020). The influence of different carrier agents and drying techniques on physical and chemical characterization of Japanese quince (Chaenomeles japonica) microencapsulation powder. *Food Chemistry*, *323*. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.126830

Ugidos-Rodríguez, S., Matallana-González, M. C., & Sánchez-Mata, M. C. (2018). Lactose malabsorption and intolerance: a review. *Food & Function*, *9*(8), 4056–4068. https://doi.org/10.1039/C8FO00555A

van Nimwegen, F. A., Penders, J., Stobberingh, E. E., Postma, D. S., Koppelman, G. H., Kerkhof, M., Reijmerink, N. E., Dompeling, E., van den Brandt, P. A., Ferreira, I., Mommers, M., & Thijs, C. (2011). Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *128*(5). https://doi.org/10.1016/J.JACI.2011.07.027

Vankar, P. S. (2004). Essential oils and fragrances from natural sources. *Resonance 2004 9:4*, *9*(4), 30–41. https://doi.org/10.1007/BF02834854

Vehring, R., Snyder, H., & Lechuga-Ballesteros, D. (2020a). Spray Drying. *Drying Technologies for Biotechnology and Pharmaceutical Applications*, 179–216. https://doi.org/10.1002/9783527802104.CH7

Vehring, R., Snyder, H., & Lechuga-Ballesteros, D. (2020b). Spray Drying. *Drying Technologies for Biotechnology and Pharmaceutical Applications*, 179–216. https://doi.org/10.1002/9783527802104.CH7

Visavarungroj, N., & Remon, J. P. (2008). Evaluation of maltodextrin as binding agent. *Http://Dx.Doi.Org/10.3109/03639049209040895*, *18*(15), 1691–1700. https://doi.org/10.3109/03639049209040895

Wang, H. T., Anvari, S., & Anagnostou, K. (2019). The Role of Probiotics in Preventing Allergic Disease. *Children 2019, Vol. 6, Page 24*, *6*(2), 24. https://doi.org/10.3390/CHILDREN6020024

Wang, Q., Li, F., Liang, B., Liang, Y., Chen, S., Mo, X., Ju, Y., Zhao, H., Jia, H., Spector, T. D., Xie, H., & Guo, R. (2018). A metagenome-wide association study of gut microbiota in asthma in UK adults. *BMC Microbiology*, *18*(1). https://doi.org/10.1186/S12866-018-1257-X

Weidinger, S., & Novak, N. (2016). Atopic dermatitis. *The Lancet*, *387*(10023), 1109–1122. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00149-X

Wisniewski, R. (2015). *Spray drying technology review*. https://ttu-ir.tdl.org/handle/2346/64598

Wolek, M., Bogacz, A., Juskowiak, B., Polaszewska, A., & Czerny, B. (2018). *Probiotics in colon cancer prevention*. https://doi.org/10.5281/ZENODO.1297660

Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science & Technology*, *78*, 167–179. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2018.05.025

Yoon, K., Woodams, E., & Hang, Y. D. (2004). Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *Koreascience.or.Kr*, 315–318. https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200430710475434.page

Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2006a). Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, *97*(12), 1427–1430. https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2005.06.018

Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2006b). Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, *97*(12), 1427–1430. https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2005.06.018

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., &

Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *70*(4), 2782–2858. https://doi.org/10.1099/IJSEM.0.004107/CITE/REFWORKS

Zielinski, A. A. F., Haminiuk, C. W. I., Alberti, A., Nogueira, A., Demiate, I. M., & Granato, D. (2014). A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. *Food Research International*, *60*, 246–254. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2013.09.010